



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA



EFECTO DE LA APLICACIÓN DE COPIGMENTOS VEGETALES SOBRE LA COMPOSICIÓN FENÓLICA Y AROMÁTICA DE VINOS TINTOS DE MONASTRELL ELABORADOS CON DIFERENTES TÉCNICAS DE VINIFICACIÓN

Presentado por:

Juan Alberto Anaya Martínez

Dirigida por:

M.^a Inmaculada Álvarez Cano

Victoria Lizama Abad

M.^a José Esparza García

RESUMEN

El mercado actual del vino tinto demanda vinos de gran potencia visual, elevada concentración aromática y que no resulten excesivamente astringentes ni amargos. Asimismo, el consumidor final demanda cada vez más vinos que se desarrollen en una viticultura más orgánica que garantice la sostenibilidad del cultivo. Para cumplir con estas expectativas, se está limitando la utilización de compuestos químicos en el viñedo, sustituyéndolos por otros naturales con menor impacto medioambiental, y se están utilizando en bodega técnicas como la maceración prefermentativa, que contribuye a la extracción de antocianos y aromas, o la microoxigenación, que permite estabilizar los compuestos polifenólicos en un tiempo reducido.

El color de los vinos depende de su concentración en antocianos, pero también la forma y el estado en que éstos se encuentren en el vino, que depende de diferentes factores, siendo uno de ellos el fenómeno de la copigmentación como paso anterior a la polimerización y estabilización. Además, el oxígeno juega un papel crucial en la evolución del color, así como en la oxidación de los polifenoles y en la formación de complejos más estables. El aroma también es muy importante en los vinos, ya que es uno de los primeros aspectos que percibimos. Por ello, es de gran importancia la utilización de técnicas de vinificación que permitan extraer el mayor potencial aromático de los precursores que se encuentran en las uvas.

Para conseguir incrementar la calidad de los vinos tintos elaborados con la variedad Monastrell, estableciendo una metodología de elaboración que permita mejorar la concentración polifenólica y aromática de estos vinos, se ha estudiado el efecto de la aplicación en la uva, 10 días antes de la vendimia, de sustancias copigmentantes, tales como, extractos vegetales (romero, trigo sarraceno y té verde) y copigmentos puros (ácido cafeico, rutina y catequina). Asimismo, los copigmentos puros también se aplicaron a la entrada en bodega. Se ensayaron dos técnicas enológicas diferentes: la vinificación tradicional y la maceración prefermentativa en frío (6-8°C), seguida de vinificación tradicional. Por último, una vez concluida la fermentación maloláctica, los vinos obtenidos fueron sometidos a una adición controlada de acetaldehído durante 45 días, seguido de un proceso de conservación en botella de 12 meses.

Los resultados mostraron que los tratamientos con copigmentos, especialmente con extractos vegetales ricos en copigmentos, incrementaron la concentración de antocianos polimerizados y totales, y de compuestos aromáticos favorables para la calidad, destacando el extracto de romero por su acción directa sobre el color de los vinos de Monastrell. Utilizar la maceración prefermentativa en la elaboración de los vinos procedentes de tratamientos de copigmentación, ha permitido incrementar la concentración de polifenoles totales y taninos condensados, así como la de ésteres y acetatos. La microoxigenación, mediante la aplicación de acetaldehído durante la conservación de los vinos tratados previamente con copigmentos, dio lugar a un incremento del porcentaje de antocianos polimerizados, de la concentración de antocianos, de taninos condensados y de polifenoles totales, no afectando a la composición aromática de los vinos.

Por todo ello, se puede establecer que la combinación de tratamientos de copigmentación en el campo, especialmente con extractos vegetales, de maceración prefermentativa durante la elaboración, y de microoxigenación durante la conservación, permite elaborar vinos de Monastrell con un color más estable, mayor concentración de compuestos polifenólicos, y mayor concentración de ésteres y acetatos, compuestos relacionados con aromas positivos florales, frutales y especiados.

RESUM

El mercat actual del vi negre demana vins de gran potència visual, elevada concentració aromàtica i que no siguin excessivament astringents ni amargs. Així mateix, el consumidor final demana cada vegada més vins que es desenvolupen en una viticultura més orgànica que garanteisca la sostenibilitat del cultiu. Per complir amb aquestes expectatives, s'està limitant la utilització de compostos químics a la vinya, substituint-los per altres naturals amb menor impacte mediambiental, i s'estan utilitzant al celler tècniques com la maceració prefermentativa, que contribueix a l'extracció d'antocians i aromes, o la microoxigenació, que permet establir els compostos polifenòlics en un temps reduït.

El color dels vins depèn de la seua concentració en antocians, però també en la forma i l'estat en que aquests es troben en el vi, que depèn de diferents factors, siguent un d'ells el fenomen de la copigmentació com pas anterior a la polimerització i l'estabilització. A més a més, l'oxigen juga un paper crucial en l'evolució del color, així com en l'oxidació dels polifenols i en la formació dels complexos més estables. L'aroma també és molt important en els vins, ja que és un dels primers aspectes que percebem. Per això, és de gran importància la utilització de tècniques de vinificació que permeten extraure el major potencial aromàtic dels precursors que es troben al raïm.

Per aconseguir augmentar la qualitat dels vins negres elaborats amb la varietat Monastrell, establint una metodologia d'elaboració que permeta millorar la concentració polifenòlica i aromàtica d'aquests vins, s'ha estudiat l'efecte de l'aplicació en el raïm, 10 dies abans de la verema, de substàncies copigmentants, com ara, extractes vegetals (romer, blat negre i te verd) i copigments purs (àcid cafeic, rutina i catequina). Així mateix, els copigments purs també es van aplicar a l'entrada al celler. Es van assajar dos tècniques enològiques diferents: la vinificació tradicional i la maceració prefermentativa en fred (6-8°C), seguida de vinificació tradicional. Finalment, una vegada conclosa la fermentació malolàctica, els vins obtinguts van ser sotmesos a una addició controlada d'acetaldehid durant 45 dies, seguit d'un procés de conservació en ampolla de 12 mesos.

Els resultats van mostrar que els tractaments amb copigments, especialment amb extractes vegetals rics en copigments, van augmentar la concentració d'antocians polimeritzats i totals, i de compostos aromàtics favorables per a la qualitat, destacant l'extracte de romer per la seua acció directa sobre el color dels vins de Monastrell. Utilitzar la maceració prefermentativa en l'elaboració dels vins procedents de tractaments de copigmentació, ha permès augmentar la concentració de polifenols totals i tanins condensats, així com la d'èsters i acetats. La microoxigenació, mitjançant l'aplicació d'acetaldehid durant la conservació dels vins tractats prèviament amb copigments, va donar lloc a un augment del percentatge d'antocians polimeritzats, de la concentració d'antocians, de tanins condensats i de polifenols totals, no afectant a la composició aromàtica dels vins.

Per tot això, es pot establir que la combinació de tractaments de copigmentació en el camp, especialment amb extractes vegetals de maceració prefermentativa durant l'elaboració, i de microoxigenació durant la conservació, permet elaborar vins de Monastrell amb un color més estable, més concentració de compostos polifenòlics, i major concentració d'èsters i acetats, compostos relacionats amb aromes positius florals, fruitals i especiats.

ABSTRACT

The current red wine market demands wines with high visual power, great aromatic concentration and that are not excessively astringent or bitter. Furthermore, the final consumer increasingly demands developed wines in a more organic viticulture in order to ensure the sustainability of the crop. To meet these expectations, the use of chemical compounds in the vineyard is being limited, replacing them by another natural ones with less environmental impact, and techniques such as pre-fermentation maceration are being used in the winery, which contributes to the extraction of anthocyanins and aromas, or micro-oxygenation, that allows polyphenolic compounds to be stabilized in a reduced time.

The colour of wines depends on their concentration in anthocyanins, but also the form and state in which they are found in the wine, which depends on several factors, one of them being the phenomenon of copigmentation as a previous step to polymerization and stabilization. In addition, the oxygen has a crucial role in colour's evolution, as well as, in the oxidation of polyphenols and in the formation of more stable complexes. Aroma is also very important in wines, due to the fact that is one of the first aspects that we perceive. For this reason, the use of vinification techniques that allow extracting the greatest aromatic potential of the precursors found in the grapes, is of great importance.

In order to increase the quality of red wines made with the Monastrell variety, establishing a production methodology that allows improving the polyphenolic and aromatic concentration of these wines, the effect of the application on the grape, 10 days before harvest, has been studied, of copigmenting substances such as plant extracts (rosemary, buckwheat and green tea) and pure copigments (caffeic acid, rutin and catechin). Likewise, pure copigments were also applied in the cellar entrance. Two different enological techniques were tested: traditional vinification and cold pre-fermentation maceration (6-8°C), followed by traditional vinification. Finally, once the malolactic fermentation was concluded, the wines obtained were subjected to a controlled addition of acetaldehyde for 45 days, followed by a 12-month bottle preservation process.

The results showed that treatments with copigments, especially with plant extracts rich in copigments, increased the concentration of polymerized and total anthocyanins, and aromatic compounds favorable for quality, highlighting rosemary extract for its direct action on the colour of wines of Monastrell. Using pre-fermentation maceration in the production of wines from copigmentation treatments has made it possible to increase the concentration of total polyphenols and condensed tannins, as well as that of esters and acetates. Micro-oxygenation through the application of acetaldehyde during the conservation of wines previously treated with copigments gave rise to an increase in the percentage of polymerized anthocyanins, in the concentration of anthocyanins, in condensed tannins and in total polyphenols, without affecting the aromatic composition of the wines.

For all of these reasons, it can be established that the combination of copigmentation treatments in the field, particularly with plant extracts, pre-fermentation maceration during production and micro-oxygenation during storage, allows the production of Monastrell wines with a more stable colour, higher concentration of polyphenolics, and higher concentration of esters and acetates, compounds related to positive floral, fruity and spicy aromas.

INDICE

1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. DENOMINACIÓN DE ORIGEN PROTEGIDA VALENCIA	1
1.2. SUBZONA CLARIANO	1
1.3. LA VARIEDAD MONASTRELL	2
1.4. JUSTIFICACIÓN DEL TRABAJO	3
2. OBJETIVO	5
3. ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS	6
3.1. LOS COMPUESTOS FENÓLICOS	6
3.2. COMPOSICIÓN AROMÁTICA DE LA UVA Y DEL VINO.	8
3.3. EVOLUCIÓN DE LOS COMPUESTOS FENÓLICOS DURANTE LA MADURACIÓN DE LA UVA.	9
3.4. REACCIONES ENZIMATICAS DE LOS COMPUESTOS FENÓLICOS	11
3.5. REACCIONES QUÍMICAS DE LOS COMPUESTOS FENÓLICOS.	12
3.5.1. REACCIONES DE CONDENSACIÓN DIRECTA TANINO- ANTOCIANO.	13
3.5.2. REACCIONES DE CONDENSACIÓN DIRECTA ANTOCIANO- TANINO.	13
3.5.3. REACCIONES DE CONDENSACIÓN MEDIADA POR ACETALDEHÍDO ENTRE ANTOCIANOS Y TANINOS.	14
3.5.4. REACCIONES DE CONDENSACIÓN MEDIADA POR ÁCIDO GLIOXÍLICO ENTRE TANINOS.	15
3.5.5. REACCIONES DE POLIMERIZACIÓN DE TANINOS.	16
3.5.6. FORMACIÓN DE NUEVOS PIGMENTOS: PIRANOANTOCIANINAS.	16
3.5.7. ESTABILIDAD DEL COLOR MEDIANTE REACCIONES DE COPIGMENTACIÓN.	17
3.6. FACTORES QUE AFECTAN A LA ESTABILIDAD DEL COLOR.	21
3.7. INFLUENCIA DE LA VINIFICACIÓN EN LA COMPOSICIÓN FENÓLICA DE LOS VINOS	25

3.8. LA MACERACIÓN PREFERMENTATIVA EN FRÍO _____	27
3.9. EFECTO DE LA MICROOXIGENACIÓN EN LA ESTABILIDAD POLIFENÓLICA DE LOS VINOS _____	30
3.9.1. EFECTOS POSITIVOS DE LA MICROOXIGENACIÓN SOBRE LA CALIDAD DEL VINO. _____	31
3.9.2. LA ADICIÓN DE OXÍGENO EN EL VINO. _____	31
3.9.3. MOMENTOS DE APLICACIÓN DE LA MICROOXIGENACIÓN. _____	32
3.9.4. ESTUDIOS RECIENTES SOBRE LA APLICACIÓN DE LA MICROOXIGENACIÓN. _____	34
3.10. ESTRATEGIAS AGRONÓMICAS PARA MEJORAR LA CALIDAD DE LA UVA Y DEL VINO. _____	35
4. PLAN DE TRABAJO _____	38
5. MATERIALES Y MÉTODOS _____	43
5.1. MATERIALES _____	43
5.2. MÉTODOS ANALÍTICOS. _____	44
5.3. TÉCNICA DE MICROOXIGENACIÓN _____	48
5.4. TRATAMIENTO ESTADÍSTICO _____	48
6. RESULTADOS Y DISCUSION _____	50
6.1. EFECTO DE LA APLICACIÓN DE COPIGMENTOS SOBRE LA COMPOSICIÓN DE LOS VINOS _____	50
6.1.1. ESTUDIO DE LA APLICACIÓN DE EXTRACTO DE ROMERO Y ÁCIDO CAFEICO _____	51
6.1.1.1. ESTUDIO DE LA APLICACIÓN DE EXTRACTO DE ROMERO Y ÁCIDO CAFEICO POSTERIORMENTE A LA FERMENTACION MALOLÁCTICA. _____	51
6.1.1.1.1. EFECTO DE LOS COPIGMENTOS EN LA COMPOSICIÓN DE LOS VINOS _____	53
6.1.1.1.2. EFECTO DE LAS TÉCNICAS DE VINIFICACIÓN EN LA COMPOSICIÓN DE LOS VINOS _____	56
6.1.1.2. ESTUDIO DE LA APLICACIÓN DE EXTRACTO DE ROMERO Y ÁCIDO CAFEICO AL FINAL DEL PROCESO DE CONSERVACIÓN DE LOS VINOS _____	58

6.1.1.2.1. EFECTO DE LOS COPIGMENTOS EN LA COMPOSICIÓN DE LOS VINOS _____	59
6.1.1.2.2. EFECTO DE LAS TÉCNICAS DE VINIFICACIÓN EN LA COMPOSICIÓN DE LOS VINOS _____	70
6.1.1.2.3. EFECTO DE LA APLICACIÓN DE ACETALDEHÍDO EN LA COMPOSICIÓN DE LOS VINOS _____	77
6.1.2. ESTUDIO DE LA APLICACIÓN DE EXTRACTO DE TRIGO SARRACENO Y RUTINA _____	84
6.1.2.1. ESTUDIO DE LA APLICACIÓN DE EXTRACTO DE TRIGO SARRACENO Y RUTINA POSTERIORMENTE A LA FERMENTACION MALOLÁCTICA _____	84
6.1.2.1.1. EFECTO DE LOS COPIGMENTOS EN LA COMPOSICIÓN DE LOS VINOS _____	85
6.1.2.1.2. EFECTO DE LAS TÉCNICAS DE VINIFICACIÓN EN LA COMPOSICIÓN DE LOS VINOS _____	88
6.1.2.2. ESTUDIO DE LA APLICACIÓN DE EXTRACTO DE TRIGO SARRACENO Y RUTINA AL FINAL DEL PROCESO DE CONSERVACIÓN DE LOS VINOS _____	90
6.1.2.2.1. EFECTO DE LOS COPIGMENTOS EN LA COMPOSICIÓN DE LOS VINOS _____	91
6.1.2.2.2. EFECTO DE LAS TÉCNICAS DE VINIFICACIÓN EN LA COMPOSICIÓN DE LOS VINOS _____	100
6.1.2.2.3. EFECTO DE LA APLICACIÓN DE ACETALDEHÍDO EN LA COMPOSICIÓN DE LOS VINOS _____	107
6.1.3. ESTUDIO DE LA APLICACIÓN DE EXTRACTO DE TÉ VERDE Y CATEQUINA _____	114
6.1.3.1. ESTUDIO DE LA APLICACIÓN DE EXTRACTO DE TÉ VERDE Y CATEQUINA POSTERIORMENTE A LA FERMENTACION MALOLÁCTICA _____	114
6.1.3.1.1. EFECTO DE LOS COPIGMENTOS EN LA COMPOSICIÓN DE LOS VINOS _____	116
6.1.3.1.2. EFECTO DE LAS TÉCNICAS DE VINIFICACIÓN EN LA COMPOSICIÓN DE LOS VINOS _____	119

6.1.3.2. ESTUDIO DE LA APLICACIÓN DE EXTRACTO DE TÉ VERDE Y CATEQUINA AL FINAL DEL PROCESO DE CONSERVACIÓN DE LOS VINOS _____	120
6.1.3.2.1. EFECTO DE LOS COPIGMENTOS EN LA COMPOSICIÓN DE LOS VINOS _____	122
6.1.3.2.2. EFECTO DE LAS TÉCNICAS DE VINIFICACIÓN EN LA COMPOSICIÓN DE LOS VINOS _____	132
6.1.3.2.3. EFECTO DE LA APLICACIÓN DE ACETALDEHÍDO EN LA COMPOSICIÓN DE LOS VINOS _____	139
6.1.4. ESTUDIO COMPARATIVO DEL EFECTO EN LOS VINOS DE LA APLICACIÓN DE COPIGMENTOS, DE LAS TÉCNICAS DE VINIFICACIÓN Y DE LA ADICIÓN DE ACETALDEHÍDO _____	146
6.1.4.1. ESTUDIO CONJUNTO DEL EFECTO DE LA APLICACIÓN DE EXTRACTOS Y COPIGMENTOS EN LOS VINOS _____	146
6.1.4.2. ESTUDIO CONJUNTO DEL EFECTO DE LAS TÉCNICAS DE VINIFICACIÓN _____	163
6.1.4.3. ESTUDIO CONJUNTO DEL EFECTO DE LA APLICACIÓN DE ACETALDEHÍDO _____	167
7. CONCLUSIONES _____	171
7.1. EFECTO DE LAS TÉCNICAS ENSAYADAS SOBRE LOS COMPUESTOS POLIFENÓLICOS _____	171
7.2. EFECTO DE LAS TÉCNICAS ENSAYADAS SOBRE LOS COMPUESTOS AROMÁTICOS _____	172
7.3. EFECTO CONJUNTO DE LAS TÉCNICAS ENSAYADAS _____	172
8. BIBLIOGRAFÍA _____	174

INDICE DE TABLAS

Aplicación de extracto de romero y ácido cafeico.

Tabla 6.1. Análisis simple y multifactorial de la varianza para los factores considerados y para su interacción, en los compuestos polifenólicos de los vinos de Monastrell tratados con extracto de romero o ácido cafeico analizados después de la fermentación maloláctica. _____ 52

Tabla 6.2. Media, desviación estándar y ANOVA en los compuestos polifenólicos de los vinos de Monastrell después de la fermentación maloláctica, en función de los copigmentos aplicados. _____ 54

Tabla 6.3. Media, desviación estándar y ANOVA en los compuestos polifenólicos de los vinos de Monastrell tratados con romero o ácido cafeico analizados después de la fermentación maloláctica, en función de la técnica de vinificación aplicada. _____ 57

Tabla 6.4. Análisis simple y multifactorial de la varianza para los factores considerados y para su interacción, en los compuestos polifenólicos de los vinos de Monastrell tratados con romero o ácido cafeico analizados a los 12 meses del embotellado. _____ 58

Tabla 6.5. Media, desviación estándar y ANOVA de los compuestos polifenólicos de los vinos de Monastrell a los 12 meses de conservación, en función de los copigmentos aplicados. _____ 60

Tabla 6.6. Coeficientes estandarizados de las 3 funciones discriminantes que permiten diferenciar los vinos según los tratamientos, en función de los compuestos polifenólicos. _____ 63

Tabla 6.7. Media, desviación estándar y ANOVA de los compuestos aromáticos de los vinos de Monastrell analizados a los 12 meses de conservación, en función de los copigmentos aplicados. _____ 64

Tabla 6.8. Coeficientes estandarizados de las 3 funciones discriminantes que permiten diferenciar los vinos según el tratamiento, en función de los compuestos aromáticos. _____ 68

Tabla 6.9. Coeficientes estandarizados de las 3 funciones discriminantes que permiten diferenciar los vinos según los tratamientos, en función de los compuestos polifenólicos y aromáticos. _____ 69

Tabla 6.10. Media, desviación estándar y ANOVA en los compuestos polifenólicos de los vinos de Monastrell tratados con romero o ácido cafeico al final del proceso de conservación, en función de la técnica de vinificación aplicada. _____ 70

Tabla 6.11. Coeficientes estandarizados de las 2 funciones discriminantes que permiten diferenciar los vinos según la técnica de vinificación, en función de los compuestos polifenólicos. _____ 72

Tabla 6.12. Media, desviación estándar y ANOVA de los aromas de los vinos de Monastrell tratados con romero o ácido cafeico a los 12 meses de conservación, en función de la técnica de vinificación. _____ 73

Tabla 6.13. Coeficientes estandarizados de las 2 funciones discriminantes que permiten diferenciar los vinos según la técnica de vinificación, en función de los compuestos aromáticos. _____ 75

Tabla 6.14. Coeficientes estandarizados de las 2 funciones discriminantes que permiten diferenciar los vinos según la técnica de vinificación, en función de los compuestos polifenólicos y aromáticos. _____ 76

Tabla 6.15. Media, desviación estándar y ANOVA en los compuestos polifenólicos de los vinos de Monastrell tratados con romero o ácido cafeico al final del proceso de conservación, en función de la aplicación de acetaldehído. _____ 78

Tabla 6.16. Coeficientes estandarizados de las 2 funciones discriminantes que permiten diferenciar los vinos según la aplicación de acetaldehído, en función de los compuestos polifenólicos. _____ 79

Tabla 6.17. Media, desviación estándar y ANOVA de los aromas de los vinos tratados con romero o ácido cafeico al final de la conservación, en función de la adición de acetaldehído. _____ 80

Tabla 6.18. Coeficientes estandarizados de las 2 funciones discriminantes que permiten diferenciar los vinos según la aplicación de acetaldehído, en función de los compuestos polifenólicos y aromáticos. _____ 83

Aplicación de extracto de trigo sarraceno y rutina.

Tabla 6.19. Análisis simple y multifactorial de la varianza para los factores considerados y para su interacción, en los compuestos polifenólicos de los vinos de Monastrell tratados con trigo sarraceno o rutina analizados después de la fermentación maloláctica. _____ 85

Tabla 6.20. Media, desviación estándar y ANOVA de los compuestos polifenólicos de los vinos de Monastrell analizados después de la fermentación maloláctica, en función de los copigmentos aplicados. _____ 86

Tabla 6.21. Media, desviación estándar y ANOVA en los compuestos polifenólicos de los vinos de Monastrell tratados con trigo sarraceno o rutina analizados después de la fermentación maloláctica, en función de la técnica de vinificación aplicada. _____ 89

Tabla 6.22. Análisis simple y multifactorial de la varianza para los factores considerados y para su interacción, en los compuestos polifenólicos de los vinos de Monastrell tratados con trigo sarraceno o rutina analizados a los 12 meses del embotellado. _____ 90

Tabla 6.23. Media, desviación estándar y ANOVA en los compuestos polifenólicos de los vinos de Monastrell analizados a los 12 meses de conservación, en función de los copigmentos aplicados. _____ 91

Tabla 6.24. Media, desviación estándar y ANOVA de los compuestos aromáticos de los vinos de Monastrell analizados a los 12 meses de conservación, en función de los copigmentos aplicados. _____ 94

Tabla 6.25. Coeficientes estandarizados de las 3 funciones discriminantes que permiten diferenciar los vinos según los tratamientos, en función de los compuestos aromáticos. _____ 97

Tabla 6.26. Coeficientes estandarizados de las 3 funciones discriminantes que permiten diferenciar los vinos según los tratamientos, en función de los compuestos polifenólicos y aromáticos. _____ 99

Tabla 6.27. Media, desviación estándar y ANOVA en los compuestos polifenólicos de los vinos de Monastrell tratados con trigo sarraceno o rutina analizados a los 12 meses de conservación, en función de la técnica de vinificación aplicada. _ 100

Tabla 6.28. Media, desviación estándar y ANOVA en los compuestos aromáticos de los vinos de Monastrell tratados con trigo sarraceno o rutina analizados a los 12 meses de conservación, en función de la técnica de vinificación aplicada. _____ 102

Tabla 6.29. Coeficientes estandarizados de las 3 funciones discriminantes que permiten diferenciar los vinos según las técnicas de vinificación, en función de los compuestos polifenólicos. _____ 105

Tabla 6.30. Coeficientes estandarizados de las 3 funciones discriminantes que permiten diferenciar los vinos según las técnicas de vinificación, en función de los compuestos polifenólicos y aromáticos. _____ 106

Tabla 6.31. Media, desviación estándar y ANOVA en los compuestos polifenólicos de los vinos de Monastrell tratados con trigo sarraceno o rutina analizados a los 12 meses de conservación, en función de la aplicación de acetaldehído. _____ 107

Tabla 6.32. Coeficientes estandarizados de las 2 funciones discriminantes que permiten diferenciar los vinos según la aplicación de acetaldehído, en función de los compuestos polifenólicos. _____ 109

Tabla 6.33. Media, desviación estándar y ANOVA en los compuestos aromáticos de los vinos de Monastrell tratados con trigo sarraceno o rutina analizados a los 12 meses de conservación, en función de la aplicación de acetaldehído. _____ 110

Tabla 6.34. Coeficientes estandarizados de las 2 funciones discriminantes que permiten diferenciar los vinos según la aplicación de acetaldehído, en función de los compuestos polifenólicos y aromáticos. _____ 113

Aplicación de extracto de té verde y catequina.

Tabla 6.35. Análisis simple y multifactorial de la varianza para los factores considerados y su interacción, en los compuestos polifenólicos de los vinos de Monastrell tratados con té verde o catequina analizados después de la fermentación maloláctica. 115

Tabla 6.36. Media, desviación estándar y ANOVA de los compuestos polifenólicos de los vinos de Monastrell después de la fermentación maloláctica, en función de los copigmentos aplicados. _____ 117

Tabla 6.37. Media, desviación estándar y ANOVA en los compuestos polifenólicos de los vinos de Monastrell tratados con té verde o catequina analizados

después de la fermentación maloláctica, en función de la técnica de vinificación aplicada. 119

Tabla 6.38. Análisis simple y multifactorial de la varianza para los factores considerados y para su interacción, en los compuestos polifenólicos de los vinos de Monastrell tratados con té verde o catequina analizados a los 12 meses del embotellado. 121

Tabla 6.39. Media, desviación estándar y ANOVA en los compuestos polifenólicos de los vinos de Monastrell analizados a los 12 meses de conservación, en función de los copigmentos aplicados. 122

Tabla 6.40. Coeficientes estandarizados de las 3 funciones discriminantes que permiten diferenciar los vinos según los tratamientos, en función de los compuestos polifenólicos. 126

Tabla 6.41. Media, desviación estándar y ANOVA en los compuestos aromáticos de los vinos de Monastrell analizados a los 12 meses de conservación, en función de los compuestos aplicados. 127

Tabla 6.42. Coeficientes estandarizados de las 3 funciones discriminantes que permiten diferenciar los vinos según los compuestos aplicados, en función de los compuestos aromáticos. 130

Tabla 6.43. Coeficientes estandarizados de las 3 funciones discriminantes que permiten diferenciar los vinos según los compuestos aplicados, en función de los compuestos polifenólicos y aromáticos. 131

Tabla 6.44. Media, desviación estándar y ANOVA en los compuestos polifenólicos de los vinos de Monastrell tratados con té verde o catequina al final del proceso de conservación, en función de la técnica de vinificación aplicada. 132

Tabla 6.45. Media, desviación estándar y ANOVA en los compuestos aromáticos de los vinos de Monastrell tratados con té verde o catequina analizados a los 12 meses de conservación, en función de la técnica de vinificación aplicada. 134

Tabla 6.46. Coeficientes estandarizados de las 2 funciones discriminantes que permiten diferenciar los vinos según las técnicas de vinificación, en función de los compuestos aromáticos. 137

Tabla 6.47. Coeficientes estandarizados de las 2 funciones discriminantes que permiten diferenciar los vinos según las técnicas de vinificación, en función de los compuestos polifenólicos y aromáticos. 138

Tabla 6.48. Media, desviación estándar y ANOVA en los compuestos polifenólicos de los vinos de Monastrell tratados con té verde o catequina al final del proceso de conservación, en función de la aplicación de acetaldehído. 139

Tabla 6.49. Coeficientes estandarizados de las 2 funciones discriminantes que permiten diferenciar los vinos según la aplicación de acetaldehído, en función de los compuestos polifenólicos. 141

Tabla 6.50. Media, desviación estándar y ANOVA en los compuestos aromáticos de los vinos de Monastrell tratados con té verde o catequina analizados a los 12 meses de conservación, en función de la aplicación de acetaldehído. _____ 142

Tabla 6.51. Coeficientes estandarizados de las 2 funciones discriminantes que permiten diferenciar los vinos según la aplicación de acetaldehído en función de los compuestos polifenólicos y aromáticos. _____ 145

Efecto conjunto de la aplicación de copigmentos, de las técnicas de vinificación y de la adición de acetaldehído.

Tabla 6.52. Coeficientes estandarizados de las 3 funciones discriminantes que permiten diferenciar los vinos procedentes de todos los tratamientos de copigmentación en función de los compuestos polifenólicos y aromáticos. _____ 150

Tabla 6.53. Coeficientes estandarizados de las 2 funciones discriminantes que permiten diferenciar los vinos procedentes de los tratamientos con copigmentos puros en campo y bodega en función de los compuestos polifenólicos y aromáticos. _____ 152

Tabla 6.54. Coeficientes estandarizados de las 2 funciones discriminantes que permiten diferenciar los vinos tratados en campo y bodega con ácido cafeico, rutina y catequina, en función de los compuestos polifenólicos y aromáticos. _____ 155

Tabla 6.55. Coeficientes estandarizados de las funciones discriminantes que permiten diferenciar los vinos tratados en campo y bodega con ácido cafeico, rutina y catequina, considerando los compuestos polifenólicos y aromáticos. _____ 158

Tabla 6.56. Coeficientes estandarizados de las 2 funciones discriminantes que permiten diferenciar los vinos tratados en campo con extracto de romero, de trigo sarraceno y de té verde, considerando los compuestos polifenólicos. _____ 161

Tabla 6.57. Coeficientes estandarizados de las 2 funciones discriminantes que permiten diferenciar los vinos tratados en campo con extracto de romero, de trigo sarraceno y de té verde, considerando los compuestos polifenólicos y aromáticos. _ 163

Tabla 6.58. Coeficientes estandarizados de las 2 funciones discriminantes que permiten diferenciar los vinos testigo de los elaborados con vinificación tradicional y maceración prefermentativa, considerando los compuestos aromáticos. _____ 165

Tabla 6.59. Coeficientes estandarizados de las 2 funciones discriminantes que permiten diferenciar los vinos testigo de los elaborados con vinificación tradicional y maceración prefermentativa, considerando los compuestos polifenólicos y aromáticos. _____ 167

Tabla 6.60. Coeficientes estandarizados de las 2 funciones discriminantes que permiten diferenciar los vinos testigo, y los copigmentados conservados con y sin acetaldehído, considerando los compuestos polifenólicos y aromáticos. _____ 170

INDICE DE GRÁFICOS

Aplicación de extracto de romero y ácido cafeico.

Gráfico 6.1. Representación de los vinos según los compuestos aplicados, en el espacio definido por la primera y segunda función discriminante en función de los parámetros polifenólicos. _____ 63

Gráfico 6.2. Representación de los vinos según los compuestos aplicados, en el espacio definido por la primera y segunda función discriminante en función de su composición aromática. _____ 67

Gráfico 6.3. Representación de los vinos según los compuestos aplicados, en el espacio definido por la segunda y tercera función discriminante en función de su composición aromática. _____ 67

Gráfico 6.4. Representación de los vinos según los compuestos aplicados, en el espacio definido por la primera y segunda función discriminante en función de su composición polifenólica y aromática. _____ 68

Gráfico 6.5. Representación de los vinos según la técnica de vinificación, en el espacio definido por la primera y segunda función discriminante en función de su composición polifenólica. _____ 72

Gráfico 6.6. Representación de los vinos según la técnica de vinificación, en el espacio definido por la primera y segunda función discriminante en función de su composición aromática. _____ 75

Gráfico 6.7. Representación de los vinos según la técnica de vinificación, en el espacio definido por la primera y segunda función discriminante en función de su composición polifenólica y aromática. _____ 76

Gráfico 6.8. Representación de los vinos según la aplicación de acetaldehído, en el espacio definido por la primera y segunda función discriminante en función de su composición polifenólica. _____ 79

Gráfico 6.9. Representación de los vinos según la aplicación de acetaldehído, en el espacio definido por la primera y segunda función discriminante en función de su composición aromática. _____ 82

Gráfico 6.10. Representación de los vinos según la aplicación de acetaldehído, en el espacio definido por la primera y segunda función discriminante en función de su composición polifenólica y aromática. _____ 82

Aplicación de extracto de trigo sarraceno y rutina.

Gráfico 6.11. Representación de los vinos según los compuestos aplicados, en el espacio definido por la primera y segunda función discriminante en función de los parámetros polifenólicos. _____ 93

Gráfico 6.12. Representación de los vinos según los compuestos aplicados, en el espacio definido por la primera y segunda función discriminante en función de su composición aromática. _____ 97

Gráfico 6.13. Representación de los vinos según los compuestos aplicados, en el espacio definido por la segunda y tercera función discriminante en función de su composición aromática. _____ 97

Gráfico 6.14. Representación de los vinos según los compuestos aplicados, en el espacio definido por la primera y segunda función discriminante en función de su composición polifenólica y aromática. _____ 99

Gráfico 6.15. Representación de los vinos según la técnica de vinificación, en el espacio definido por la primera y segunda función discriminante en función de su composición polifenólica. _____ 102

Gráfico 6.16. Representación de los vinos según la técnica de vinificación, en el espacio definido por la primera y segunda función discriminante en función de su composición aromática. _____ 104

Gráfico 6.17. Representación de los vinos según las técnicas de vinificación, en el espacio definido por la primera y segunda función discriminante en función de su composición polifenólica y aromática. _____ 106

Gráfico 6.18. Representación de los vinos según la aplicación de acetaldehído, en el espacio definido por la primera y segunda función discriminante en función de su composición polifenólica. _____ 109

Gráfico 6.19. Representación de los vinos según la aplicación de acetaldehído, en el espacio definido por la primera y segunda función discriminante en función de su composición aromática. _____ 112

Gráfico 6.20. Representación de los vinos según la aplicación de acetaldehído, en el espacio definido por la primera y segunda función discriminante en función de su composición polifenólica y aromática. _____ 112

Aplicación de extracto de té verde y catequina.

Gráfico 6.21. Representación de los vinos según los compuestos aplicados, en el espacio definido por la primera y segunda función discriminante en función de los parámetros polifenólicos. _____ 125

Gráfico 6.22. Representación de los vinos según los compuestos aplicados, en el espacio definido por la segunda y tercera función discriminante en función de los parámetros polifenólicos. _____ 125

Gráfico 6.23. Representación de los vinos según los compuestos aplicados, en el espacio definido por la primera y segunda función discriminante en función de su composición aromática. _____ 129

Gráfico 6.24. Representación de los vinos según los compuestos aplicados, en el espacio definido por la segunda y tercera función discriminante en función de su composición aromática. _____ 130

Gráfico 6.25. Representación de los vinos según los tratamientos aplicados, en el espacio definido por la primera y segunda función discriminante en función de su composición polifenólica y aromática. _____ 131

Gráfico 6.26. Representación de los vinos según la técnica de vinificación, en el espacio definido por la primera y segunda función discriminante en función de su composición polifenólica. _____ 134

Gráfico 6.27. Representación de los vinos según la técnica de vinificación, en el espacio definido por la primera y segunda función discriminante en función de su composición aromática. _____ 137

Gráfico 6.28. Representación de los vinos según las técnicas de vinificación, en el espacio definido por la primera y segunda función discriminante en función de su composición polifenólica y aromática. _____ 138

Gráfico 6.29. Representación de los vinos según la aplicación de acetaldehído, en el espacio definido por la primera y segunda función discriminante en función de su composición polifenólica. _____ 141

Gráfico 6.30. Representación de los vinos según la aplicación de acetaldehído, en el espacio definido por la primera y segunda función discriminante en función de su composición aromática. _____ 144

Gráfico 6.31. Representación de los vinos según la aplicación de acetaldehído, en el espacio definido por la primera y segunda función discriminante en función de su composición polifenólica y aromática. _____ 144

Efecto conjunto de la aplicación de copigmentos, de las técnicas de vinificación y de la adición de acetaldehído.

Gráfico 6.32. Representación conjunta de los vinos procedentes de todos los tratamientos de copigmentación en el espacio definido por la primera y segunda función discriminante en función de su composición polifenólica. _____ 147

Gráfico 6.33. Representación conjunta de los vinos procedentes de todos los tratamientos de copigmentación en el espacio definido por la primera y segunda función discriminante en función de su composición aromática. _____ 148

Gráfico 6.34. Representación conjunta de los vinos procedentes de todos los tratamientos de copigmentación en el espacio definido por la segunda y tercera función discriminante en función de su composición aromática. _____ 148

Gráfico 6.35. Representación conjunta de los vinos procedentes de todos los tratamientos de copigmentación en el espacio definido por la primera y segunda función discriminante en función de su composición polifenólica y aromática _____ 150

Gráfico 6.36. Representación conjunta de los vinos procedentes de todos los tratamientos de copigmentación en el espacio definido por la segunda y tercera función discriminante en función de su composición polifenólica y aromática. _____ 150

Gráfico 6.37. Representación conjunta de los vinos procedentes de los tratamientos con copigmentos puros en campo y bodega, en el espacio definido por la primera y segunda función discriminante, en función de su composición polifenólica y aromática. _____ 152

Gráfico 6.38. Representación conjunta de los vinos tratados en campo y bodega con ácido cafeico, rutina y catequina, en el espacio definido por la primera y segunda función discriminante, en función de su composición polifenólica. _____ 154

Gráfico 6.39. Representación conjunta de los vinos tratados en campo y bodega con ácido cafeico, rutina y catequina, en el espacio definido por la primera y segunda función discriminante, en función de su composición aromática. _____ 154

Gráfico 6.40. Representación conjunta de los vinos tratados en campo y bodega con ácido cafeico, rutina y catequina, en el espacio definido por la primera y segunda función discriminante, en función de su composición polifenólica y aromática. _____ 155

Gráfico 6.41. Representación de los vinos tratados en campo y bodega con ácido cafeico, rutina y catequina, en el espacio definido por la segunda y tercera función discriminante, en función de su composición polifenólica y aromática. _____ 158

Gráfico 6.42. Representación de los vinos tratados en campo con extracto de romero, de trigo sarraceno y de té verde, en el espacio definido por la primera y segunda función discriminante, en función de su composición polifenólica. _____ 160

Gráfico 6.43. Representación de los vinos tratados en campo con extracto de romero, de trigo sarraceno y de té verde, en el espacio definido por la primera y segunda función discriminante, en función de su composición aromática. _____ 161

Gráfico 6.44. Representación de los vinos tratados en campo con extracto de romero, de trigo sarraceno y de té verde, en el espacio definido por la primera y segunda función discriminante, en función de su composición polifenólica y aromática. _____ 162

Gráfico 6.45. Representación de los vinos testigo y los elaborados con vinificación tradicional y maceración prefermentativa, en el espacio definido por la primera y segunda función discriminante, en función de su composición polifenólica. _____ 164

Gráfico 6.46. Representación de los vinos testigo y los elaborados con vinificación tradicional y maceración prefermentativa, en el espacio definido por la primera y segunda función discriminante, en función de su composición aromática. _____ 165

Gráfico 6.47. Representación de los vinos testigo y los elaborados con vinificación tradicional y maceración prefermentativa, en el espacio definido por la primera y segunda función discriminante, en función de su composición polifenólica y aromática. _____ 166

Gráfico 6.48. Representación de los vinos testigo y los copigmentados conservados con y sin acetaldehído, en el espacio definido por la primera y segunda función discriminante, en función de su composición polifenólica. _____ 168

Gráfico 6.49. Representación de los vinos testigo, y los copigmentados conservados con y sin acetaldehído, en función de su composición aromática. _____ 168

Gráfico 6.50. Representación de los vinos testigo, y los copigmentados conservados con y sin acetaldehído, en función de su composición polifenólica y aromática. _____ 169

INDICE DE FIGURAS

Figura 1.1. Racimo de la variedad Monastrell. _____	2
Figura 3.1. Contenido de compuestos fenólicos en diferentes partes de la uva expresado en mg/Kg de bayas (Fuente: Blouin y Guimberteau, 2004). _____	6
Figura 3.2. Clasificación de los compuestos fenólicos. _____	7
Figura 3.3. Etapas de crecimiento de las bayas de vid y de los cambios en la composición de polifenoles y azúcares (Fuente: Adaptación de Matus-Picero, 2008). 10	
Figura 3.4. Anatomía de la baya de la vid, describiendo las zonas de acumulación de los principales compuestos de interés enológico (Adaptada de Coombe, 1987). __	11
Figura 3.5. Esquema simplificado del proceso de pardeamiento enzimático catalizado por la PPO (Fuente: Taranto et al., 2017). _____	12
Figura 3.6. Mecanismo de condensación directa entre Tanino/Antociano (Fuente: Cheynier et al., 2003). _____	13
Figura 3.7. Mecanismo de condensación directa Antociano/Tanino (Fuente: Cheynier et al., 2003). _____	14
Figura 3.8. Mecanismo de reacciones mediadas por el acetaldehído (Fuente: Cheynier et al., 2003). _____	15
Figura 3.9. Mecanismo de reacciones de los taninos con el ácido glioxílico (Fuente: Cheynier et al., 2003). _____	16
Figura 3.10. Esquemas de las variantes del fenómeno de copigmentación (Fuente: Casassa, 2007). _____	18
Figura 3.11. Esquema de copigmentación de antocianos. _____	18
Figura 3.12. Equilibrio de los antocianos en función del pH (Fuente: Zamora, 2013). _____	22
Figura 3.13. Las diferentes formas del SO ₂ en el vino (Fuente: Zamora, 2005). _____	23
Figura 3.14. Porcentaje de las distintas formas de sulfuroso según el pH del vino (Fuente: Zamora, 2005). _____	23
Figura 3.15. Cinética de extracción de los compuestos fenólicos durante la maceración/fermentación alcohólica (Fuente: Ribéreau-Gayón et al., 2000). _____	26
Figura 3.16. Momentos de extracción durante la maceración y los factores que inciden (Adaptado del Conseil Interprofessionnel du Vin de Bordeaux, 1998). _____	26
Figura 3.17. Momentos de aplicación de oxígeno durante la vinificación de vino tinto (Fuente: Gómez-Plaza, 2016). _____	33
Figura 4.1. Diagrama de flujo del proceso de elaboración de los vinos. _____	40
Figura 4.2. Esquema del diseño experimental del trabajo. _____	41
Figura 4.3. Continuación del esquema del diseño experimental del trabajo. _	42

INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

1.1. DENOMINACIÓN DE ORIGEN PROTEGIDA VALENCIA

El origen de la viticultura en la provincia de Valencia es muy antiguo, excavaciones arqueológicas realizadas en las estaciones prehistóricas de San Miguel (Llíria) y la Bastida de les Alcusses (Moixent) han demostrado que el pueblo íbero cultivaba la vid y elaboraba vino para su consumo.

El sector vitivinícola representa un papel muy importante en la economía de la provincia de Valencia, no tan sólo a nivel socioeconómico, sino también por lo que comporta a nivel histórico y cultural.

La D.O.P. Valencia, tiene su origen en 1932, tras la aprobación del Estatuto del Vino, convirtiéndose en una de las denominaciones más representativas e históricas del sector vitivinícola nacional. La cultura de la vid y el vino en la Denominación de Origen Protegida de Valencia es histórica, encontrando sus raíces en los fenicios, quienes introdujeron las primeras cepas de vino en nuestro territorio. A lo largo de los años, la actividad vitivinícola se ha consolidado, favoreciendo el incremento de la comercialización de los vinos.

El potencial vitícola de la D.O.P. Valencia se sitúa en torno a las 13.000 hectáreas de viñedo. La altitud de la vid amparados por le D.O.P. Valencia oscila de entre los 700-1.000 m. en la subzona Alto Turia a los 300 metros sobre el nivel del mar en algunos viñedos de las subzonas Valentino y Moscatel de Valencia. La zona de producción amparada está constituida por los terrenos ubicados en los términos municipales de la provincia de Valencia agrupados en 4 subzonas: al Noroeste, Alto Turia; al Norte y al Centro, Valentino y al Sur, hasta el límite con Alicante, Clariano; la Subzona Moscatel de Valencia se superpone parcialmente a la Valentino. La producción media anual es superior a los 650.000 Hl. de vino que se elaboran a partir de diferentes variedades de uva, algunas de ellas autóctonas, y cuenta con más de 100 bodegas.

1.2. SUBZONA CLARIANO

La subzona Clariano se encuentra situada al sur de la Provincia de Valencia y está comprendida por los municipios de la comarca de La Vall d'Albaida y parte de la comarca de La Costera. En La Vall d'Albaida se pueden distinguir 2 zonas bien diferenciadas: una próxima al mar, donde dominan las variedades blancas, y otra en el interior, en el triángulo formado por los municipios de Moixent, La Font de la Figuera y Ontinyent. Esta zona está dominada por las variedades tintas, entre las que destacan Monastrell, Cabernet Sauvignon, Merlot y Tempranillo.

Las altitudes van desde los 400 hasta los 700 m. El viñedo se localiza, fundamentalmente, en suelos pardos, escasos de humus y generalmente calcáreos, favoreciendo así la calidad de los vinos. Carecen de horizontes impermeables, por lo que no suelen tener problemas de drenaje.

Los vinos producidos son blancos ligeros y aromáticos de 11 a 13° y tintos con color, de extenso aroma, sabrosos en boca y con graduación de 12 a 14°.

El clima es de tipo mediterráneo con fuertes tormentas en verano y otoño. La temperatura puede oscilar entre los 38°C en verano y los -4°C en invierno, situándose la

media en unos 17°C. La pluviometría media anual es de unos 500 mm, siendo los meses de octubre a diciembre los más lluviosos. La insolación media es de unas 2.700 horas/año.

1.3. LA VARIEDAD MONASTRELL

La Monastrell, también conocida como Mataró y Mourvèdre, se considera la variedad principal en las Denominaciones de Origen de Valencia en la subzona Clariano, de Alicante, Yecla, Jumilla y Bullas, las regiones francesas del Ródano y la Provenza, los estados de California y Washington de EE.UU. y las regiones australianas de Australia Meridional y Nueva Gales del Sur.

La Monastrell funciona bien en climas cálidos y tiene tendencia a brotar y a madurar muy tarde. Esta variedad puede recuperarse bien de las heladas de finales de la primavera debido a su brotación tardía. Es muy sensible a las temperaturas en todo su ciclo vegetativo y las temperaturas más bajas del invierno le pueden provocar inactividad, beneficiándole un clima seco y una buena ventilación para protegerse de los peligros vitícolas como el oídio y el mildiu (Robinson J., 2006). Aunque esta variedad se puede adaptar a una gran variedad de suelos, lo ideal es cultivarla en sitios cálidos, al sur del hemisferio norte y en suelos poco profundos y arcillosos que permiten retener la humedad al tiempo que evita que la vegetación crezca demasiado (Oz y Rand, 2001).

La vid Monastrell produce racimos de tamaño medio, compactos. Suelen tener forma cónica y cuentan con un pequeño racimo en un lado de la parte superior que puede ser desechado durante la poda en verde (**Figura 1.1**). Las hojas suelen tener una forma de cuña truncada. La variedad es de maduración tardía y tiene potencia para madurar con altos niveles de azúcar.



Figura 1.1. Racimo de la variedad Monastrell.

Su momento óptimo de recolección está en función de la madurez polifenólica de las uvas. Una vez que alcanza su punto óptimo de madurez, la acidez empieza a caer rápidamente y las uvas empiezan a secarse y a desarrollar sabores a ciruela. Una de las ventajas de la piel gruesa de la Monastrell es que puede soportar bien las lluvias de finales de la cosecha sin que las bayas se hinchen y estallen.

La Monastrell es una uva capaz de producir vinos potentes, con bastante color, alta graduación alcohólica y un elevado nivel de taninos, sobre todo en años calurosos. Destacan por su color rubí intenso, sus aromas frutales y su baja acidez. Los vinos suelen ser potentes en su juventud y se pueden suavizar mezclándolos con vinos de otras variedades de uva o tras su crianza en barrica.

1.4. JUSTIFICACIÓN DEL TRABAJO

Uno de los problemas que presenta la variedad Monastrell es que tiene un ciclo de maduración tardío, que obliga a vendimiar la uva con un grado de maduración glucosídica elevada para poder conseguir una madurez polifenólica adecuada, y de esa forma obtener un vino con un color estable y una concentración tánica equilibrada. La alta graduación alcohólica así obtenida conlleva una baja aceptación por parte del consumidor, y es contraria a la política actual de descenso del consumo de alcohol. Asimismo, estos vinos tienen una baja acidez que obliga a correcciones que suelen desequilibrar organolépticamente al vino y ello, junto con la elevada concentración de enzimas polifenoxidasas presentes en la variedad, provoca dificultades en la elaboración, obstaculizando la estabilidad del color y el equilibrio polifenólico de estos vinos. Otro problema que podemos encontrar es esta variedad, es que, debido a esta sobremaduración, los compuestos aromáticos del hollejo disminuyan, ya que la madurez aromática suele ser anterior a la madurez polifenólica (Blouin y Guimberteau, 2004).

En el momento actual, el mercado vitivinícola demanda vinos tintos con color y estructura, en los cuales destaquen las características varietales de las uvas de las que proceden, al mismo tiempo que mantienen un buen equilibrio alcohol-ácido-polifenólico. Con la variedad Monastrell se están elaborando vinos tintos de calidad, con adecuada concentración polifenólica y elevada graduación alcohólica, pero la actual tendencia encaminada al consumo de vinos con menos alcohol, más aromáticos y elegantes, hace necesaria la introducción de nuevas prácticas enológicas en la vinificación de uvas de Monastrell, que nos permitan vendimiar sin llegar a una elevada madurez glucométrica, permitiendo extraer un adecuado contenido polifenólico y aromático de las uvas.

Para elaborar este tipo de vinos es necesario que las técnicas de cultivo del viñedo vayan encaminadas a alcanzar una precoz madurez polifenólica, tanto de hollejos como de pepitas, y que la vendimia se realice en un momento de elevada concentración polifenólica, sin llegar a un incremento elevado de la concentración azucarada, ni a pérdidas destacables de precursores aromáticos. Es preciso también, que durante la vinificación se utilicen técnicas encaminadas a extraer una importante concentración de aromas, mucho color, y suficiente tanino, que permita aportar estructura y estabilizar el color, sin conferir excesiva dureza y astringencia.

La aplicación tanto en el viñedo como en fase prefermentativa de compuestos polifenólicos con actividad copigmentante (flavanoles, flavonoles, ácidos hidroxicinámicos), supuso un incremento de los procesos naturales de asociación molecular de los antocianos y un incremento de la intensidad y estabilidad del color (Mirabel et al., 1999; Schwarz et al., 2005; Rustioni et al., 2012; Gombau et al., 2016; Vazallo-Valleumbrocio et al., 2017; Zhang et al., 2018; Zhao et al., 2020). La aplicación de copigmentos en el viñedo y en fases pre- y post-fermentativa fue ensayada también por Álvarez et al. (2006, 2009), observando que la adición de copigmentos aumenta los procesos de copigmentación en vinos de Tempranillo. Otros estudios realizados con adición de ácido cafeico, ácido cumárico, catequina y rutina en adición prefermentativa, mostraron un efecto potenciador de la extracción y copigmentación de los antocianos, y un notable efecto en la extracción de color (Darías-Martín et al., 2001, 2002; Herмосín y Schwarz, 2005; Schwarz et al., 2005; Aleixandre-Tudó et al., 2012, 2013).

Pero la utilización de estos compuestos copigmentantes puros tiene un elevado precio, es de difícil legalización, y al tratarse de compuestos químicos de síntesis, no resultarían idóneos para la agricultura biológica; debido a ello, la incorporación de estos compuestos utilizando extractos vegetales ricos en estos copigmentos puede resultar de

gran utilidad para conseguir un adelanto de la madurez polifenólica de las uvas, que permita realizar la vendimia sin tener que llegar al estado de sobremaduración habitual.

Diversos estudios han aplicado en el viñedo sustancias de diversa naturaleza, entre ellas elicitores como el jasmonato de metilo y el quitosano, o precursores aromáticos como el eugenol, guayacol, whiskylactona (Pardo-García et al., 2014a, Portu et al., 2016, 2017, 2018a, 2018b; D'Onofrio et al., 2018), consiguiendo aumentar el contenido de antocianinas en la uva, así como su contenido aromático.

El extracto de romero (*Rosmarinus officinalis* L.), que presenta una compleja composición rica en flavonoides, terpenoides, terpenos fenólicos como el ácido carnósico y ácidos fenólicos como el ácido cafeico y su éster, el ácido rosmarínico (Wang et al., 2004; Luis y Johnson, 2005; Mena et al., 2016), ha sido utilizado como copigmento por Del Pozo-Insfran (2006), que comprobaron un incremento en la vida media de los antocianos durante la conservación de los vinos. También Talcott et al. (2003) y Brenes et al. (2005) establecieron que la adición de extracto de romero a la uva incrementó la formación de complejos de copigmentos con antocianinas y dio como resultado cambios hipercrómicos en el vino y una mejora de su capacidad antioxidante. Otros estudios observaron un aumento de las antocianinas y de la intensidad del color, superior a la observada con ácido cafeico, quizás debido a la composición más compleja del extracto de romero (Bimpilas et al., 2016). También Darici et al. (2020) encontraron un incremento significativo de la concentración de ésteres en los vinos de Cabernet Sauvignon tratados con extracto de romero.

En cambio, hay muy pocos estudios sobre el efecto en la composición de la uva y del vino de los extractos de trigo sarraceno (*Fagopyrum esculentum* Moench) y de té verde (*Camellia Sinensis* L.) (Álvarez et al., 2015), y si encontramos más estudios que determinan su capacidad fungicida y antimicrobiana, como una buena herramienta en la agricultura sostenible actual (Irvin et al., 2014; Romani et al., 2021). Numerosos estudios determinaron la composición del extracto de *Camellia Sinensis* L. (Nagle et al., 2006; Botten et al., 2015; Romani et al., 2021), estableciendo una compleja composición, rica en flavonoides especialmente galato de epigallocatequina, y varias catequinas relacionadas, como la epicatequina-3-galato. Wang et al. (2013) determinaron la composición del extracto de trigo sarraceno y establecieron que la rutina es el flavonoide mayoritario, seguido de quercetina e isoquercetina. La composición de estos extractos parece indicar que su aplicación puede contribuir a mejorar el contenido polifenólico y aromático de los vinos.

La presente Tesis Doctoral se centró en investigar el efecto de la aplicación en el viñedo de estos extractos vegetales sobre la concentración de polifenoles y aromas, comparándolo con el efecto de los copigmentos puros, y esto combinado con diferentes tecnologías de vinificación, que nos permitan optimizar el proceso de extracción y estabilización de los compuestos extraídos, con el objeto de mejorar la calidad de los vinos de la variedad Monastrell. La aplicación de estas técnicas puede ser una herramienta muy útil en el diseño de sistemas de producción vitivinícola que garanticen la sostenibilidad del cultivo, considerando siempre la mejora de la calidad como un objetivo fundamental. La pulverización con extractos naturales podría ser también de gran interés para la viticultura biológica (Bulgari et al., 2015).

OBJETIVOS

2. OBJETIVO

El objetivo de este trabajo es estudiar el posible incremento de la calidad de los vinos tintos elaborados con la variedad Monastrell, estableciendo una metodología de elaboración que permita mejorar la concentración polifenólica y aromática de estos vinos. Para ello el estudio se centró en investigar el efecto de la aplicación prefermentativa en campo de extractos vegetales (romero, trigo sarraceno y té verde) sobre la concentración de polifenoles y aromas, comparándolo con el efecto de los copigmentos puros (ácido cafeico, rutina y catequina) aplicados en campo y en bodega, y esto combinado con diferentes tecnologías de vinificación, como la maceración prefermentativa en frío y la microoxigenación (mediante la adición de acetaldehído) durante la conservación en botella (12 meses). Se ha estudiado la composición polifenólica y aromática de los vinos, con el objetivo de conocer el efecto de cada una de las técnicas empleadas junto con los copigmentos aplicados. Para conseguir dicho objetivo, se plantean los siguientes objetivos específicos:

1. Estudiar el efecto de la aplicación prefermentativa en campo y en bodega de copigmentos y extractos vegetales, en la composición polifenólica y aromática de los vinos elaborados.
2. Analizar el efecto de la maceración prefermentativa en frío, con respecto a la vinificación tradicional.
3. Establecer diferencias entre las reacciones de copigmentación de los distintos copigmentos y los extractos vegetales adicionados.
4. Identificar cuál de los copigmentos y extractos vegetales contribuye a una mayor estabilidad del color y un mejor perfil aromático de los vinos.
5. Estudiar la interacción de la aplicación de copigmentos con la técnica de la maceración prefermentativa.
6. Evaluar el efecto de la adición de acetaldehído sobre la estabilidad de los compuestos polifenólicos y sobre la composición global de los vinos elaborados.
7. Analizar el efecto conjunto de las técnicas de maceración prefermentativa y de la adición de acetaldehído, comprobando si son compatibles.
8. Evaluar si las técnicas de vinificación estudiadas, la adición prefermentativa de copigmentos, la aplicación de técnicas de maceración prefermentativa y la adición de acetaldehído durante la conservación en botella (12 meses), tienen un efecto significativo sobre las características polifenólicas y aromáticas de los vinos elaborados.

ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS

3. ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS

3.1. LOS COMPUESTOS FENÓLICOS

Los compuestos fenólicos son sustancias químicas secundarias del metabolismo de las plantas y que particularmente aparecen en concentraciones importantes en la uva. En enología presentan gran importancia, ya que se localizan en las partes sólidas de la uva (pulpa, hollejo y pepitas).

	Pulpa	Hollejos	Pepitas
Taninos	Trazas	100 a 500	1000 a 6000
Antocianos	0 ⁽¹⁾	500 a 3000 ⁽²⁾	0
Ácidos fenólicos	20 a 170	50 a 200	0

1. Excepto variedades tintoreras
2. Contenido en variedades tintas

Figura 3.1. Contenido de compuestos fenólicos en diferentes partes de la uva expresado en mg/Kg de bayas (Fuente: Blouin y Guimberteau, 2004).

La biosíntesis de los compuestos fenólicos y, por lo tanto, la calidad de la uva depende de una serie de factores como, las condiciones edafológicas, las condiciones climáticas y las técnicas culturales aplicadas en el viñedo (Pirie, 1977; Morrison y Noble, 1990; Neuza et al., 2007; Reynolds et al., 2013). La calidad sensorial de los vinos está muy influenciada por su composición fenólica, responsable del color, cuerpo, amargor, astringencia y sus características sensoriales. La composición fenólica de los vinos determina su aptitud para su crianza y envejecimiento (He et al., 2012a,b; Rubio-Bretón et al., 2013).

La uva marca el potencial fenólico, pero es imprescindible que se extraigan durante la vinificación y de esa forma se transformen en compuestos fenólicos presentes en el vino. Los compuestos fenólicos son compuestos químicos con estructuras muy heterogéneas que se caracterizan por poseer al menos un núcleo bencénico, sustituido con uno o varios grupos hidroxilos y una cadena lateral funcional. Simplificando su clasificación, es posible identificar dos grandes grupos fenólicos: los no flavonoides y los flavonoides (Boulton, 2000; Ribéreau-Gayón et al., 2000; Cheynier et al., 2003; Parpinello et al., 2009).

Dentro del primer grupo, caracterizados por presentar solo un anillo de 6 carbonos (C6), los más importantes son los ácidos hidroxibenzoicos (C6-C1) y los ácidos hidroxicinámicos (C6-C3). Su concentración oscila entre los 10 y los 20 mg/L en el vino blanco y los 100 y los 200 mg/L en el vino tinto (Ribéreau-Gayón et al., 2006). Sus quinonas poseen una elevada reactividad con antocianos y taninos, viéndose involucradas en procesos de copigmentación con antocianos (Brouillar y Dangles, 1994; Teixeira et al., 2013).

El grupo más importante de compuestos fenólicos corresponde a los compuestos flavonoides, caracterizados por presentar dos anillos unidos por un heterociclo central de 3 carbonos (C6-C3-C6) (Valls et al., 2000; Cheynier et al., 2006).

En este grupo encontramos a los flavonoles, una fracción minoritaria de los compuestos fenólicos, como la quercetina, miricetina, el kaemferol y sus glucósidos, presentes en los hollejos (Terrier et al., 2009). Los flavonoles son compuestos que contribuyen a la componente amarilla del color de los vinos. Su estructura es planar, facilitando su participación como cofactor en el fenómeno de copigmentación de las antocianinas (Boulton, 2001; Hermosín et al., 2005).

No Flavonoides	Ácidos Fenólicos	Benzoicos	Hidroxibenzóico
			Gálico
			Procatequico
			Siringico
			Vinílico
			Gentísico
		Cinámicos	p-Cumárico
			Cafeico
			Ferúlico
		Estilbenos	Resveratrol
Flavonoides	Flavonoles	Catequinas	(+)-Catequina
			(-)-Catequina
			(+)-Epicatequina
			(-)-Epicatequina
		Proantocianidinas	
	Flavonoles	Kaemferol	
		Quercetina	
		Miricetina	
	Antocianos	Antocianinas	Cianidina 3-gl
			Delfinidina 3-gl
			Petunidina 3-gl
			Peonidina 3-gl
			Malvidina 3-gl
Derivados acetilados			
Derivado p-cumarílicos			

Figura 3.2. Clasificación de los compuestos fenólicos.

También encontramos a los flavonoles, como la (+)-catequina, la (-) epicatequina y (-) epicatequina-3-galato (Cheynier et al., 2003 y 2006), y en menor medida, (+)-galocatequina, (-)epigalocatequina, (+)-catequina-3-galato y (+)-galocatequina-3-galato (Monagas et al., 2005). La unión de estos taninos da lugar a los taninos condensados ubicados en las pepitas y hollejos, que presentan una relación inversa en cuanto al amargor y la astringencia. A medida que aumentan de tamaño, disminuye el amargor, pero aumentando su astringencia. También intervienen en la estabilidad del color a través de reacciones de copigmentación y/o condensación con los antocianos.

Por último, encontramos los antocianos que dan el color rojo a las uvas tintas (Valls et al., 2000), presentes en los hollejos, siendo la más importante la malvidina-3-

glucósido y sus derivados (Cacho, 2003). En variedades tintoreras los antocianos también están presentes en la pulpa (Monagas y Bartolomé, 2009). Los antocianos tienen una gran reactividad que provoca su desaparición progresiva durante la conservación y envejecimiento del vino, dicha desaparición se debe a las reacciones de oxidación de sus formas calconas que dan pérdidas de color irreversibles (Brouillard, 1982; Furtado et al., 1993). Las reacciones de asociación entre antocianos y taninos, dan lugar a pigmentos poliméricos que estabilizan el color. Los antocianos polimerizados son más estables que los antocianos monoméricos, por lo que contribuyen a una mayor estabilidad del color de los vinos (Ivanova et al., 2011).

3.2. COMPOSICIÓN AROMÁTICA DE LA UVA Y DEL VINO.

Los compuestos volátiles que componen el aroma del vino pueden clasificarse en diferentes grupos químicos. Se pueden distinguir los siguientes aromas según su procedencia: aroma varietal o primario, propio de la variedad de la uva; aroma fermentativo o secundario, producido durante la fermentación, y aroma post-fermentativo o terciario, formado durante el almacenamiento y envejecimiento de los vinos.

Los aromas varietales dependen de la variedad de la uva (López-Tamames et al., 1997), de las condiciones edafológicas y climáticas (Sabon et al., 2002), de las prácticas culturales empleadas (Fragasso et al., 2012), de los tratamientos fitosanitarios utilizados (González-Rodríguez et al., 2011) y en general de las características de la zona donde se cultiva la viña.

Los compuestos responsables del aroma varietal, también llamados aromas primarios, se pueden dividir en dos grandes grupos: como moléculas volátiles y por tanto olorosas (forma libre) y moléculas que no son volátiles y que por tanto no huelen (forma ligada), a las que se denominan precursores aromáticos. Entre los precursores aromáticos podemos distinguir aquellos que son específicos del aroma (glicosídicos, cisteínicos y glutatiónicos) y los que no lo son (ácidos grasos, carotenoides y aminoácidos). Asimismo, durante la fermentación alcohólica, los aminoácidos, dan compuestos volátiles que no son característicos de la variedad, ya que aparecen en todos los vinos. Por tanto, los precursores aromáticos específicos son los que otorgan la tipicidad varietal a los vinos. Estos precursores aromáticos son compuestos en los que la molécula volátil está retenida en su estructura y para que su molécula volátil pueda ser percibida es necesario que se produzca una hidrólisis enzimática o ácida (Salinas, 2013). Estudios sobre el potencial aromático de la uva, han demostrado que la mayoría de los compuestos aromáticos que proceden de los precursores glicosídicos son aromas positivos, y que se puede establecer una relación entre el total de estos precursores y el potencial aromático de la uva capaz de influir positivamente en el aroma del vino. Según Martínez-Gil et al., (2013) una mayor concentración de precursores glicosídicos en la uva podrá dar un mejor aroma varietal en el vino.

Durante la fermentación alcohólica las levaduras no sólo convierten los azúcares en alcohol y CO₂, sino que también producen, en menor medida, una serie de metabolitos volátiles que determinan el carácter aromático de un vino. El perfil aromático del vino no sólo es debido a un solo compuesto aromático, sino que es el resultado de la combinación e interacción entre ellos. El perfil aromático del vino se le atribuye mayoritariamente a alcoholes y ésteres, otorgándole su calidad e intensidad aromática (Gil et al., 2015). Los compuestos que constituyen el aroma fermentativo (aroma secundario) pertenecen a distintos grupos: alcoholes, ésteres, aldehídos, ácidos, compuestos azufrados, lactonas, fenoles volátiles, etc. La cantidad de estos aromas depende de diferentes factores, como

por ejemplo la variedad de la uva, los microorganismos implicados, el desarrollo de la fermentación y las técnicas enológicas utilizadas (Lorenzo et al., 2008; Losada et al., 2012).

Los aromas post-fermentativos o aromas terciarios engloban a los compuestos volátiles que se forman durante el almacenamiento y envejecimiento del vino. Durante el envejecimiento, el aroma afrutado de los vinos jóvenes desaparece y evoluciona hacia un aroma más complejo. Entre los compuestos aromáticos implicados en el envejecimiento destacan los compuestos cedidos por la madera, como por ejemplo las whiskylactonas (olor a coco), fenoles volátiles como la vainillina (olor a vainilla), guayacol (olor a tostado), 5-metilfurfural (olor a almendra amarga), 5-hidroximetilfurfural (olor a caramelo) (Fernández de Simón et al., 2008) y los compuestos que se transforman durante el envejecimiento, destacando la disminución de la concentración de alcoholes monoterpénicos, el aumento de la concentración de los óxidos isoméricos, el aumento de la concentración de vitispiranos, et..

La exposición de la viña y más concretamente del racimo, a la luz y a la radiación UV influyen en el contenido de aromas en la uva y en el vino. Según diversos estudios que evaluaron el efecto del sombreado del racimo en la composición aromática de la uva, nos muestran que el contenido de monoterpenos tiende a aumentar cuando hay una mayor exposición a la luz y con un mayor índice de radiación UV, llegando a aumentar hasta en un 30% comparándose con uvas con un mayor sombreado (Zoecklein et al., 2008; Skinkis et al., 2010; Song et al., 2015). Otros estudios, muestran que los racimos con mayor exposición a la luz y con mayor nivel de radiación UV presentaron menores concentraciones de 3-isobutil-2-metoxipirazina (IBMP) en la etapa previa al envero. Sin embargo, no se observó una degradación de la IBMP (testigo olfativo a pimienta verde), después del envero (Roujou de Boubée et al., 2000; Gómez, 2010; Scheiner et al., 2010).

Referente a los C13-norisoprenoides, se encontró que no hubo diferencias significativas en el contenido de β -damascenona (testigo olfativo a rosas) tanto en el tratamiento control como en el tratamiento de sombreado. Sin embargo, en el contenido de β -ionona (testigo olfativo del aceite de rosa) fue significativamente mayor en el control (1,74 $\mu\text{g/L}$), que en el tratamiento de sombreado (1,24 $\mu\text{g/L}$), mientras que no se encontró TDN (aroma a queroseno/gasolina) en ningún vino (Ristic et al., 2007).

3.3. EVOLUCIÓN DE LOS COMPUESTOS FENÓLICOS DURANTE LA MADURACIÓN DE LA UVA.

Las cepas siguen un ciclo vegetativo anual determinado por las variaciones climatológicas. Desde el punto de vista fenológico se pueden distinguir cuatro etapas fisiológicamente bien definidas: Brotación, floración, envero y madurez. Desde el punto de vista enológico se puede dividir en dos fases, una primera fase donde se producen los procesos de crecimiento y desarrollo de los órganos vegetativos de la vid y una segunda fase donde ocurren los procesos de biosíntesis de polifenoles (madurez polifenólica) y azúcares (madurez glucosídica) durante la maduración de las bayas. Durante el agostamiento de la cepa se produce acumulación de almidón

A medida que avanza la maduración de la uva la composición fenólica aumenta. Las antocianinas empiezan a aparecer en el envero y su máximo se alcanza con la madurez de la uva, llegando a disminuir si existe sobremaduración (Lanaridis y Bena-Tzourou, 1997). Los taninos aumentan de forma similar (Cholet y Darné, 2004). Este aumento puede presentar variaciones debido a diferentes factores, como por ejemplo el tipo de

suelo (Cliff et al., 2007), las prácticas culturales, la disponibilidad del agua, el estado sanitario, la climatología (Glories, 1999) y la variedad de uva.

El crecimiento de la uva se caracteriza por describir una función doble sigmoidea, mostrando una progresión temporal desde unos niveles bajos al inicio, hasta acercarse a un máximo transcurrido un cierto tiempo. La transición se caracteriza por una fuerte aceleración intermedia. La primera fase comienza con la floración y dura entre 45 y 60 días. Durante la primera etapa las bayas poseen altas concentraciones de clorofila y en esta etapa se acumulan los ácidos orgánicos, fundamentalmente los ácidos málico y tartárico. La segunda fase es conocida como fase estacionaria y sobre el final de esta fase (envero), las bayas comienzan a perder dureza y clorofila, siendo estos los indicios del comienzo de la tercera fase.

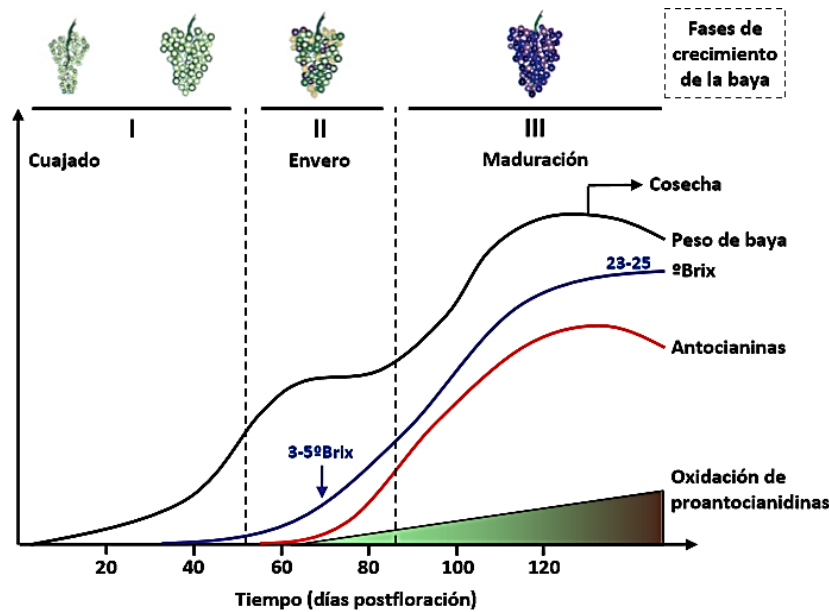


Figura 3.3. Etapas de crecimiento de las bayas de vid y de los cambios en la composición de polifenoles y azúcares (Fuente: Adaptación de Matus-Picero, 2008).

El inicio de la tercera fase viene marcado por el cambio de color de la baya y continúa con la acumulación de azúcares, la coloración de la piel en cepas tintas, la reducción de los niveles de ácidos orgánicos y el crecimiento celular (Coombe, 1976). El aumento de la concentración de glucosa durante el envero viene acompañado por la biosíntesis de antocianinas (Kennedy et al., 2001). La tercera fase del crecimiento de las bayas se conoce como maduración.

La fase de maduración implica una serie de cambios: acumulación de azúcares, crecimiento celular, síntesis de antocianinas en hollejos en variedades tintas y pulpa en variedades tintoreras, disminución de los ácidos orgánicos, síntesis de compuestos volátiles, acumulación de aminoácidos, entre otros cambios (Giovannoni, 2001; Deluc et al., 2007).

La concentración de compuestos no-flavonoides aumenta hasta el envero, disminuyendo durante la maduración (Obreque-Slier et al., 2010). Por otro lado, el contenido de los compuestos flavonoides disminuye en forma sostenida hacia el final de la maduración (Peña-Neira et al., 2004; Fournand et al., 2006). El contenido de flavonoles muestra una tendencia muy similar (Peña-Neira et al., 2004; Singh-Brar et al., 2008). Las proantocianidinas se comportan diferente según la parte herbácea involucrada. En los

hollejos, la concentración de proantocianidinas disminuye durante la maduración de la uva, aumentando el grado de polimerización de éstas (Kennedy y Jones, 2001; Harbertson et al., 2002). En las pepitas, desde el envero se observa una disminución de proantocianidinas debido a procesos de oxidación (Fredes et al., 2010), generando un cambio en su coloración hacia tonalidades marrones y contribuyendo a una reducción de la astringencia.

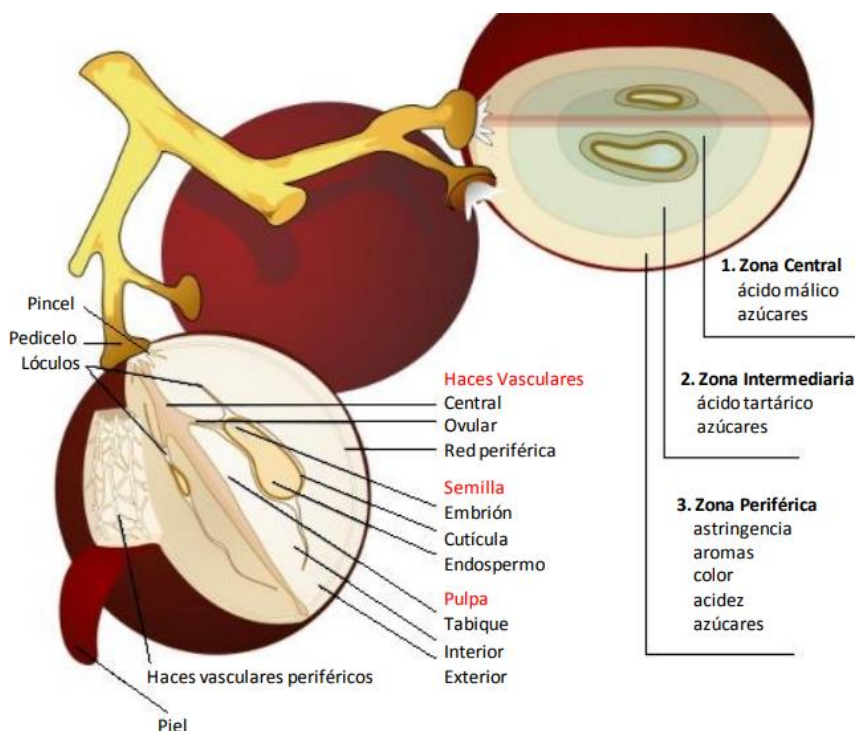


Figura 3.4. Anatomía de la baya de la vid, describiendo las zonas de acumulación de los principales compuestos de interés enológico (Adaptada de Coombe, 1987).

3.4. REACCIONES ENZIMÁTICAS DE LOS COMPUESTOS FENÓLICOS

Durante los últimos años se han dedicado muchos esfuerzos en el estudio de las reacciones enzimáticas en el sector enológico en búsqueda de nuevos compuestos fenólicos, para aumentar su extracción y/o modificar estructuralmente estos para incrementar su estabilidad. Las reacciones enzimáticas pueden ser catalizadas por enzimas endógenas o exógenas. La enzima endógena más importante es la polifenol oxidasa (PPO), mientras que entre las exógenas podemos encontrar las enzimas cinamato esterasas, tanino acil-hidrolasas y β -glicosidasas (Cheynier et al., 2003; Yan et al., 2013).

La enzima polifenol oxidasa, pertenece al grupo de las metaloproteínas al presentar en su centro activo dos iones de Cobre (II) unidos cada uno de ellos a tres histidinas (enzima cúprica de tipo III) (Muñoz-Pina et al., 2018). Cuando la enzima y el sustrato entran en contacto, se producen dos reacciones enzimáticas diferentes y secuenciales (Serra et al., 2021). En primer lugar, la hidroxilación de los monofenoles para formar orto-fenoles (actividad cresolasa) y por otro lado la oxidación de estos orto-fenoles en quinonas (actividad catecolasa) (Muñoz-Pina et al., 2018). Posteriormente, se produce una reacción de polimerización no enzimática, donde las quinonas formadas, reaccionan rápidamente con otras quinonas, aminoácidos, proteínas y fenoles (Serra et al., 2021). Esta polimerización genera compuestos de color marrón y propensos a

precipitar, denominados melanoideos, responsables del pardeamiento enzimático (Moutounet, 2000; Teribia et al., 2021).

Los principales factores que influyen en el pardeamiento enzimático son la concentración de la enzima y de los compuestos fenólicos, la temperatura, el pH, la presencia de metales (Cu y Fe) y el oxígeno disuelto, siendo más importante durante la vinificación en vino blanco que en vino tinto (Whitaker y Lee, 1995). Los principales sustratos para la enzima polifenol oxidasa son los ácidos caftárico y cutárico, a partir de los cuales se generan orto-quinonas que son altamente reactivas capaces de oxidar otros compuestos del mosto.

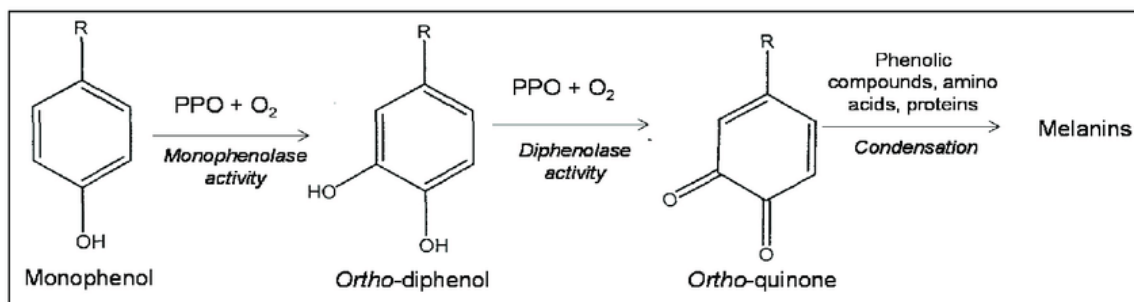


Figura 3.5. Esquema simplificado del proceso de pardeamiento enzimático catalizado por la PPO (Fuente: Taranto et al., 2017).

Otras enzimas endógenas, como las peroxidasa y lacasa, provocan la oxidación de los antocianos con la consecuente decoloración, y su presencia suele deteriorar la calidad del vino.

De las enzimas exógenas las β -glicosidasas son las que mayor importancia tienen en el sector enológico. Éstas pueden ser liberadas por algunas cepas de levaduras *Saccharomyces* y no-*Saccharomyces* durante la elaboración para liberar moléculas volátiles de sus precursores glucosídicos o pueden estar presentes como actividades secundarias en preparados comerciales (Cheynier et al., 2003). Asimismo, tienen la capacidad de romper el enlace glicosídico de algunos flavonoles y antocianinas, liberando las correspondientes formas agliconas más inestables y fácilmente degradables (Somers y Ziemelis, 1985; Monagas y Bartolomé, 2009). Este mecanismo se puede potenciar con la presencia de las acetil-esterasas (Cheynier et al., 2003). Por otro lado, las β -glicosidasas actúan sobre los ésteres de los ácidos hidroxicinámicos, favoreciendo la aparición de sus ácidos libres (Wightman et al., 1997) y por tanto la actividad de la enzima polifenol oxidasa (Gunata et al., 1987).

3.5. REACCIONES QUÍMICAS DE LOS COMPUESTOS FENÓLICOS.

Durante la vinificación, almacenamiento y envejecimiento del vino se producen reacciones químicas entre los componentes del vino, especialmente entre antocianos y taninos, debido principalmente a mecanismos de adición nucleofílica, reacciones electrostáticas y acoplamiento de radicales, que conducen, por un lado, a la estabilización del color y, por otro lado, a la modificación del cuerpo y astringencia del vino.

3.5.1. REACCIONES DE CONDENSACIÓN DIRECTA TANINO-ANTOCIANO.

Los taninos, en medio ácido, dan lugar a carbocationes que reaccionan con los antocianos, con la posición C6 o C8, dando lugar a moléculas incoloras que podrían ser deshidratadas a la forma flavilio de color rojo (Haslam, 1980; Monagas et al., 2005). La temperatura y la ausencia de O₂, favorece dicha reacción, lo que puede explicar la evolución de los vinos tintos embotellados. Asimismo, estos carbocationes (T⁺) pueden reaccionar con otros flavanoles generando proantocianidinas (condensación directa tanino/tanino).

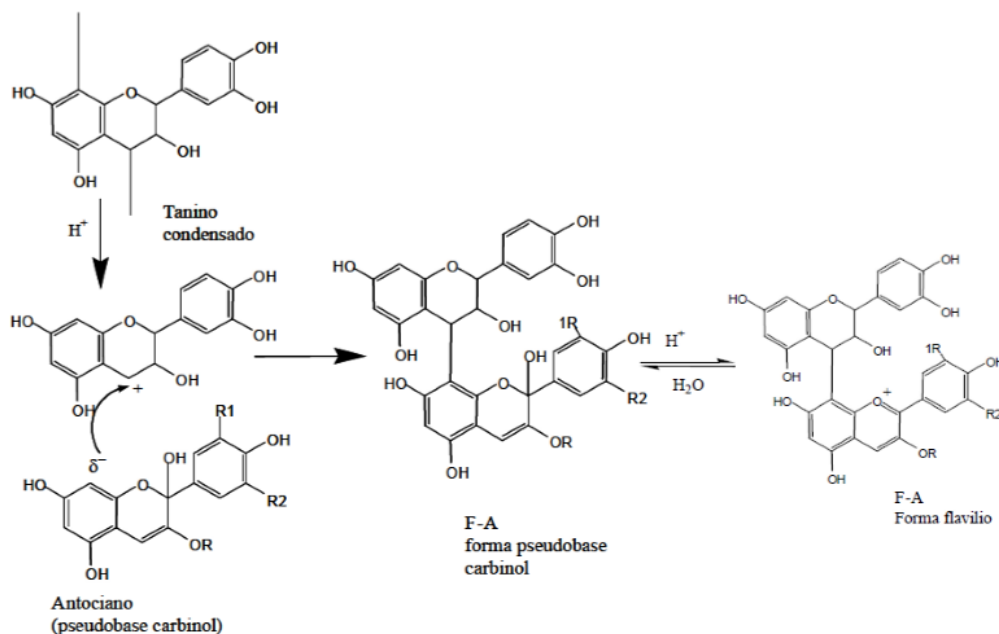


Figura 3.6. Mecanismo de condensación directa entre Tanino/Antociano (Fuente: Cheynier et al., 2003).

Los compuestos de condensación T-A⁺ muestran un espectro de absorción, con una longitud de onda máxima en la región del visible que se desplaza hacia longitudes de onda más grandes o de menor energía que con respecto a los antocianos originales (Fossen et al., 2004; González-Paramás et al., 2006), lo que les confiere un tono más azulado. Estas reacciones no afectan a las posiciones activas C2 o C4 del antociano, por lo que las nuevas moléculas (T-A⁺) no se encuentran más protegidos frente al ataque del sulfuroso y de la hidratación (Salas et al., 2004).

3.5.2. REACCIONES DE CONDENSACIÓN DIRECTA ANTOCIANO-TANINO.

Los antocianos (catión flavilio) reaccionan con las posiciones negativas C6 o C8 de los taninos, formando una molécula incolora, que, posteriormente, en presencia del O₂ se puede colorear de rojo (Santos-Buelga et al., 1995), estableciéndose un estado de equilibrio entre ambas formas (Figura 3.7).

Asimismo, el flaveno incoloro, formado por la reacción de los antocianos con las posiciones negativas C6 o C8 de los taninos, puede oxidarse a su catión flavilio y, por último, deshidratarse para formar moléculas de color amarillo (forma xantilio) (Jurd y

Somers, 1970; Somers, 1971; Santos-Buelga et al., 1999) o generar una molécula incolora de forma bicíclica (Bishop y Nagel, 1984).

El color de estos compuestos es parecido al de los antocianos originales (García-Puente et al., 2006). Los compuestos de condensación A⁺-T serán más resistentes a la decoloración por el SO₂ que los compuestos de condensación T-A⁺ que están expuestos

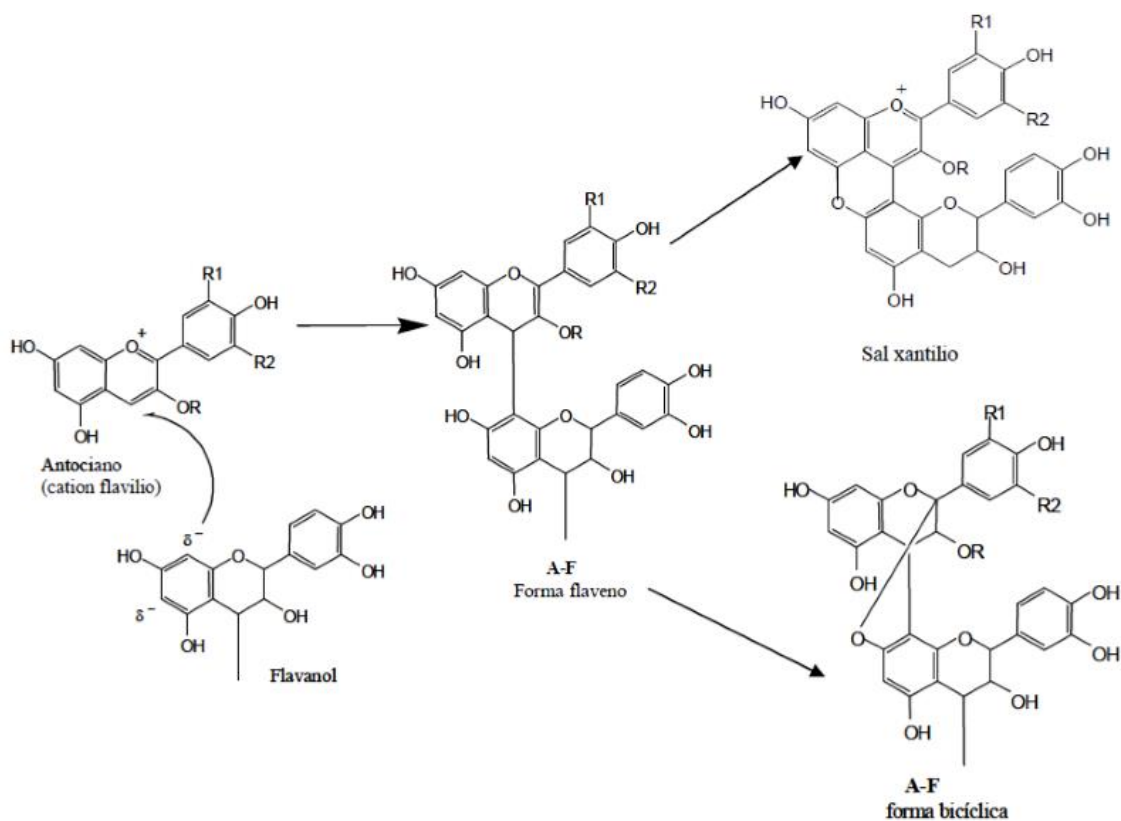


Figura 3.7. Mecanismo de condensación directa Antociano/Tanino (Fuente: Cheynier et al., 2003).

3.5.3. REACCIONES DE CONDENSACIÓN MEDIADA POR ACETALDEHÍDO ENTRE ANTOCIANOS Y TANINOS.

Los antocianos y los taninos pueden unirse por mediación del acetaldehído. Timberlake y Bridle (1976) propusieron que el mecanismo de condensación, consiste en la reacción del acetaldehído, en forma de carbocatión, con la posición C6 o C8 del anillo A del tanino. Según, Es-Safi et al. (1999) los antocianos sólo parecen estar ligados a través de su posición C8. Tanto los antocianos como los taninos pueden unirse, entre si, por medio de una reacción en la que interviene el acetaldehído, dando lugar a moléculas unidas por puente de etilo, incluyendo (T-etil-T), aductos de taninos y antocianos (T-etil-A) y antocianos entre sí (A-etil-A) (Cheynier et al., 2003). El acetaldehído puede estar presente en el vino por diferentes motivos como, por ejemplo, debido a la oxidación del etanol, al metabolismo de las levaduras durante la vinificación, a las bacterias acéticas y a la autooxidación de compuestos fenólicos (Wildenradt y Singleton, 1974; Romano et al., 1994; Liu y Pilone, 2000).

La condensación entre taninos produce formas incoloras, inestables y que intervienen en otras reacciones (Saucier et al., 1997; Escribano-Bailón et al., 1996; Fulcrand et al., 2006). En el caso de la reacción entre antocianidinas, se producen

pigmentos con un espectro de absorción cuya longitud de onda máxima en el visible se encuentra desplazada batocrómicamente, lo que les confiere un tono más azulado. Estas nuevas moléculas son más estables al pH y a la decoloración por SO₂ que los antocianos originales, no siendo muy estables en medio acuoso. Según, Escribano-Bailón et al. (2001) se produce una ruptura del puente de etilo entre el antociano y el tanino, en medio acuoso, lo que da lugar a compuestos con nuevas estructuras.

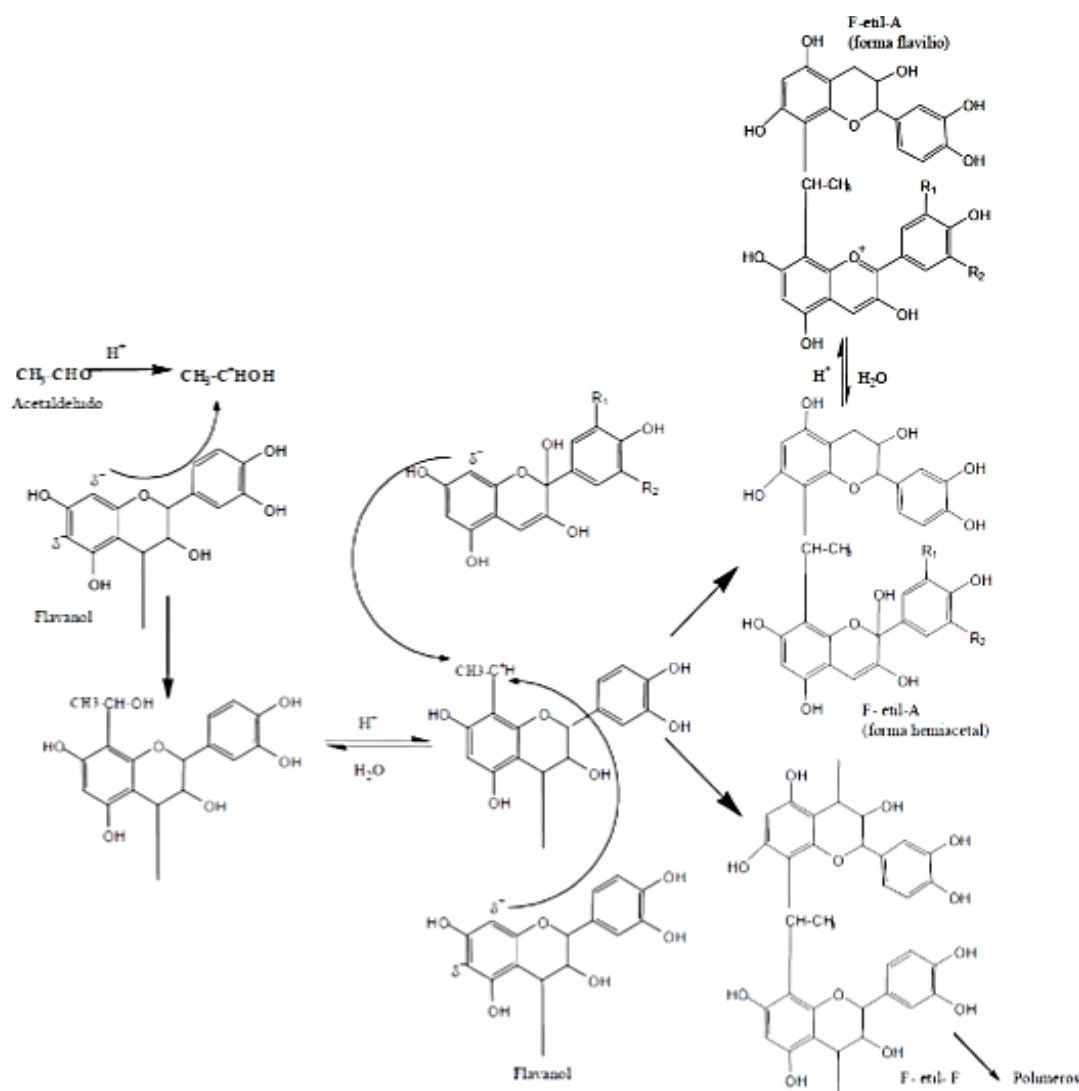


Figura 3.8. Mecanismo de reacciones mediadas por el acetaldehído (Fuente: Cheynier et al., 2003).

3.5.4. REACCIONES DE CONDENSACIÓN MEDIADA POR ÁCIDO GLIOXÍLICO ENTRE TANINOS.

Según algunos estudios, donde se inducía la oxidación de la catequina mediante la incorporación de hierro, en disoluciones de vino sintético, resultaba un dímero incoloro de la condensación entre catequinas y el ácido glioxílico formado por la oxidación del ácido tartárico (Fulcrand et al., 1997). El compuesto formado actúa como intermediario en la formación de pigmentos (forma xantilio) de tonalidad amarillenta que ya se habían detectado en disoluciones de xanteno en vinos modelo (Santos-Buelga et al., 1995).

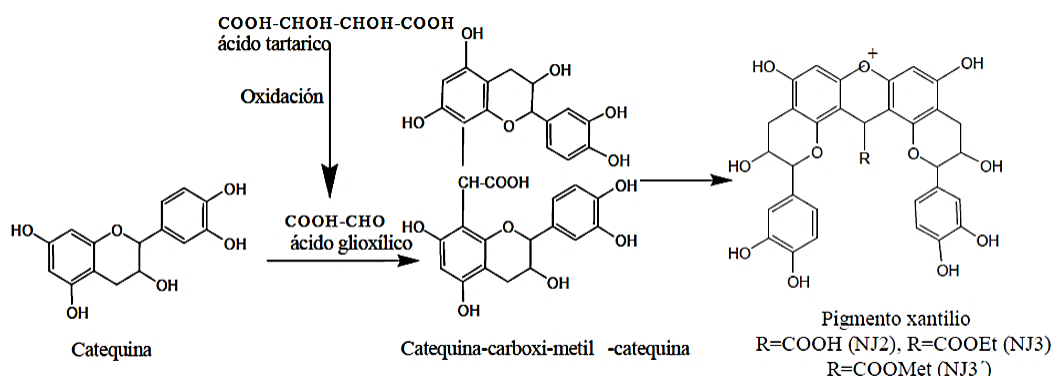


Figura 3.9. Mecanismo de reacciones de los taninos con el ácido gioxílico (Fuente: Cheynier et al., 2003).

3.5.5. REACCIONES DE POLIMERIZACIÓN DE TANINOS.

Los taninos tienen tendencia a polimerizar provocando un aumento de la astringencia (Cheynier et al, 2003), una disminución del amargor (Arnold y Noble, 1979) y un incremento de la tonalidad amarilla (Ribéreau-Gayón et al., 2000). Dicha reacción se basa en la propiedad de los taninos de poder formar un carbocatión (T⁺) en medio ácido. Los taninos se hidrolizan formando un catión (T⁺), a temperaturas elevadas y en ausencia de O₂, reaccionando con la carga negativa de otros taninos. Cuando el grado de polimerización es elevado, las moléculas formadas precipitan y la astringencia disminuye (Rivas-Gonzalo et al., 1995). Los taninos también pueden reaccionar con proteínas, péptidos y polisacáridos. El mecanismo consiste en la formación de agregados mediante uniones de Van de Waals, interacciones hidrófobas, puentes de hidrógeno y/o uniones iónicas, que dan lugar a partículas cada vez más grandes que terminan precipitando (Saucier et al., 1997).

3.5.6. FORMACIÓN DE NUEVOS PIGMENTOS: PIRANOANTOCIANINAS.

Cameira-dos-Santos et al. (1996) descubrieron pigmentos con una nueva molécula de pirano en su estructura molecular formada por la cicloadición entre el C4 y el hidroxilo del C5, al analizar una serie de sustancias que se habían quedado retenidas al filtrar vinos tintos envejecidos.

La primera estructura que se identificó procedía de la reacción de la malvidina-3-glucósido con el ácido pirúvico, formando el compuesto llamado Vitisina A (Bakker y Timberlake, 1997; Alcalde-Eon et al., 2006). Otro compuesto de características similares es el producto de la reacción de la malvidina-3-glucósido y el acetaldehído, formando el compuesto denominado Vitisina B (Bakker y Timberlake, 1997). Este pigmento tiene la estructura más simple de los piranoantocianos. Otros estudios descubrieron que este mecanismo también ocurre con otros componentes presentes en el vino como puede ser el ácido α -cetoglutámico, diacetilo, acetona, etc. (Fulcrand et al., 1997; Schwarz et al., 2003; He et al., 2006; Alcalde-Eon et al., 2006).

Estos nuevos pigmentos tienen el espectro desplazado hipsocrómicamente y parecido al espectro de las antocianinas sustituidas en posición C4, con respecto al antociano original, lo que le confiere un tono más anaranjado, una mayor resistencia a la

hidratación y a la decoloración del SO₂ y, por lo tanto, mayor estabilidad del color frente a cambios en el pH en comparación con los antocianos originales (Sarni-Manchado et al., 1996; Bakker y Timberlake, 1997; Mateus et al., 2006).

Asimismo, se ha encontrado en vinos la presencia del vinilflavanol-piranoantociano, compuestos formado por la reacción entre antocianinas y flavanoles o vinilflavanoles. Los vinilflavanoles se obtienen o por la deshidratación del aducto inicial flavanol/etanol formado tras la reacción entre un flavanol y el acetaldehído o por la ruptura de oligómeros de flavanol unidos por puentes de etilo (Atanasova et al., 2002; Mateus et al., 2003; Monagas y Bartolomé, 2009; Alcalde-Eon et al., 2006).

Por último, se ha descubierto otro tipo de piranoantociano que tiene una característica diferente con respecto a los demás piranoantocianos, ya que presenta un color azulado en condiciones acidas. Se denominan portisinas o flavanilvinilpiranoantocianinas y se han observado por primera vez en vinos de Oporto envejecidos (Francia-Aricha et al., 1997; Mateus et al., 2003). Según Mateus et al. (2004) el mecanismo de formación de piranoantocianos podría deberse de la unión entre una carboxi-piranoantocianina y un vinilflavanol a través de un puente de vinilo. Además, este mecanismo podría extrapolarse para la formación de otros nuevos pigmentos, como podría ser la fenil-vinilpiranoantocianinas, producto formado en vinos tintos por la reacción entre una carboxi-piranoantocianina y un vinilfenol (Mateus et al., 2006).

3.5.7. ESTABILIDAD DEL COLOR MEDIANTE REACCIONES DE COPIGMENTACIÓN.

La copigmentación es un fenómeno debido a las asociaciones moleculares entre compuestos rojos de la uva (antocianos) y otras moléculas, normalmente no coloreadas. Las reacciones de copigmentación desempeñan un papel importante en la estabilidad del color de los vinos tintos (Markovic et al., 2005a, 2005b; Heras-Roger et al., 2016). La copigmentación consiste en la formación de un complejo con estequiometría 1:1, formando complejos del tipo π - π , mantenidos por enlaces débiles y de baja energía, como podrían ser las fuerzas de Van der Waals o interacciones hidrofóbicas. Según Boulton (2001), estos complejos, en su parte externa se disponen las moléculas de azúcar, entre las cuales se establecen uniones por puente de hidrógeno.

En vinos jóvenes la copigmentación suele tener un efecto más marcado, influyendo sobre las reacciones de oxidación, condensación o polimerización, entre los compuestos fenólicos, ya que disminuye la reactividad que se producen durante el envejecimiento de los vinos (Brouillard y Dangles, 1994; Hermosín et al., 2005). Por otro lado, las reacciones de copigmentación de los antocianos pueden ser una primera fase en la formación de pigmentos poliméricos estables, llamados cofactores o copigmentos (Baranac et al., 1997; Gordillo et al., 2015). Según se ha descrito en diversos artículos, para mantener las moléculas de agua alejadas del cromóforo del catión flavilio del antociano la mejor estructura es del tipo “sándwich” evitando la hidratación nucleofílica y la formación de bases carbinol incoloras al desplazar el equilibrio hacia las formas coloreadas (Brouillard et al., 2003; Gómez-Míguez et al., 2006b). Existen diferentes formas de copigmentación, pudiendo destacar las producidas por copigmentación intermolecular entre antocianos y entre antocianos y copigmentos (flavanoles, flavonoles, aminoácidos, ácidos orgánicos, metales, etc.) y por copigmentación intramolecular, que consiste en que una parte de la molécula del antociano reacciona con la estructura plana del ion flavilio (Asen et al., 1972; Dangles et al., 1993; Fernández et al., 2006).

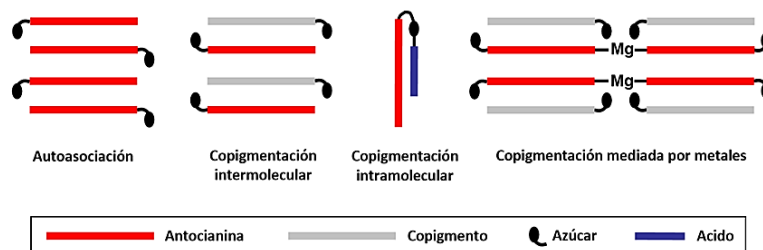


Figura 3.10. Esquemas de las variantes del fenómeno de copigmentación (Fuente: Casassa, 2007).

Como resultado de la copigmentación, los vinos normalmente muestran un efecto batocrómico, desplazando la longitud de onda máxima en el espectro visible hacia longitudes de onda mayores o un efecto hipsocrómico, desplazando hacia longitudes menores, acompañado de un incremento de absorbancia (efecto hiperocrómico), que forman estructuras de apilamiento vertical, que protegen a los antocianos de la hidratación, desplazando el equilibrio hacia las formas coloreadas (ion flavilio) (Dangles et al., 1993; Santos-Buelga et al., 1995; Boulton, 2001; Markovic et al., 2005a, 2005b; García-Marino et al., 2013; Fan et al., 2019; Zhao et al., 2020; Gordillo et al., 2021). Un efecto hiperocrómico, es un incremento de la intensidad del color rojo, un efecto batocrómico, es un viraje hacia tonalidades más azuladas del color y un efecto hipsocrómico, es un viraje hacia tonalidades más amarillas (Brouillard, 1982; Boulton, 2001; Schwarz et al., 2005).

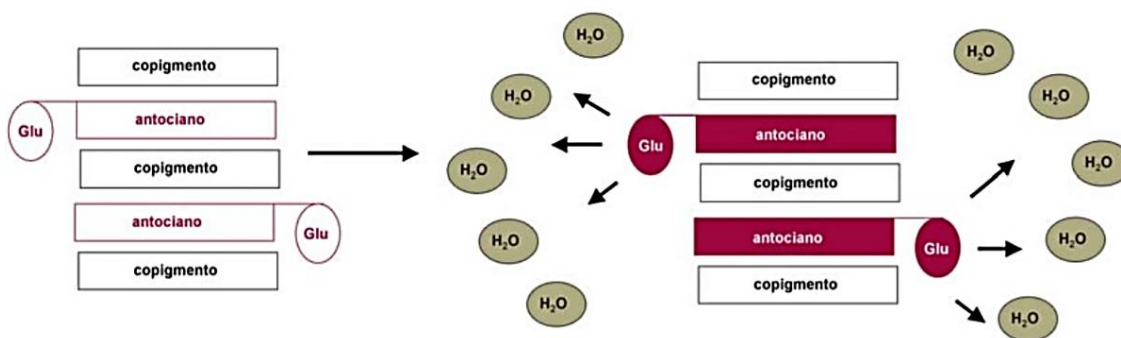


Figura 3.11. Esquema de copigmentación de antocianos.

El grado de copigmentación depende de muchos de factores tales como el pH, el contenido de etanol, la temperatura, la relación molar pigmento/copigmento y la naturaleza del cromóforo y del copigmento (Boulton, 2001).

Copigmentación intermolecular.

La copigmentación intermolecular consiste en asociaciones que tienen lugar entre moléculas de antocianos y entre antocianos y otros compuestos (flavanoles, flavonoles, aminoácidos, ácidos orgánicos, metales, etc.) dando lugar a asociaciones heteromoleculares, siendo la típica copigmentación.

En la mayoría de los casos la copigmentación conduce a la estabilización de las formas catión flavilio (A^+) y la base quinona (AO). El grado de metoxilación y glicosilación del antociano afecta a la intensidad del efecto de la copigmentación. Por lo tanto, los antocianos monómeros, especialmente la malvidina presenta un efecto de copigmentación más marcado al compararlo con otros antocianos (Mazza y Brouillard, 1990; Davies y Mazza, 1993; Eiro y Heinonen, 2002; Zhao et al, 2020). El grado de hidroxilación también afecta a la copigmentación, aumentando a medida que aumenta dicho grado.

Los tipos de sustituyentes presentes y las diferencias estructuras químicas de los copigmentos afectan a las distancias entre pigmento y copigmento y por lo tanto al fenómeno de la copigmentación. Teixeira et al. (2013) observaron que las distancias entre el pigmento y los copigmentos (epigallocatequina (EGC) y oenin-(o)-catequina) eran más cortas en comparación con la epicatequina y la catequina. Descubrieron que la oenin-(o)-catequina tiene una superficie plana muy grande que favorece las interacciones por fuerzas de Van der Waals con los pigmentos, favoreciendo la copigmentación. Asimismo, destacaron que el núcleo de benzopirilinio de la EGC se coloca estratégicamente en el medio de la estructura estableciendo una cara más accesible favoreciendo un contacto más cercano con todos los planos del pigmento, logrando una mejor unión entre la EGC y el pigmento.

Otros estudios, determinan que algunas antocianinas con un grupo orto-difenilo unido a su anillo aromático (cianidina, delphinidina y petunidina) pueden quelar algunos cationes metálicos como Al^{+3} , Fe^{+3} , Cu^{+2} y Mg^{+2} , induciendo un viraje hacia tonalidades más azuladas del color rojo del vino tinto (Esparza et al., 2005).

El fenómeno de autoasociación consiste en la formación de complejos entre antocianos sin la intervención de los copigmentos. Se observó por primera vez la existencia de fenómenos de autoasociación entre moléculas de antocianos trabajando con soluciones de cianidina-3,5-diglucósido, en ausencia de copigmentos, demostrando que el color de los antocianos no solo era dependiente del pH del medio, sino de la propia concentración del pigmento, atribuyendo este efecto a la autoasociación (Asen et al., 1972). Estudios posteriores (Hoshino, 1991 y 1992) concluyeron que tanto la base quinoidal como el catión flavilio podían formar complejos entre la parte cromófora de la molécula y la parte glucosídica. Esta estructura evitaba la hidratación y la consecuente pérdida de color del anillo pirilo. González-Manzano et al. (2006) observaron como la autoasociación aportaba una mayor resistencia, en soluciones modelo utilizando diferentes antocianos (malvidina-3-glucósido, delphinidina-3-glucósido y peonidina-3-glucósido), frente a la hidratación, produciéndose un incremento de la intensidad del color junto con un oscurecimiento de las mismas.

Copigmentación intramolecular.

La copigmentación intramolecular consiste en la reacción de una parte de la molécula del antociano con la estructura plana del ion flavilio, por lo que cuanto más grande sea el sustituyente mayor efecto batocrómico se observará.

En medios ácidos algunos antocianos tienen las posiciones C3' y C7 sustituidas por grupos que favorecen una fuerte interacción π - π con el cromóforo central. Se forma la estructura tipo "sándwich", en la que el grupo del C3' se encuentra plegado sobre el grupo del C7, y en medio de ellos se encuentra el cromóforo. Figueiredo et al. (1999) destacaron que esa estructura tipo "sándwich" permite una mayor protección frente a la

hidratación que cuando los grupos están en la posición C3 y C5, ya que el ácido se dobla sobre el cromóforo, protegiendo las posiciones C2 y C4 de la hidratación.

Como incrementar la copigmentación en los vinos tintos.

Para potenciar el efecto de la copigmentación, es necesario que en los vinos haya una mayor concentración de copigmentos y pigmentos, así como que la ratio copigmento/pigmento sea elevada. Para poder incrementar el efecto se pueden realizar estrategias en el ámbito de la viticultura (Álvarez et al., 2009; Aleixandre-Tudó et al., 2013) y en el ámbito enológico. Numerosos autores han estudiado la cofermentación de diferentes tipos de uva y la adición prefermentativa de copigmentos (Mirabel et al., 1999; Rustioni et al., 2012; Gombau et al., 2016; Vallazo-Valleumbrocio et al., 2017; Zhang et al., 2018). La suplementación prefermentativa de copigmentos, combinada con la maceración prefermentativa en frío, mostró un efecto sinérgico sobre los procesos de copigmentación y la estabilidad del color, habiéndose demostrado que la concentración de pigmentos antocianicos y de sus copigmentos puede tener tanta influencia en el color de los vinos como las técnicas de vinificación empleadas (Schwarz et al., 2005; Lizama et al., 2007; Álvarez et al., 2009).

La fermentación con diferentes tipos de uvas a la vez trataría de compensar la falta de pigmentos y copigmentos en uvas con déficit de dichos compuestos. Una técnica que podría ser interesante sería la fermentación de uvas tintas con los hollejos de uvas blancas, ricos en flavonoles. Por otro lado, la adición de copigmentos puros permite obtener vinos tintos con mayor intensidad de color, estando sus antocianos monómeros más protegidos frente al envejecimiento (Schwarz et al., 2005). También podría ser de interés la utilización de extractos vegetales procedentes de la propia uva (hollejos) o de otras fuentes naturales.

En el ámbito de la viticultura la concentración de los pigmentos y copigmentos, y, por lo tanto, su ratio, depende de las condiciones edafo-climáticas, de las prácticas culturales, de la variedad, etc. Según estudio recientes se ha demostrado que diferentes aplicaciones foliares de bioestimulantes pueden modificar la concentración de estos compuestos en la uva y el vino. Los elicitores son moléculas capaces de estimular los mecanismos de defensa de las plantas que incluyen la activación de vías biosintéticas secundarias, como la que conduce a la formación de compuestos fenólicos. El estudio de Portu et al. (2016) demostraron que la biosíntesis fenólica puede inducirse en respuesta de diferentes elicitores bióticos y abióticos. Los resultados mostraron que los tratamientos foliares llevados a cabo con jasmonato de metilo y extracto de levadura lograron los mejores resultados, aumentando el contenido de antocianinas en el vino. Asimismo, la aplicación de quitosano no tuvo un impacto sustancial en los compuestos fenólicos. Los resultados obtenidos indican que las aplicaciones de elicitores podrían ser una práctica simple para aumentar el contenido fenólico de la uva y del vino. Gil-Muñoz et al. (2017) observaron que los resultados de la aplicación foliar con elicitores podía variar debido a factores medioambientales, como la radiación ultravioleta y la temperatura, y debido a las características físicas del viñedo, como la altitud, la sensibilidad al calor, el tipo de suelo y las prácticas culturales. Otros estudios han demostrado que la aplicación foliar de extracto de roble, que contiene precursores aromáticos (eugenol, guayacol y whiskylactona), pueden ser asimilados por la uva y posteriormente aparecer en sus vinos, afectando su aroma (Pardo-García et al., 2014b). A falta de más estudios sobre la aplicación foliar de elicitores, se puede concluir que dicha aplicación puede tener un

efecto positivo en la composición de la uva y el vino favoreciendo especialmente el fenómeno de la copigmentación.

Mirabel et al. (1999) indicaron que algunos cofactores (rutina, quercetina y proantocianidinas) eran buenos copigmentos y otros cofactores ((-) epicatequina y (+) catequina) eran malos copigmentos. La adición prefermentativa de copigmentos puros (ácido cafeico, rutina, catequina, tanino de hollejo y de pepitas de uva) incrementaba las reacciones de copigmentación y producían vinos con mayor intensidad de color y mayor concentración de antocianinas a lo largo del tiempo (Álvarez et al., 2009). Otros autores han observado que los flavonoles procedentes de extractos de hollejo y pulpa parecían ser mejores copigmentos que los flavonoles derivados de extractos de pepitas (Rustioni et al., 2012).

Gombau et al. (2016) observaron que en los ensayos de aplicación de diferentes taninos enológicos a un vino modelo los resultados confirman que todos los taninos enológicos originan un aumento del color y del tono, siendo la (-) epicatequina la que tuvo un mayor efecto de mejora en el color. Estos resultados pueden concluir que la suplementación con taninos enológicos puede mejorar el color de los vinos tintos debido a su efecto como copigmento, aunque se necesitan más estudios para determinar el efecto a largo plazo de la administración de suplementos de taninos enológicos con condiciones reales del vino.

Otros autores como Vallazo-Valleumbrocio et al. (2017) han estudiado la evolución del vino con la adición de taninos enológicos durante 3 meses, observando una disminución de los fenoles, los taninos, las antocianinas, la capacidad antioxidante, la intensidad colorante y el grado de polimerización de los taninos. Solo el tono incremento progresivamente, probablemente por el incremento del componente amarillo del vino. Los vinos no adicionados con taninos presentaron a los 3 meses una disminución del contenido en fenoles y antocianinas entre el 7 y 15% mientras los vinos adicionados la disminución fue de entre el 14 y 17,5%, debido a que la elevada concentración de tanino en el vino provocó precipitaciones.

Otros estudios han comparado la adición de copigmentos puros y la adición de extractos vegetales en la etapa prefermentativa. Bimpilas et al. (2016) observaron que la adición de extracto vegetal de romero proporcionó un mayor incremento de la intensidad colorante y del tono de los vinos, con respecto a los vinos tratados con el ácido rosmanirico puro, debido principalmente, a que el extracto vegetal tiene una composición más compleja (flavonoides y ácidos hidroxicinámicos) que favorece y aumenta el fenómeno de la copigmentación.

3.6. FACTORES QUE AFECTAN A LA ESTABILIDAD DEL COLOR.

El color de los antocianos depende del medio en el que se encuentran, estando estos equilibrios regulados, principalmente, por el pH, la temperatura y el SO₂. Además, cabe destacar que existen otros factores, que pueden afectar a la estabilidad del color: la estructura molecular del pigmento y copigmento, la concentración de compuestos fenólicos, el disolvente y la presencia de sales.

Influencia del pH y la temperatura.

Los antocianos, a pH muy ácido, se encuentran principalmente en forma de catión flavilio (A⁺), que presenta color rojo. Dicho color se debe a la deslocalización de la carga

positiva del flavilio. Asimismo, cuando el pH aumenta, el catión flavilio se transforma en la forma carbinol que es incolora (AOH) y en la base quinona (AO) de color violáceo (Brouillard et al., 1991; Zamora, 2013). La formación del carbinol implica que una molécula de agua entre en la estructura, que se libere un protón y que se produzca el ataque nucleófilo del hidroxilo del agua en las posiciones C2 o C4, que neutraliza la carga y provoca la pérdida del color rojo. No obstante, la pérdida de color se debe a la hidratación del catión flavilio (A⁺). Las calconas *cis* y *trans* que se obtienen por la transformación de la forma carbinol (AOH) presentan un ligero color amarillo (Brouillard, 1982; Zamora, 2013). Dicha reacción se ve favorecida por temperaturas elevadas (Furtado et al., 1993), de manera que la calcona *trans* puede oxidarse y dar lugar a ácidos fenólicos (Brouillard, 1982).

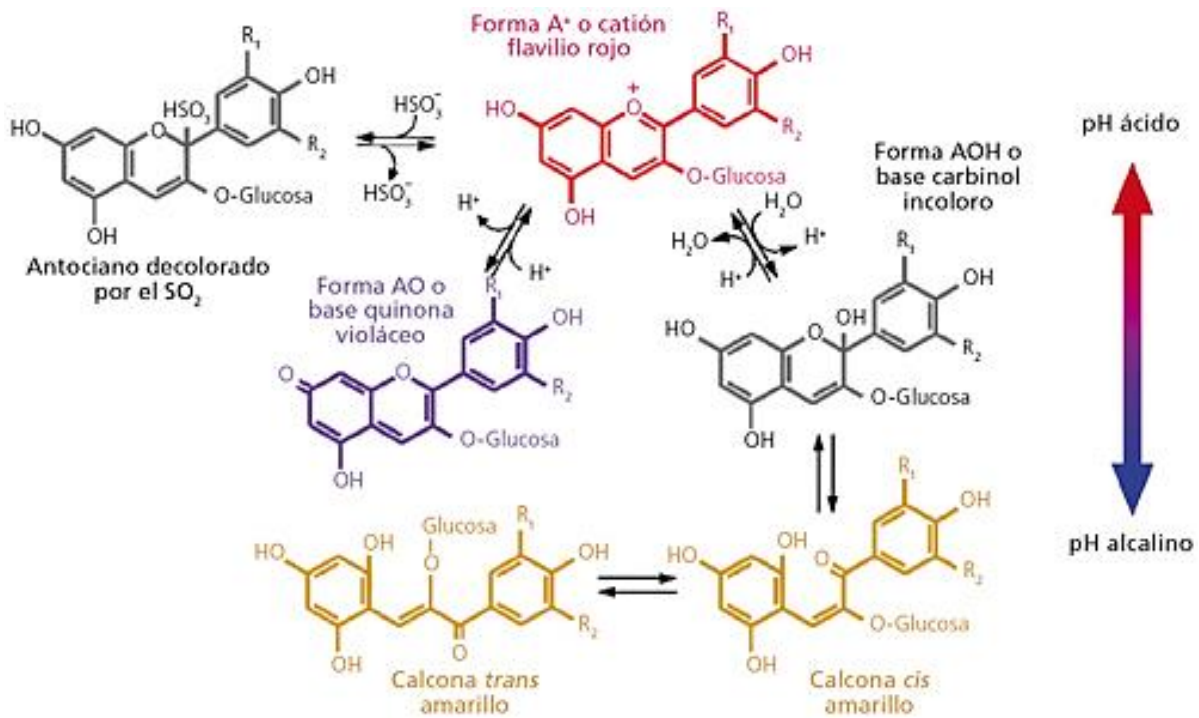


Figura 3.12. Equilibrio de los antocianos en función del pH (Fuente: Zamora, 2013).

Todas estas reacciones involucradas en el equilibrio son reversibles, excepto la reacción de oxidación que provoca la pérdida irreversible del color del vino (King et al., 1980). Por un lado, cuando la temperatura aumenta se ve favorecida la formación de las calconas y su posterior oxidación. Los complejos formados son menos estables, y se encuentran en menor proporción (Wilska-Jeska y Korzuchowska, 1996), ya que el aumento de temperatura da lugar a una rotura de la estructura tetraédrica del agua que disminuye los enlaces de hidrógeno, haciendo que el fenómeno de la estabilización del color es menos eficiente (Brouillard y Dangles, 1994).

La degradación térmica de los antocianos se ve afectado por el pH, siendo más significativo a valores de pH más altos (Havlikova et al., 1983). Según Glories (1984), a un pH de 3,5 solo entre el 20 y el 30% de los antocianos son coloreados, ya que el resto son incoloros. Asimismo, según los, el vino tinto a su pH habitual (3-4), debería tener muy poco color y ser rojo/violáceo. La realidad nos muestra que no es así y ello es debido a que el color del vino tinto está fuertemente influenciado por la copigmentación (Boulton, 2001). Por otro lado, los antocianos pueden reaccionar con otras moléculas y originar nuevos pigmentos (Francia-Aricha et al., 1997; He et al., 2012b).

Influencia de la concentración de sulfuroso.

El SO₂ tiene, entre otras propiedades, la capacidad de degradar las estructuras celulares del hollejo facilitando la extracción de los antocianos (Mazza, 1995). Cabe destacar también sus propiedades antioxidante y antiséptica. Estas funciones son más importantes en vinos procedentes de uvas con mala calidad sanitaria, ya que, además de permitir una mayor solubilización de los compuestos fenólicos, el sulfuroso molecular evita la oxidación debida a la enzima lacasa presente en este tipo de uvas.

En el rango de pH de los vinos, el sulfuroso se encuentra en una gran concentración en forma de bisulfito (HSO₃⁻) y en menor medida en forma de sulfito (SO₃⁻²). Ninguna de estas dos formas posee las propiedades antioxidante y antiséptica del sulfuroso. El SO₂ molecular, es la forma que posee las propiedades antioxidante y antiséptica, también se encuentra en bajas concentraciones. Cuanto menor sea el pH del vino, mayor será la concentración de la forma activa, es decir, la molecular.

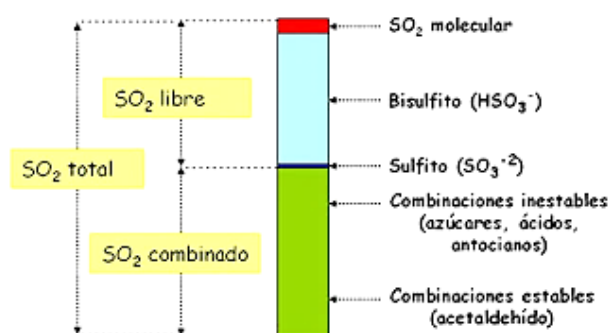


Figura 3.13. Las diferentes formas del SO₂ en el vino (Fuente: Zamora, 2005).

El vino suele tener habitualmente un pH de entre 3 y 4. La mayor parte del anhídrido sulfuroso libre se encuentra bajo la forma de anión bisulfito (HSO₃⁻) que puede unirse a las posiciones C2 o C4 del catión flavilio (A⁺), originando un pigmento incoloro y estable al pH. Esta reacción provoca la decoloración del antociano, pero por otro lado le aporta cierta estabilidad, ya que éste es menos sensible a la hidratación y polimerización, al tener las posiciones reactivas C2 o C4 ocupadas (Somers, 1971; Glories, 1984). Esta reacción puede ser reversible, pero depende de diferentes factores como, la naturaleza del antociano, el pH y de la concentración de O₂ disuelto.

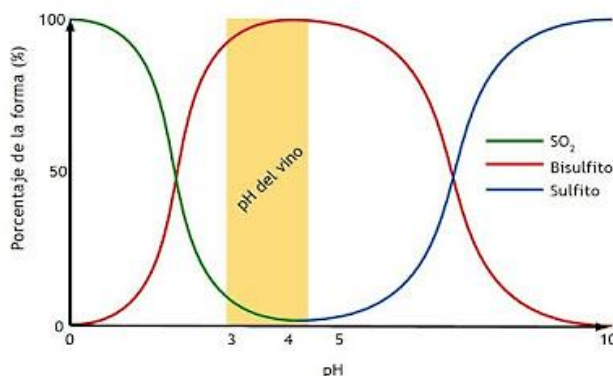


Figura 3.14. Porcentaje de las distintas formas de sulfuroso según el pH del vino (Fuente: Zamora, 2005).

Desde el punto de vista del color de los antocianos, cabe destacar que la presencia de las formas libres del sulfuroso, reduce la velocidad de degradación de los antocianos, pero, por otro lado, también reduce la formación de pigmentos condensados formados por la reacción con el acetaldehído, ya que esta parte del sulfuroso evita a oxidación del etanol, y además reduce las pérdidas de color por precipitación durante la vinificación. Por un lado, un menor contenido de bisulfito en el vino hace aumentar el grado de polimerización de antocianos, pero, por otro lado, provoca un envejecimiento temprano del color (Hebrero et al., 1988).

Influencia de la estructura molecular de pigmento y copigmento.

Desde el punto de vista de la estructura, los copigmentos más eficientes son aquellos que contiene núcleos aromáticos de conformación planar, de esa forma se puede acercar y apilar con los antocianos (Dangles y Brouillard, 1992). Los flavonoles tienen un núcleo aromático planar, siendo muy buenos copigmentos. Sin embargo, los taninos, en general, no presentan una estructura planar, por lo que, desde el punto de vista estructural, no son buenos candidatos para la copigmentación. Cabe destacar que la epicatequina es mejor copigmento que la catequina, debido a su conformación del anillo B, lo que le permite ser aproximadamente coplanar.

Los compuestos fenólicos poseen sistemas π -conjugados que facilitan su combinación con antocianinas a través de interacciones de apilamiento π - π (Kanha et al., 2019). Entre los copigmentos no flavonoides, los ácidos hidroxicinámicos presentan mejor carácter copigmentante, debido a que constituyen los principales grupos acilo en la estructura de antocianinas aciladas. Entre ellos cabe destacar el ácido cafeico, que esterifica la molécula de 3-glucósido de malvidol y 3-glucósido de peonidol, en posición C6. El ácido cafeico se forma por la hidrólisis del ácido caftarico, inducido por la exposición a la luz del sol de las uvas. Su aptitud como copigmento ha sido estudiada en numerosos trabajos, tanto en medios sintéticos (Castelluccio et al., 1995; Markovic y Tosovic, 2000; Markovic et al., 2003a, 2003b; Marinova y Yanishlieva, 2003; Sroka y Cisowski, 2003; Gómez-Miguez et al., 2006b; Gris et al., 2007; Teixeira et al., 2013) como adicionado en la vinificación (Darias-Martin et al., 2001 y 2002; Bloomfield et al., 2003; Álvarez et al., 2009; Aleixandre-Tudó et al., 2013; Lambert et al., 2013; Zhang et al., 2020). Estos estudios muestran un gran efecto copigmentante cuando el ácido cafeico interactúa con las antocianinas tanto en medio sintético como en el vino.

Desde el punto de vista de la fuerza iónica, la presencia en la estructura de los taninos de un grupo hidroxilo más en el anillo B aumenta el potencial de copigmentación. Además, la presencia de un grupo hidroxilo adicional en el anillo B parece ser más eficiente que la presencia de otros grupos y la proximidad entre las estructuras planas del pigmento y del copigmento (Teixeira et al., 2013), siendo más estables cuanto más próximos se encuentren.

Influencia de otros factores.

Según diversos autores, la concentración mínima de antocianos a partir del cual se puede observar el efecto de la copigmentación, que es de $3,5E10^{-5}$ M. No obstante, aún no se ha descubierto la concentración óptima de los copigmentos para que interactúen con el antociano, pero si se ha observado que la reacción aumenta cuanto mayor es la concentración de copigmentos (Asen et al., 1972; Scheffeldt y Hrazdina, 1978).

La suplementación prefermentativa de copigmentos afecta a la estabilidad polifenólica de los vinos podría ser más efectiva si estos interaccionasen con los antocianos durante el proceso de maduración de la uva (Brouillard et al., 1991; Dangles y Brouillard, 1992; Darías-Martin et al., 2002; Markovic et al., 2003a; Schwarz et al., 2005; Álvarez et al., 2009). Estudios recientes han demostrado que la aplicación foliar de elicitores bióticos y abióticos pueden modificar la composición de la uva. Diversos extractos vegetales pueden contribuir a incrementar la concentración de polifenoles (Parrado et al., 2007, Álvarez et al., 2009; Capone et al., 2012, Álvarez et al., 2015; Bimpilas et al., 2016), y extractos procedentes de madera de roble, de algas, de madera de sarmiento, de metil jasmonato, de quitosano y de levaduras han demostrado su eficacia en el incremento de la concentración de aminoácidos en el mosto (Gutiérrez-Gamboa et al., 2019a y 2019b), en la estabilidad polifenólica (Martínez-Gil et al., 2013; Pardo-García et al., 2014a; Song et al., 2015; Portu et al., 2018a y 2018b) y de compuestos volátiles en los vinos (Martínez-Gil et al., 2011, 2012; Pardo-García et al., 2014b; Portu et al., 2016, 2017; Sánchez-Gómez et al., 2016).

Por otro lado, para que se produzca la reacción química entre los compuestos fenólicos, éstos necesitan un medio altamente organizado. La cohesión que presenta la red tetraédrica de moléculas de agua unidas por enlaces de hidrógeno, que presenta el medio acuoso, favorece directamente la interacción entre pigmento y copigmento. Durante la vinificación el medio va cambiando, apareciendo otro disolvente, como el etanol, que produce la ruptura parcial de la estructura tetraédrica de la matriz agua, disminuyendo la reactividad de los compuestos fenólicos (Mazza y Brouillard, 1990; Brouillard et al., 1991), lo que conlleva a una disminución del color de los vinos tintos, como consecuencia del cambio de polaridad del medio (Morata et al., 2016).

Y, por último, la adición de sales iónicas (Na^+ , K^+ , Cl^- , et.) a una disolución con antocianos, aumenta el color debido a la unión del anión y el catión flavilio (A^+), lo que provoca que el equilibrio se desplace hacia la base quinona, produciendo un efecto hiperocrómico proporcional a la concentración de las sales (Figueiredo, et al., 1996).

3.7. INFLUENCIA DE LA VINIFICACIÓN EN LA COMPOSICIÓN FENÓLICA DE LOS VINOS

La extracción y la difusión de los compuestos fenólicos de la uva se produce durante la vinificación, generando un medio complejo que varía a lo largo del tiempo, debido a las reacciones de copigmentación, polimerización, condensación, precipitación y oxidación de los compuestos extraídos, continuando durante la crianza y el almacenamiento del vino (Cheynier et al., 1997).

Las técnicas enológicas ejercen una gran influencia en la extracción de los compuestos fenólicos de las uvas, pudiendo afectar a la composición y concentración de éstos en el vino. Hay más factores que influyen en la composición de los vinos como son la variedad de la uva, su estado de madurez, el tiempo, la temperatura de maceración y fermentación, y de la frecuencia de las prácticas enológicas utilizadas (remontado, délestage, enzimado, etc.) (Zoecklein, et al., 2003; Sacchi et al., 2005; Razungles, 2006; Kelebec et al., 2007). Según Zamora (2003), la superposición de la maceración y la fermentación condiciona la velocidad de extracción de los compuestos responsables de las características organolépticas del vino tinto.

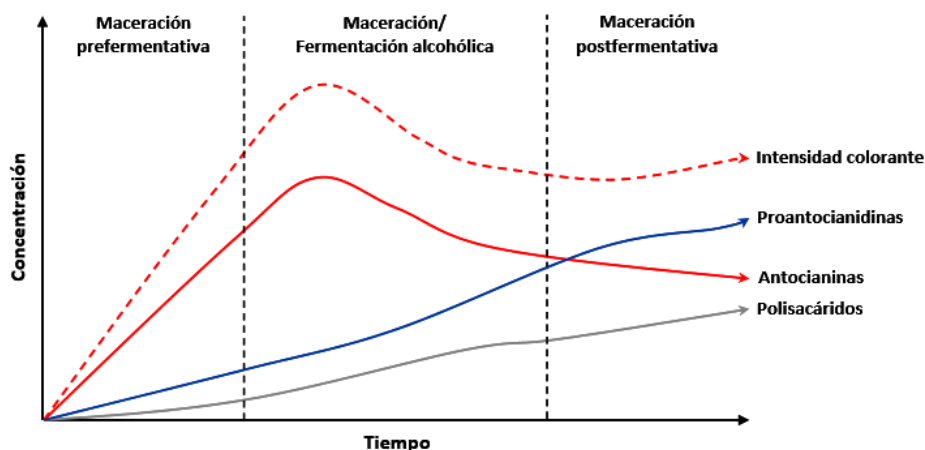


Figura 3.15. Cinética de extracción de los compuestos fenólicos durante la maceración/fermentación alcohólica (Fuente: Ribéreau-Gayón et al., 2000).

La maceración es un proceso físico-químico que se caracteriza por la extracción fraccionada de los compuestos fenólicos de la uva, seguido de la disolución de los mismos en el complejo mosto/vino (Peynaud, 1984).

En la vinificación en tinto, la maceración tiene un gran efecto en la proporción relativa de antocianos y taninos que pasan de la uva al vino (Fulcrand et al., 2006), extrayéndose primero los antocianos, y a medida que aumenta el contenido alcohólico, los taninos.

La maceración se puede dividir en tres etapas. La primera etapa o maceración prefermentativa, consiste en el período previo al comienzo de la fermentación alcohólica. Normalmente, tiene lugar a bajas temperaturas y en ausencia de alcohol (Zamora, 2003; Delteil, 2004). Su duración depende de la temperatura empleada, de la concentración de SO₂ (Bakker et al., 1998) y de la fase de latencia de las levaduras implicadas.

Etapas	Prefermentaria				Fermentaria				Post fermentaria		
	T°	Rem (1)	O ₂	SO ₂	ol (2)	Rem	T°	O ₂	Rem	T°	Duración
Precursores aromaticos	X	X									
Antocianinas	X	X		X		X	X				
Taninos del hollejo	X	X		X	X	X	X				X
Taninos de semilla					X	X	X		X	X	X
Polisac (3)						X	X		X	X	X
Polimer (4)			X					X		X	X

(1) Remontajes (2) Alcohol (3) Polisacáridos (4) Polimerización

Figura 3.16. Momentos de extracción durante la maceración y los factores que inciden (Adaptado del Conseil Interprofessionnel du Vin de Bordeaux, 1998).

La segunda etapa, denominada maceración fermentativa, ocurre a medida que avanza la fermentación alcohólica y su duración depende principalmente de la temperatura, de la composición del mosto, de la cepa de levadura y de la concentración de O₂ disuelto. Por último, la tercera etapa, denominada maceración postfermentativa, arranca una vez terminada la fermentación alcohólica, en condiciones de disminución de temperatura, y su duración depende generalmente de decisiones técnicas, de acuerdo a las características del vino que se quiere obtener (Sacchi et al., 2005).

La aplicación de maceraciones prefermentativas a baja temperatura aumenta la concentración de precursores aromáticos, antocianos y taninos de hollejos, mientras que a medida que aumentamos el tiempo de maceración postfermentativa los vinos que obtenemos tienen mayores concentraciones de taninos de pepita y de polisacáridos, y menos concentración de antocianos. Si tenemos en cuenta el tiempo de maceración, para la obtención de vinos jóvenes puede ser conveniente emplear maceraciones cortas que aporten suficiente color y poco tanino, y para obtener vinos de guarda sería conveniente maceraciones largas y así obtener la estructura necesaria y poder garantizar la estabilidad del color a la larga del tiempo (Zamora, 2003).

La extracción de taninos de hollejo, aunque se desarrolla más lentamente, se inicia conjuntamente con la extracción de los antocianos. La cinética de solubilidad se ve favorecida por la temperatura y el etanol (Sacchi et al., 2005; Canals et al., 2005). En el caso de la extracción de los taninos de pepita, es necesario una maceración más larga para su extracción, debido a la necesidad de la desnaturalización de la pared celular de las pepitas (Glories y Saucier, 2000).

La extracción de los antocianos durante la maceración ocurre rápidamente, obteniéndose durante los primeros días de fermentación la máxima concentración de las formas monoméricas. Una vez alcanzada la máxima concentración, se observa un descenso hasta del sesenta por ciento, debido a fenómenos de precipitación, adsorción sobre las paredes celulares de las levaduras y sólidos presentes, oxidación y modificaciones estructurales (Zamora, 2003; Teixeira et al., 2013). Asimismo, los antocianos pueden reaccionar con los flavanoles, el ácido pirúvico y el acetaldehído, disminuyendo su degradación y por consiguiente aumentando la estabilidad del color del vino, debido a un aumento de la copigmentación (Monagas y Bartolomé, 2009). Por otro lado, el aumento del contenido de etanol y de ácido acético reduce la copigmentación, debido a su porte disolvente, conduciendo a una disminución y una menor estabilidad del color (Heras-Roger et al., 2016).

3.8. LA MACERACIÓN PREFERMENTATIVA EN FRÍO

La maceración es un proceso físico-químico muy complejo en el cual el mosto y las partes sólidas (hollejos y pepitas) entran en contacto, durante un tiempo determinado, extrayendo principalmente antocianos, taninos, polisacáridos, minerales, sustancias aromáticas, nitrogenadas... (Ribéreau-Gayón, 1988).

La maceración se puede controlar a partir de múltiples variables, como pueden ser la temperatura (Reynolds et al., 2001), el tiempo de encubado (Vila, et al., 2005), el uso de maceradores (Del Monte et al., 2003), el número, intensidad y automatización de los remontados (Sudraud, 1983) y la aplicación de diversas técnicas de maceración: maceración sulfítica (Olivieri y Salgues, 1981), maceración carbónica (Flanzy et al., 2012; García-Huidobro, 2012), maceración prefermentativa en frío (Flanzy, 1999; Zamora, 2004; Álvarez et al., 2006; Aleixandre-Tudó et al., 2016), maceración

prefermentativa en caliente (Lukic et al., 2017) y maceración postfermentativa en caliente (Gervaux, 1993).

La maceración prefermentativa en frío, que sustituyó a la maceración sulfítica, puede considerarse originaria de California. Esta técnica, que se practicaba antiguamente en Borgoña, alarga la maceración prefermentativa, cuyo propósito es lograr un mayor contacto entre el mosto y las partes solidas de la uva, retrasando la formación del sombrero en vinificaciones en tinto, para incrementar la extracción de compuestos fenólicos durante la fase acuosa. De este modo, se favorece la extracción de antocianos y taninos de bajo peso molecular que son fácilmente solubles en ausencia de etanol, favoreciéndose al mismo tiempo, las reacciones entre ellos y dando lugar a una mayor estabilidad del color a lo largo del tiempo (González-Neves et al., 2015 y 2016).

La maceración prefermentativa en frío permite obtener vinos más coloreados y aromáticos, para lo cual las levaduras no deben comenzar la fermentación alcohólica. Se caracteriza por necesitar un período de contacto entre el mosto y las partes sólidas de la uva de entre 7 a 10 días y mantener una temperatura entre 4°C y 10°C con el fin de favorecer la difusión de ciertos compuestos hidrosolubles de la uva en ausencia de alcohol (Llaudy et al., 2005). Para que la maceración prefermentativa en frío tenga el resultado esperado, es necesario que la uva tenga un estado sanitario óptimo junto con una buena madurez polifenólica y tecnológica y además que tenga un gran potencial aromático (Llaudy et al., 2005).

Según diversos estudios, esta técnica, ha sido utilizada para aumentar la concentración de compuestos volátiles en el mosto (Okubo et al., 2003; Zamora, 2004). Otros investigadores sostienen que, cuando se vinifica uva tinta, puede ser una alternativa interesante para aumentar y mejorar la extracción de antocianos provocando una mayor copigmentación. Por otro lado, esta técnica, facilita las reacciones de polimerización y de condensación de los taninos, que, a su vez, dan volumen y redondez al vino (Reynols et al., 2001; Gómez-Miguez et al., 2006a; Álvarez et al., 2004 y 2005; González-Neves et al., 2015, 2016). Según Bayonove (2003), la extracción de los terpenos está más ligada a la formación de los primeros grados alcohólicos que a la duración de la maceración.

En la elaboración de vinos blancos, el protocolo de actuación está perfectamente establecido (Parenti et al., 2004; Esti y Tamborra, 2006). Asimismo, la maceración prefermentativa en frío en la elaboración de vinos rosados ha sido ampliamente utilizada. No obstante, en este caso, la duración y la temperatura de la maceración prefermentativa, es de vital importancia, para extraer la concentración de antocianos deseada (Garijo-Alonso, 2001; Parenti et al., 2004).

En los últimos años la utilización de la maceración prefermentativa en frío se ha presentado como una alternativa interesante en la vinificación de vino tinto, convirtiéndose en el foco de atención de muchos investigadores. A pesar de ello, se han observado resultados contradictorios en los diferentes estudios realizados. Reynols et al. (2001) observaron que la maceración prefermentativa en frío sólo asociada con la fermentación a baja temperatura (15-20°C) aumentaba la extracción de antocianos en vinos de Syrah. Soto-Vázquez et al. (2010) vieron que favorecía la extracción de antocianos y las reacciones de copigmentación, permitiendo una mayor estabilidad del color, aunque, por otro lado, también vieron una disminución de los taninos, no alcanzándose la concentración mínima establecida por Zamora (2004), de 2 g/L, como valor límite para destinar los vinos al proceso de crianza. Favre et al. (2013) observaron que los vinos de la variedad Tannat obtenidos con maceración prefermentativa en frío tuvieron menor intensidad y calidad de color que los vinos elaborados con maceración

tradicional (MT). Contrariamente a lo buscado con los MPF, los vinos obtenidos mostraron concentraciones superiores en taninos y fenoles totales. La MT permitió obtener los vinos con mayor contenido de antocianos e intensidad y calidad de color. Lukic et al. (2017) señalaron que la maceración prefermentativa en frío acompañada con la fermentación a baja temperatura (23°C) disminuía significativamente el contenido de taninos de pepitas y el contenido de terpenos, pero aumentaba significativamente el contenido de alcohol, de ésteres y de acetaldehído en el vino.

Por otro lado, numerosos estudios han mostrado el efecto positivo de esta técnica. Se ha comprobado experimentalmente que la maceración prefermentativa en frío favorece la extracción de compuestos fenólicos, siendo la maceración prefermentativa con nieve carbónica la técnica que mayor extracción de compuestos del hollejo ocasiona, debido a la ruptura de la membrana celular (Flanzy, 1999; Zamora, 2004; Álvarez et al., 2005, 2006; Aleixandre-Tudó et al., 2016).

Sacchi et al. (2005) señalaron que la maceración prefermentativa con nieve carbónica junto con la adición de sulfurosa inducía a una mayor extracción de antocianos en los vinos de Merlot. Álvarez et al. (2006) destacan un aumento significativo de antocianos, taninos, acetatos, y ésteres etílicos en vinos de Monastrell obtenidos mediante maceración prefermentativa en frío, pero en este caso, el resultado fue mejor con nieve carbónica. Según algunos investigadores, la maceración prefermentativa en frío, es una técnica que produce un efecto limitado sobre la composición fenólica de los vinos, con la consiguiente reducción del potencial para su envejecimiento. La criomaceración antes de la fermentación alcohólica proporciona un mayor efecto sobre la extracción de estos compuestos, debido a que los líquidos intracelulares se congelan, ocasionando una ruptura de las membranas que permite una mayor disolución de dichos compuestos. Por su parte, Ortega-Heras et al. (2012) observaron un mayor contenido de compuestos fenólicos en los vinos macerados prefermentativamente con nieve carbónica, lo que favorece la copigmentación aumentando la estabilidad y la intensidad del color de los vinos. Aleixandre-Tudó et al. (2016) observaron que la maceración prefermentativa con aplicación de nieve carbónica provocaba un aumento significativo de antocianinas, flavan-3-oles y compuestos volátiles en vinos de Tempranillo.

Asimismo, encontramos investigaciones (Gómez-Mínguez et al., 2006a) cuyo objetivo ha sido el estudio de la evaluación de la extracción durante la maceración prefermentativa en frío, en vinos elaborados con la variedad Syrah. Los resultados muestran que los cambios más significativos se produjeron durante los dos primeros días y no se observó una disminución en la extracción de antocianos, siendo los derivados de malvidina los compuestos más abundantes. Con respecto al color, la maceración prefermentativa en frío ha demostrado ser una técnica útil para obtener vinos con un color más oscuro, saturado y azulado.

Otros investigadores han estudiado el impacto de la maceración prefermentativa en frío en vinos de Tempranillo, observando un incremento de la concentración de antocianos y taninos y aquellos que participaban en la estabilización de los antocianos mediante las reacciones de copigmentación, así como un viraje a tonalidades violáceas (Gordillo et al., 2010). Por otra parte, González-Neves et al. (2015 y 2016) estudiaron el perfil fenólico de vinos elaborados a partir de uva tinta Tannat, Syrah y Merlot, sometidas a la aplicación de frío antes de la fermentación, observándose una mayor extracción de antocianos y de taninos, particularmente de catequinas. Por ello, esta técnica puede mejorar la intensidad y la estabilidad del color, a lo largo del tiempo, ya que podría promover las reacciones de polimerización de antocianos.

Recientemente, Casassa et al. (2019) han investigado sobre la maceración prefermentativa en frío en vinos de Pinot Noir observando que los obtenidos con MPF tienen menor concentración de antocianos y de pigmentos polimerizados, mientras que tienen una mayor concentración de taninos y un perfil aromático más complejo que los obtenidos con maceración tradicional. Asimismo, han observado la relación existente entre el grado de maduración de la uva y los compuestos extraídos. Cuando la uva no se encuentra en el grado de madurez óptimo, los resultados muestran una mayor extracción de notas herbáceas y taninos de pepita, lo que se traduce en un aumento de astringencia y amargor.

Otros estudios que observaron la influencia de dicha técnica en vinos de Merlot mostraron una mayor intensidad colorante, una mayor polimerización de antocianos y taninos y un perfil aromático más complejo, con notas frutales muy marcadas (Casassa et al., 2007). Además, se ha demostrado que las técnicas de vinificación influyen en la composición aromática de los vinos, ya que la maceración prefermentativa puede incrementar el contenido en ésteres y acetatos (Álvarez et al., 2005; Selli et al., 2006; De Santis y Frangipane, 2010), debido a una mayor extracción de precursores en la fase prefermentativa, pero también debido a la técnica de maceración en frío, que posibilita el desarrollo de levaduras criófilas que liberan ciertos aromas, especialmente ésteres volátiles (acetato 2-feniletilo, notas rosadas), lo que supone una de las ventajas de esta técnica (Charpentier y Feuillat, 1998; Cai et al., 2014; Casassa y Sari 2015). Asimismo, se ha publicado en otros estudios que la fermentación a baja temperatura puede comenzar debido a levaduras autóctonas no-*Saccharomyces* (*Torulaspora delbrueckii*), que generan aromas varietales mientras que disminuyen las notas herbáceas (González-Neves et al., 2015). También Mihnea et al. (2015) observaron la concentración de algunos alcoholes más elevada en vinos obtenidos por maceración prefermentativa en frío.

3.9. EFECTO DE LA MICROOXIGENACIÓN EN LA ESTABILIDAD POLIFENÓLICA DE LOS VINOS

El proceso de microoxigenación (MOX) consiste en la adición controlada y continuada de pequeñas cantidades de oxígeno al vino mediante dosificadores porosos (Moutounet et al., 1995). Desde que surgió esta técnica, en la década de los años noventa en Marignan (Francia), numerosos estudios han puesto de manifiesto algunos de los beneficios de su aplicación. En 1991 se realizaron los primeros ensayos con vinos sometidos a microoxigenación observándose que evolucionaban mejor, conservando el color y el aroma afrutado, y aumentando la concentración de taninos condensados (Lemaire, 1995). Esta técnica trata de expresar y mantener cualidades positivas del vino y, asimismo, alargar su periodo de vida. La velocidad de aporte de oxígeno al vino debe ser inferior a la velocidad de su consumo, de forma que no se produzca la acumulación de oxígeno disuelto que pueda provocar efectos negativos.

La dosificación de oxígeno debe adecuarse a las características iniciales del vino, teniendo en cuenta la concentración inicial de taninos y antocianos y las características finales del vino que se desea. Para conseguir los efectos positivos de la MOX hay que tener en cuenta que la técnica no se puede aplicar a cualquier vino, por lo que se deben cumplir unos requisitos mínimos, relacionados con la concentración de compuestos fenólicos:

- Un IPT (Índice de Polifenoles Totales) superior a 30.
- Se aconseja que la relación antociano/tanino, sea de 1 a 4.
- Se recomienda una IC (intensidad de color) entre 8 y 16.

- Es indispensable que proceda de uva sana.

3.9.1. EFECTOS POSITIVOS DE LA MICROOXIGENACIÓN SOBRE LA CALIDAD DEL VINO.

Entre los principales efectos positivos de la microoxigenación sobre la calidad final del vino (Gómez-Plaza y Cano-López, 2011) cabe destacar:

- Mejora del color en vinos tintos. Mejora en la estabilización del color por formación de pigmentos poliméricos entre antocianos y taninos al contacto del oxígeno.
- Mejora del sabor y estructura del vino. Principalmente, los flavanoles son los responsables de la astringencia y complejidad del vino tinto. Son moléculas muy reactivas al oxígeno y con una exposición controlada se puede mejorar las características del vino.
- Mejora del aroma y reducción de compuestos aromáticos indeseables. la MOX incrementa las notas afrutadas y disminuye las vegetales. Asimismo, el oxígeno puede, durante la fermentación, controlar el impacto de los compuestos azufrados e impedir los olores conocidos como de reducción.

Estos efectos beneficiosos se han atribuido principalmente al efecto positivo del oxígeno sobre el metabolismo de las levaduras, ya que el estrés oxidativo es considerado una causa fundamental en la mortalidad de las levaduras durante el proceso de fermentación alcohólica. Una adecuada adición de oxígeno puede conferir a las levaduras una mayor tolerancia al etanol y mayor actividad fermentativa, pudiendo de esta forma, reducir la formación de ciertos compuestos indeseables, como son los compuestos azufrados. Por otro lado, en diversos estudios se ha observado que esta técnica ayuda a la estabilización del color en vinos tintos debido a la formación de pigmentos poliméricos (Pérez-Magariño et al., 2007; Laurie et al., 2014).

Durante la microoxigenación se pueden observar dos etapas distintas en relación con la evolución físico-química del vino. En la primera etapa, también llamada fase de estructuración, los aromas fermentativos, varietales y la complejidad del vino se reducen. Por otro lado, la estructura tánica aumenta y la materia colorante se estabiliza, dando vinos más equilibrados y con más cuerpo. La segunda fase o fase de armonización, se caracteriza por el redondeo de los taninos, dando lugar a vinos más suave y armonioso. Por otro lado, los aromas varietales y la complejidad de vino aumentan (Lemaire, 1995; Roig y Yêrle, 2003). Los cambios producidos en esta etapa son reversibles. Cabe destacar, que cuanto mayor sea la etapa de estructuración más necesaria y de más tiempo se requerirá de la etapa de armonización.

3.9.2. LA ADICIÓN DE OXÍGENO EN EL VINO.

El objetivo fundamental de la aplicación de oxígeno es la de estabilizar y estructurar el color del vino. La formación de etanal juega un papel muy importante, ya que éste participa en las reacciones de condensación entre taninos y antocianos, dando lugar a nuevos pigmentos, aumentando de esa forma la intensidad colorante, y estabilizando el color del vino. Asimismo, esta técnica favorece la polimerización cruzada de taninos, lo que hace disminuir la astringencia de los vinos. Diversos estudios parecen

demostrar que las estructuras resultantes en presencia de oxígeno no son tan reactivos frente a las proteínas como las uniones directas, siendo menos astringentes (Tanaka et al., 1994). Parpinello et al. (2011) demostraron que la Microoxigenación mejoró la intensidad y complejidad aromática, la astringencia y el cuerpo de un vino de Cabernet Sauvignon.

La cantidad de oxígeno disuelto siempre tiene que ser menor que la cantidad que se consume, ya que un exceso puede producir reacciones de oxidación no deseadas y favorecer además la proliferación de bacterias acéticas. Asimismo, un exceso de oxígeno disuelto puede favorecer la aparición de 4-etilfenol y de 4-etilguayacol, compuestos que aportan aromas a caballeriza, cuero, sudor de caballo, que no son deseables en el vino (Du Toit et al., 2005).

Para una correcta microoxigenación es necesario conocer los factores que influyen en la disolución y consumo del oxígeno en el vino. Se pueden destacar los siguientes:

- El grado alcohólico: A medida que aumenta el grado disminuye ligeramente la solubilidad del oxígeno. Cuando la concentración de etanol es elevada aumenta la solubilidad.
- La temperatura: La temperatura influye decisivamente en la solubilidad de los gases en líquidos. La solubilidad del oxígeno disminuye a medida que la temperatura aumenta. La temperatura óptima de MOX, oscila entre 14 y 18°C (Lemaire, 1995; Roig y Yêrle, 2003; Gómez-Plaza y Cano-López, 2011). La solubilidad del oxígeno en el vino, a temperatura ambiente y presión atmosférica oscila entre 6 y 8,4 mg/l (Moutounet, 2003). También destaca que la temperatura influye en gran medida a la velocidad de consumo de oxígeno, en los vinos tintos ronda los 800 mg/l, mientras que en los blancos es de 80 mg/l.
- El anhídrido carbónico: La solubilidad del oxígeno se ralentiza en presencia de anhídrido carbónico en cantidad superior a 100 ml/L.
- El dióxido de azufre: Los efectos de la microoxigenación, en presencia de una alta concentración de SO₂, tardan más tiempo en producirse y con mayor dificultad, ya que, el dióxido de azufre es un antioxidante e interfiere en muchas reacciones de oxidación. La microoxigenación requiere bajas concentraciones de SO₂ para ser eficaz (Gómez-Plaza y Cano-López, 2011).
- La Superficie de contacto gas/líquido: Según Moutounet y Vidal (2006) a mayor superficie de contacto entre el oxígeno y el vino, mayor será la cantidad de oxígeno disuelto.
- La turbidez: Las lías presentes en el vino consumen mucho oxígeno. Para evitar el consumo incontrolado por parte de las lías, que impedirían obtener los resultados esperados, es fundamental que la MOX se lleve a cabo cuando la turbidez de los vinos sea inferior a 100 NTU.

3.9.3. MOMENTOS DE APLICACIÓN DE LA MICROOXIGENACIÓN.

Los momentos de aplicación de la microoxigenación pueden ser diversos. Puede llevarse a cabo durante el proceso de elaboración o incluso durante la fase de envejecimiento del vino. Se puede adicionar durante el encubado, durante la fermentación alcohólica, antes de la fermentación maloláctica y durante la etapa de envejecimiento de los vinos, buscando diferentes objetivos según el momento de aplicación.

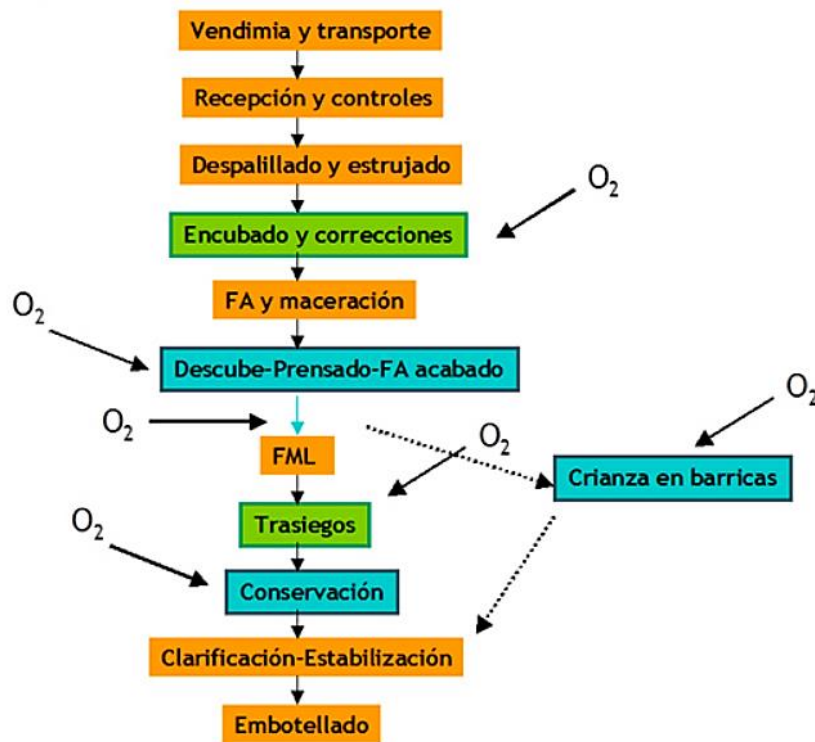


Figura 3.17. Momentos de aplicación de oxígeno durante la vinificación de vino tinto (Fuente: Gómez-Plaza, 2016).

Es esencial en la fermentación alcohólica, debido a que las levaduras sin oxígeno no proliferan y las reacciones que se dan son lentas. Tras la fermentación alcohólica (FA), y antes de la fermentación maloláctica (FML), el oxígeno interviene en multitud de procesos bioquímicos, ya que al finalizar la FA la concentración de antocianos totales libres y taninos es mayor, por lo tanto, la microoxigenación favorece las reacciones entre los antocianos y las reacciones tanino-antociano, limitando la polimerización de taninos (Atanasova et al., 2002; Cano-López et al., 2013). La MOX en esta fase es importante porque a la vez que le confiere al vino una mayor resistencia a la oxidación, estabiliza el color, favoreciendo la posterior crianza oxidativa de los vinos en barricas. La cantidad de O_2 que se adiciona en este momento puede variar entre 10-50 ml/L/mes y el tiempo de aplicación se puede prolongar durante un mes.

El oxígeno participa de manera directa en el metabolismo del ácido cítrico durante la fermentación maloláctica, favoreciendo la formación de diacetilo. El diacetilo es un compuesto aromático responsable de los aromas a mantequilla a baja concentración, dando una nota positiva pero en concentraciones elevadas puede ser responsable de un aroma a rancio. Por este motivo hay que controlar al mínimo la dosificación de oxígeno en esta etapa del proceso.

Durante el envejecimiento en barrica, donde se produce un fenómeno parecido a la microoxigenación, los poros de la madera permiten una entrada de oxígeno lenta pero continua al vino. Estas pequeñas dosis de oxígeno favorecen las reacciones de polimerización y condensación, de manera que se produce una estabilidad del color y una suavidad de la astringencia.

Al final del proceso de elaboración, durante el filtrado y el embotellado, se trabaja en atmósferas inertes de N₂ y/o CO₂, ya que durante estos procesos no es conveniente la presencia de oxígeno.

3.9.4. ESTUDIOS RECIENTES SOBRE LA APLICACIÓN DE LA MICROOXIGENACIÓN.

Actualmente, numerosos estudios se han llevado a cabo con el objetivo de poner en valor las propiedades de la microoxigenación, por otro lado, se han estudiado la aplicación de esta técnica en diferentes vinos, para poder optimizar el proceso y conocer mejor las variables que permitan mejorar las propiedades organolépticas de los vinos tratados.

El oxígeno disuelto en el vino provoca la oxidación de etanol en etanal, produciendo reacciones a través del acetaldehído entre antociano-tanino o tanino-tanino (Silva et al., 2005; Aleixandre-Tudó et al., 2009). Diferentes autores han demostrado que el acetaldehído participa en la formación de nuevos pigmentos como las vitisinas y otros piranoantocianos (Fulcrand et al., 1997; Mateus et al., 2002).

La presencia de sulfuroso en estado libre es uno de los factores más importantes en el proceso de la microoxigenación. El SO₂ es capaz de reaccionar con el etanal formando uniones estables y limitando la capacidad de éste en participar en las reacciones de estabilización del color. El efecto de la MOX en vinos de Merlot con diferentes dosis de sulfuroso, provocó una disminución en la concentración de antocianos monómeros y de taninos, siendo mayor cuanto menor era la dosis de sulfuroso adicionado, junto con un incremento del color de los vinos (Tao et al., 2007). Destacamos del estudio que a dosis elevadas (200 mg/L de SO₂) no se observan los cambios descritos.

Wirth et al. (2010) ensayaron la aplicación, en vinos de Garnacha, de la microoxigenación con diferentes dosis de O₂, almacenándose las botellas en atmósfera controlada. Durante el tiempo en botella se observó una menor concentración de ácidos hidroxycinámicos y piranoantocianos, independientemente de la dosis de O₂ aplicada. La concentración de antocianos poliméricos, especialmente aquellos resistentes al SO₂, y de flavanoles monómeros se ve incrementada a medida que disminuye la concentración de SO₂ y aumenta la dosis de oxígeno. La presencia de los piranoantocianos puede considerarse un indicador de oxidación, ya que la concentración de éstos aumenta con el nivel de la microoxigenación.

Aunque la microoxigenación puede ser aplicada en diferentes momentos de la elaboración, muchos autores destacan que la aplicación entre la FA y FML es la que mejores resultados proporciona. Rayne et al. (2011) estudiaron el color en vinos de Merlot y Cabernet Sauvignon microoxigenados durante 2 semanas, una vez finalizada la FML y después de una crianza en bodega de 6 meses. Los resultados mostraron un incremento en la intensidad colorante (IC) (35% y 7% respectivamente), un aumento del color debido a los antocianos resistentes al sulfuroso y un mejor envejecimiento del vino. El coeficiente de envejecimiento de un vino se define como el cociente entre los compuestos resistentes al sulfuroso y la concentración total de pigmentos. Asimismo, se observó que el tono de los vinos de Merlot disminuía en un 3% y en los vinos de Cabernet Sauvignon aumentaba en un 3%.

Otros autores estudiaron en vinos de Tempranillo la microoxigenación a razón de 10 ml de O₂/L de vino durante 20 días a 20°C entre la FA y la FML (Cejudo-Bastante et al., 2011a). En este estudio se observa una disminución de la concentración de las

antocianinas monoméricas, junto con una disminución de flavanoles, apoyando la hipótesis de que el oxígeno aplicado da lugar a la oxidación del etanol formando acetaldehído, que reacciona directamente con antocianos o median en las reacciones antociano/tanino. Asimismo, se observa que la calidad aromática mejora, incrementando la intensidad aromática, disminuyendo los aromas herbáceos y apareciendo nuevos aromas.

Con la intención de comprobar la duración del efecto de la microoxigenación, Geldenhuys et al. (2012) estudiaron la evolución del color y el perfil antociánico en vinos tintos de Pinotage microoxigenados (16 y 32 mg/L O₂), entre la FA y la FML, y después de la fermentación maloláctica. Observaron que la aplicación de la microoxigenación es beneficiosa en términos de aumento de la intensidad colorante, antocianinas libres, pigmentos poliméricos y fenoles poliméricos justo después de FML. Esta técnica puede utilizarse para aumentar y estabilizar el color del vino antes de la fermentación maloláctica, lo que conduce a un aumento de pigmentos y fenoles poliméricos incluso después de dos meses de envejecimiento. Sin embargo, la intensidad del color disminuye rápidamente después de los dos meses.

Muchos autores han indicado que la MOX es una técnica de vinificación que es utilizada con el objetivo de potenciar determinadas propiedades y características sensoriales del vino. Laurie et al. (2014) ensayaron la microoxigenación y la aireación discontinua en vinos tintos de Carménère. Observaron que el tratamiento de aireación provocó cambios positivos en el color, aumentando la formación de pigmentos poliméricos. Además, comprobaron que el tratamiento de aireación ha dado resultados equivalentes al tratamiento de MOX convencional, lo que sugiere que los tratamientos de aireación discontinuos bien manejados podría usarse como una alternativa a la microoxigenación. Asimismo, el tratamiento de MOX combinado con la adición de madera de roble dio como resultado un aumento de la concentración de ácido protocatéquico (antioxidante) y reducción de metoxipirazinas (aroma a pimienta verde), mejorando el perfil aromático de los vinos estudiados. Otros estudios (Chaves-Carvajal, 2015) demuestran que los vinos microoxigenados en comparación con el vino control presentan valores más altos de índice de polifenoles totales (IPT) e IC a lo largo del tiempo debido a la formación de pigmentos más estables, aunque durante el proceso de microoxigenación disminuyen. En la fase olfativa, el vino microoxigenado presenta un menor carácter herbáceo, por lo que el aroma de los vinos microoxigenados se afina y resulta algo más complejo. En la fase gustativa, los vinos tratados presentan más cuerpo, redondez y suavidad.

3.10. ESTRATEGIAS AGRONÓMICAS PARA MEJORAR LA CALIDAD DE LA UVA Y DEL VINO.

En los últimos años se viene observando un desequilibrio entre la madurez tecnológica, que es el momento en que la uva alcanza una composición físico-química adecuada para su vendimia, definida fundamentalmente por el contenido en azúcares, la acidez y el pH, y la madurez fenólica de la uva. Este hecho se debe a numerosos factores, entre los que destaca el cambio climático cuyos principales efectos son un aumento de la temperatura y una mayor sequía en verano (De Orduña, 2010; Lasanta et al., 2021). Cuanto mayor sea el estrés hídrico y mayor sea la temperatura los compuestos fenólicos se sintetizan en menor medida y se produce una mayor degradación, favoreciendo el desequilibrio entre la madurez tecnológica y la madurez fenólica, perjudicando el color de las uvas y de los vinos (De Orduña, 2010; Lasanta et al., 2021). Dentro de este

contexto, resulta interesante llevar a cabo estrategias que favorezcan la acumulación de compuestos fenólicos en la uva. La implantación de cubiertas vegetales (Guerra y Steenwerth, 2012), el deshojado precoz (Diago et al., 2012), el aclareo de racimos (Martínez-Gil et al., 2013), el manejo del riego y de la fertilización (Reynolds, 2022) son prácticas agronómicas que pueden mejorar la composición fenólica de la uva.

Una práctica que ha suscitado un gran interés en los últimos años ha sido la aplicación al viñedo de compuestos que aumentan la síntesis de compuestos fenólicos y aromáticos. Algunos de los productos ensayados son reguladores de crecimiento, como el etefón (Santamaría et al., 2017; López et al., 2021). El objetivo de estos estudios fue investigar si la aplicación foliar del regulador del crecimiento vegetal etefón podría retrasar la madurez tecnológica de la uva y aumentar el contenido fenólico de la uva, mejorando la calidad del vino. Los resultados mostraron que la acumulación de azúcar de uva se retrasó en una de las dos añadas, mientras que el tratamiento favoreció la acumulación de compuestos polifenólicos en ambas añadas. En conclusión, la aplicación de etefón en el inicio del envero a las vides de Tempranillo ayudó a unir la madurez fenólica y tecnológica de la uva, lo que condujo a vinos más equilibrados, ya sea retrasando la acumulación de azúcares o potenciando la síntesis de antocianinas y compuestos fenólicos. La aplicación de ácido abscísico (S-ABA) (Yamamoto et al., 2015), que es responsable de promover la síntesis de antocianinas, puede utilizarse para mejorar el color de los vinos tintos. Este estudio evaluó los cambios en la composición fenólica del mosto de uva Isabel producido a partir de uvas tratadas con S-ABA, durante dos campañas de vendimia consecutivas. La aplicación de S-ABA a las uvas aumentó el contenido de antocianinas totales. En conclusión, el estudio demuestra que el mosto de la uva tratada con S-ABA proporciona una mejora de la concentración total de antocianinas, principalmente cuando las uvas se tratan antes o al inicio del envero.

También podemos encontrar estudios sobre aplicación de moléculas que pueden activar los mecanismos de defensa de las plantas, también llamados elicitores (Ruiz-García y Gómez-Plaza, 2013) que han demostrado que el mecanismo involucrado en la respuesta de la planta tras el uso de los elicitores implican un aumento de la concentración de compuestos polifenólicos y volátiles. Otros estudios aplican bioestimulantes como jasmonato de metilo, derivados de levaduras, quitosano y compuestos nitrogenados (Portu et al., 2016, 2017, 2018a, 2018b). Los resultados mostraron que los tratamientos foliares realizados con jasmonato de metilo y extracto de levadura lograron los mejores resultados, aumentando el contenido de antocianinas en uva y vino en comparación con el control. Además, la aplicación del extracto de levadura también mejoró el contenido de estilbenos en la uva. Por el contrario, el tratamiento con quitosano no tuvo un impacto sustancial sobre los compuestos fenólicos. Los resultados de este estudio indican que las aplicaciones de jasmonato de metilo y extracto de levadura podrían ser una práctica interesante y sencilla para aumentar el contenido fenólico de la uva y del vino.

Durante los últimos años, diferentes investigadores han evaluado el efecto de la aplicación de elicitores sobre el contenido en compuestos volátiles en la uva y en los vinos (Ruiz-García et al., 2013 y 2014; Vitalini et al., 2014; D'Onofrio et al., 2018). Otros ensayos han trabajado sobre el impacto de diferentes precursores aromáticos (eugenol, guayacol, whisky lactona) en el aroma del vino (Pardo-García et al., 2014a). En estos ensayos se observó un efecto sinérgico entre el eugenol y el guayacol sobre la fracción precursora del aroma unida glucosídicamente. La velocidad de liberación de tales precursores de aromas dependía del tiempo y del tratamiento. A nivel sensorial, las notas de madera se apreciaron en todos los vinos; sin embargo, la tipicidad de la variedad

Monastrell se acentuó especialmente al final de la fermentación maloláctica, en los vinos con tratamiento con whisky lactona.

La composición de los extractos de romero (*Rosmarinus officinalis L.*) fue estudiada por diversos autores (Wang et al., 2004; Luis y Johnson, 2005; Mena et al., 2016) estableciendo su compleja composición, rica en flavonoides, ácidos fenólicos y terpenoides, siendo el ácido carnósico el compuesto predominante, encontrándose también el ácido cafeico y su éster, el ácido rosmarínico. Debido a su riqueza en compuestos polifenólicos, Bimpilas et al. (2016) aplicaron este extracto en el viñedo, y otros extractos naturales ricos en ácidos hidroxicinámicos obtenidos a partir de plantas aromáticas (*Origanum vulgare* y *Satureja thymbra*), observando un aumento de las antocianinas y de la intensidad del color, superior a la observada con ácido cafeico (Darías-Martín et al., 2002; Álvarez et al., 2009), debido posiblemente, a la composición más compleja de los extractos, ricos también en fenoles terpénicos y flavonoides. También Talcott et al. (2003) y Brenes et al. (2005) comprobaron que la aplicación foliar de extracto de romero en el viñedo incrementó la copigmentación de los antocianos y dio como resultado cambios hipercrómicos en el vino y a una mejora de su capacidad antioxidante. Según Del Pozo-Isfran (2006), la aplicación en el viñedo de extracto de romero permitió incrementar la estabilidad de los antocianos durante la conservación de los vinos, atribuyendo este efecto a la riqueza en fenoles del extracto.

El extracto de trigo sarraceno (*Fagopyrum esculentum Moench*) se ha utilizado para el control del vector *Homalodisca Vitripennis* en viñedos teniendo una buena actitud antiparasitaria y bactericida (Irvin et al., 2014). Este extracto, en cuya composición la rutina es el flavonoide mayoritario, seguido de quercetina e isoquercetina, pero que contiene también ácidos fenólicos y fitoesteroles (Wang et al., 2013), puede ser de interés en viticultura por su actividad biológica (ÇelîK et al. 2018). El efecto sobre los polifenoles de la rutina fue comprobado en numerosas ocasiones, tanto en aplicación en bodega como en campo (Schwarz et al., 2005; Álvarez et al., 2009).

También el extracto de té verde (*Camellia Sinensis L.*) ha demostrado su capacidad fungicida y antimicrobiana, constituyendo una buena herramienta en la agricultura sostenible actual (Romani et al., 2021). Diferentes estudios determinaron la composición del extracto de *Camellia Sinensis L.* (Nagle et al., 2006; Novak et al., 2010; Botten et al., 2015; Romani et al., 2021) estableciendo una compleja composición, rica en flavonoides concretamente en galato de epigallocatequina. Se atribuye a este compuesto, junto con otras catequinas relacionadas (epicatequinas-3-galato, epigallocatequina, los beneficios de su utilización. Las catequinas han sido ensayadas como copigmentos por muchos autores obteniendo buenos resultados en la estabilización del color de los vinos (González-Manzano et al., 2008; Novak et al.; 2010; Kopjar y Pilizota, 2011; Ghasemifar y Saeidian, 2014; Hui-Chun, 2014; Liu, et al., 2021).

PLAN DE TRABAJO

4. PLAN DE TRABAJO

El estudio se ha llevado a cabo en un viñedo de la variedad Monastrell ubicado en la localidad de Fontanars dels Alforins (Valencia), perteneciente a la D.O.P. Valencia, subzona Clariano. Se trata de un viñedo de 9 años de la variedad Monastrell injertada sobre el portainjerto Richter-110 (110-R), conducido en espaldera simple, con un sistema de poda en cordón royat doble y cultivada en secano. El estudio se realizó durante dos vendimias consecutivas, concretamente para las vendimias 2016 y 2017.

En primer lugar, se realizó una búsqueda bibliográfica sobre la influencia de la adición de copigmentos y extractos vegetales, las técnicas de vinificación y la aplicación controlada de oxígeno (MOX) tienen sobre el aumento y la estabilidad del color, así como la composición polifenólica y aromática de los vinos tintos.

La viticultura realizada en la parcela fue la habitual en la zona. Se eliminó y/o redujo cualquier factor limitante en el desarrollo del ensayo, ya fuera de tipo sanitario o nutricional, que pudiera distorsionar los resultados obtenidos a partir de los tratamientos experimentales. El seguimiento de la maduración polifenólica se realizó con la finalidad de aplicar los extractos vegetales y copigmentos puros en el momento óptimo, cuando el potencial de la uva permitiera que fuera más efectiva la copigmentación.

Diez días antes de la vendimia, se procedió a la aplicación de extractos vegetales y copigmentos puros en las parcelas previamente marcadas. Se realizaron ensayos en campo de aplicación de extracto de té verde, de trigo sarraceno y de romero, así como la aplicación directa en campo de los copigmentos puros, que contenían estos extractos: catequina, rutina y ácido cafeico. Se llevaron a cabo dos experiencias conjuntas, una aplicando los extractos vegetales ricos en copigmentos, y en la otra aplicando directamente los tres copigmentos de forma individual. También se utilizó la uva sin tratamiento para llevar a cabo los ensayos de adición prefermentativa en bodega y los controles. Los copigmentos puros se prepararon en disolución acuosa a una concentración de 0,5 g/L para que una vez espolvoreados en la uva, tanto en los racimos en el campo como a la entrada en bodega, se encontrasen en una concentración de 90 mg/kg de uva, concentración determinada siguiendo las recomendaciones establecidas por otros autores (González et al., 2009; Bimpilas et al., 2016). Se determinó la concentración de los copigmentos ácido cafeico en el extracto de romero (486 mg de ácido cafeico /L de extracto de romero), la de rutina en el extracto de trigo sarraceno (932 mg de rutina/L de extracto de trigo sarraceno) y la de catequina en el extracto de té verde (710 mg de catequina/L de extracto de té verde), para ajustar la dilución de los extractos a la concentración de 0,5 g/L de copigmento puro, con la finalidad de que al aplicar los extractos se obtengan los ya mencionados 90 mg de copigmento/kg de uva. La disolución de extractos y copigmentos puros se realizó en agua junto con un surfactante no iónico que favorece la adherencia de estos productos a los hollejos (Cera de Montana 20 % a dosis 2,5 mL/L). Los extractos y copigmentos puros se aplicaron en el viñedo en pulverización manual sobre los racimos, aproximadamente 10 días antes de la vendimia, periodo determinado basándonos en experiencias previas. La aplicación a la entrada en bodega se realizó por pulverización sobre los racimos en la mesa de selección, dejando actuar los extractos y copigmentos puros durante 30 minutos antes de proceder a su despalillado-estrujado.

Una vez alcanzada la madurez óptima, sin llegar a la sobremaduración, se estableció el momento óptimo de vendimia. La vendimia se realizó de forma manual, en cajas de 18 kg, dándose en el plazo máximo de dos horas el despalillado y estrujado, previo a la toma de muestras para analizar la composición de la uva. La pasta fue enviada

a depósitos de 50 L con camisa de frío, conteniendo cada uno de ellos una cantidad de 30 Kg de pasta de vendimia. Se añadió 5 g/hL de SO₂ a la pasta.

Todos los ensayos de vinificación se realizaron por triplicado. Se realizaron 6 microvinificaciones de las uvas control sin tratamientos en campo, 6 microvinificaciones de cada uno de los ensayos de campo con los 3 extractos vegetales en campo y 6 microvinificaciones de cada uno de los ensayos de campo con los 3 copigmentos puros de forma individual. Con la uva sin tratar en campo se realizan 6 microvinificaciones con adición prefermentativa en bodega de los 3 copigmentos puros (Ru, Cf y Kt) a una dosis de 90 mg/kg de uva. Tres de las microvinificaciones control y tres de cada experiencia, fermentaron de forma tradicional sin maceración prefermentativa en frío. Tres de las microvinificaciones control y tres de cada experiencia fueron sometidas a maceración prefermentativa en frío. Se emplearon levaduras seleccionadas *Sacharomyces cerevisiae*, var. Bayanus (20 g/Hl), procediendo a una maceración-fermentación a 27-28°C para todos los tratamientos, aplicando dos remontados diarios con las mismas pautas para todas ellas, extrayéndose muestras cada 2 días durante el proceso de maceración-fermentación. Se estableció que el momento de descube de los vinos fuera a los 10 días desde el encubado. Las experiencias con maceración prefermentativa en frío (6-8°C) se prolongaron durante 5 días.

Una vez llegado el momento se realizó el sangrado y prensado, utilizando una prensa hidráulica de membrana, a baja presión (1,2 atmósferas), mezclando el vino flor con el vino de primera prensada, dejándolo en el mismo depósito para que termine la fermentación alcohólica, procurando que la temperatura no bajara de los 20°C para evitar una parada fermentativa. La fermentación alcohólica se consideró finalizada cuando los vinos tuvieron menos de 2 g/L de azúcares reductores. Cuando terminó la FA comenzó la fermentación maloláctica previa inoculación de bacterias lácticas (*Oenococcus oeni*), a razón de 1g/hL. Una vez finalizada ésta, los vinos se corrigieron a 30 mg/L de sulfuroso libre, los vinos se enfriaron, trasegaron, homogenizaron y embotellaron.

Una vez embotellados los vinos, se determinaron analíticamente los parámetros relacionados con su composición polifenólica y aromática. La evolución de estos parámetros se siguió cada 3 meses durante un periodo de conservación de 12 meses.

Los vinos obtenidos se sometieron a la microoxigenación, mediante la adición controlada de acetaldehído, con el objetivo de conseguir de forma directa un efecto similar al que la MOX ocasiona en los vinos. La adición de acetaldehído se hizo a través del corcho de las botellas a razón de 2,25 µL/L/mes, durante un mes y medio, con lo que la dosis total de acetaldehído incorporada fue de 3,35 µL/L.

En la figura 4.1 se representa el diagrama de flujo del proceso de elaboración de los vinos obtenidos. Finalmente se realizó el tratamiento estadístico de los resultados para comprobar si existen diferencias significativas entre los distintos tratamientos.

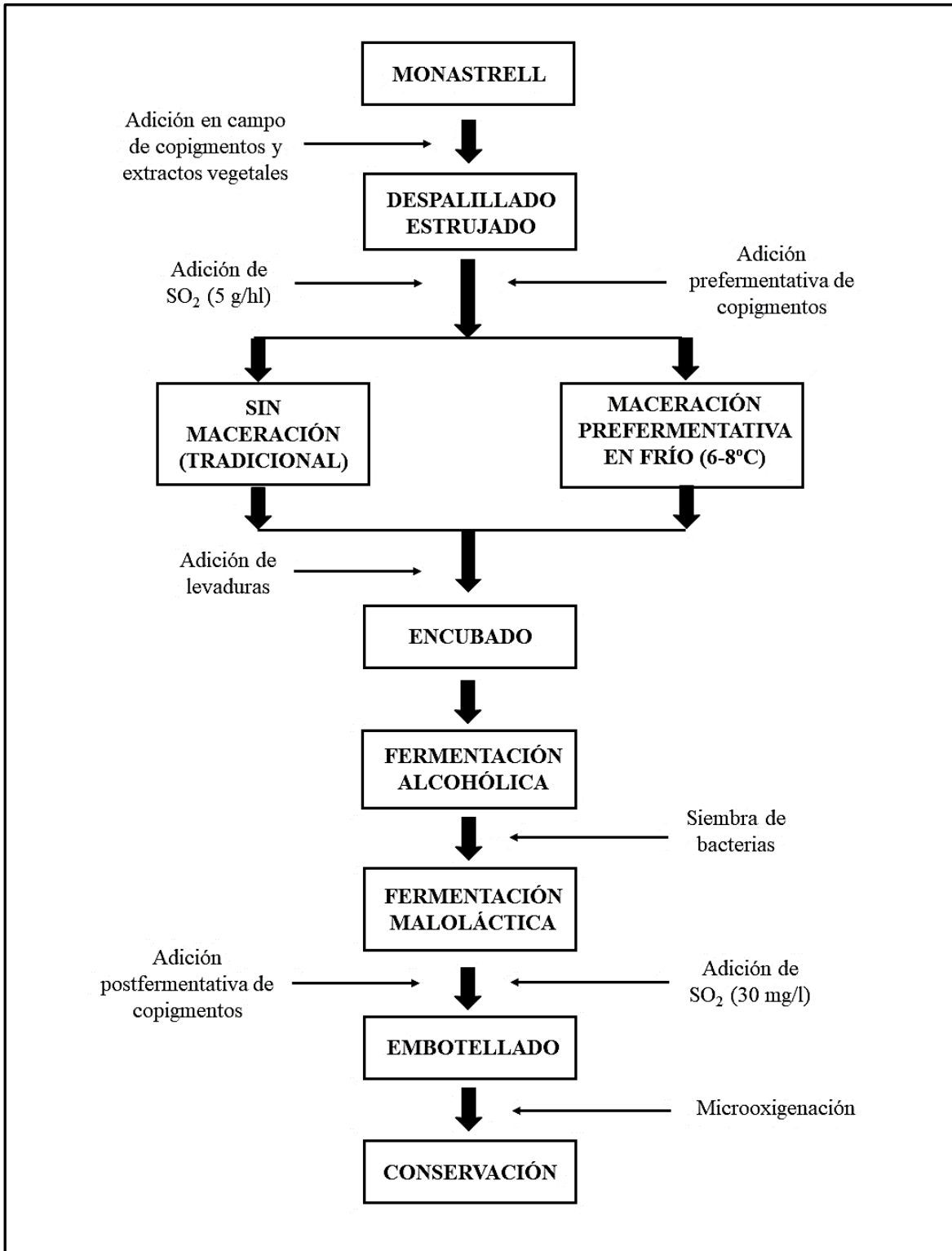


Figura 4.1. Diagrama de flujo del proceso de elaboración de los vinos.

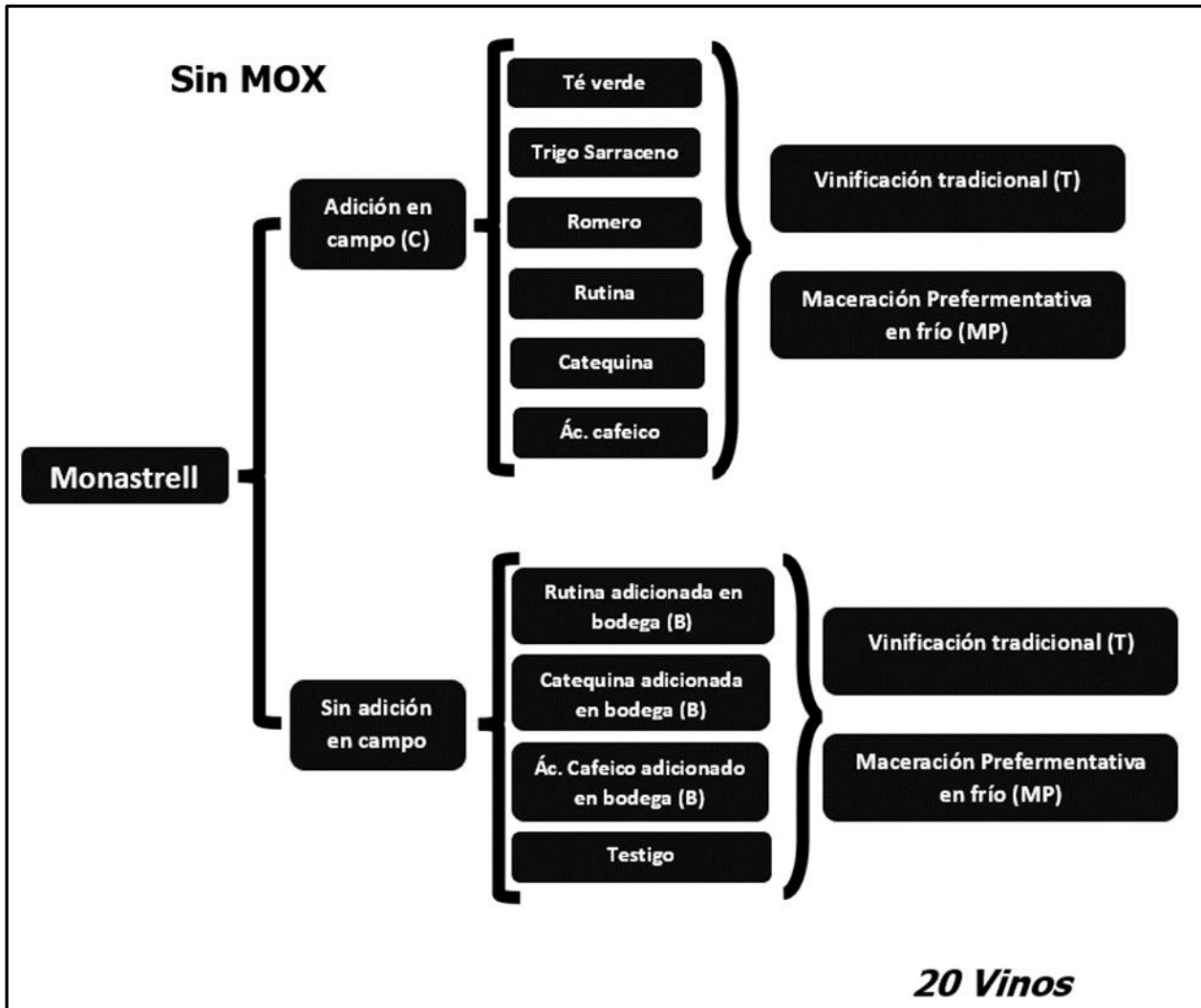


Figura 4.2. Esquema del diseño experimental del trabajo.

La figura 4.2 y 4.3 se recoge el esquema del diseño experimental del trabajo. En el esquema se pueden observar los 20 protocolos realizados, que corresponden a los dos momentos de aplicación, a las técnicas de vinificación ensayadas, junto con los seis copigmentos adicionados, más el testigo, obteniéndose cada uno de ellos por triplicado (que hacen un total de 60 vinos elaborados).

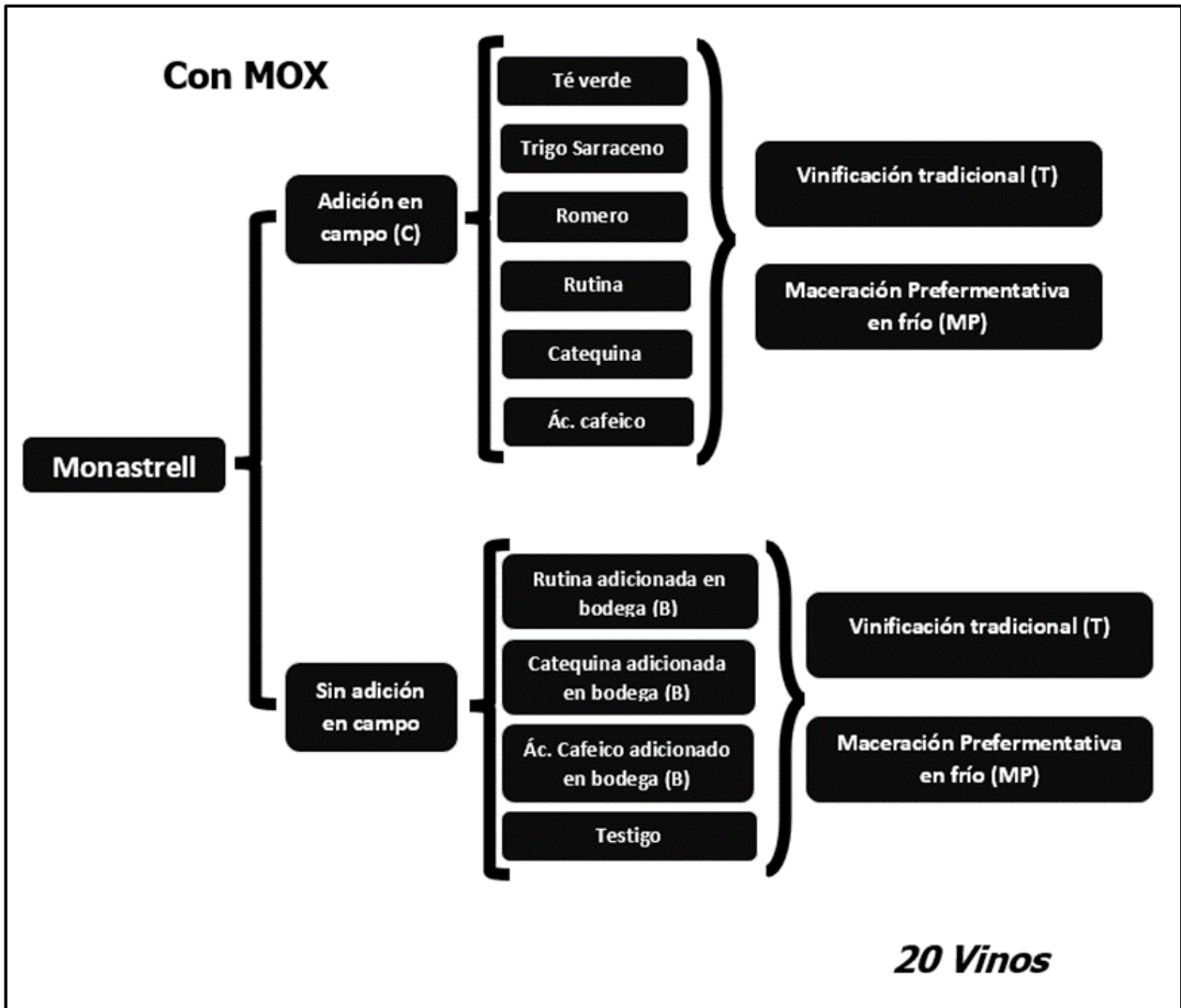


Figura 4.3. Continuación del esquema del diseño experimental del trabajo.

Finalmente, este diseño experimental se duplicó durante la conservación de los vinos, con el objetivo de someter a éstos al proceso de microoxigenación, mediante la adición de acetaldehído, por lo que durante la conservación se estudiaron 40 diferentes tratamientos por triplicado, que hacen un total de 120 vinos anuales.

MATERIALES Y MÉTODOS

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. MATERIALES

Los productos, materiales y equipos utilizados para el trabajo han sido:

1. Uva de la variedad Monastrell perteneciente a la Denominación de Origen Protegida Valencia, ubicado en la localidad de Fontanars dels Alforins (Valencia). Se trata de un viñedo de nueve años de Monastrell/Richter-110 (110-R), conducido en espaldera simple, sistema de poda en cordón royat doble y cultivada en seco.
2. Cajas de plástico de 20 Kg de capacidad para transporte de la uva.
3. Despalilladora estrujadora modelo 028EX marca Maquivi.
4. Prensa hidráulica vertical de membrana modelo 1248 marca Waslin-Boucher.
5. Envases de plástico alimentario para el transporte de la pasta de vendimia a los depósitos de maceración-fermentación.
6. Depósitos de acero inoxidable de 50 L de capacidad, con camisa de refrigeración.
7. Metabisulfito potásico ($\text{SO}_3\text{K}_2\text{H}$) con una eficiencia del 50%.
8. Los copigmentos rutina (Ru), ácido cafeico (Cf) y catequina (Kt), fueron adquiridos comercialmente:
 - Ru: Rutina (Sigma-Aldrich, ≥ 95 % HPLC).
 - Cf: Ácido cafeico (Sigma-Aldrich, ≥ 98 % HPLC).
 - Kt: (+) Catequina (Sigma-Aldrich, ≥ 98 % HPLC).

Todos ellos de Laboratorios SIGMA-ALDRICH de Madrid-España. Los extractos de té verde (Té) y romero (Ro) fueron adquiridos comercialmente, mientras que el extracto de trigo sarraceno (Tr) fue preparado en el laboratorio del Departamento de Tecnología de Alimentos de la UPV. La procedencia de los mismos fue:

- Té: Laboratorios ACOFARMA, Madrid-España.
 - Ro: Laboratorios GUINAMA, Valencia-España.
 - Tr: Preparado en el laboratorio del Departamento de Tecnología de Alimentos de la UPV-Valencia, mediante extracción alcohólica (metanol) de harina de trigo sarraceno, adquirida comercialmente de Laboratorios GUINAMA, Valencia-España, en agitación con calor y posterior concentración con rotavapor y filtrado.
- Mediante HPLC se determinó la concentración polifenólica de los extractos para calcular la cantidad a añadir en la aplicación, aproximándola a la concentración del copigmento puro.

9. Patrón de malvidina-3-glucósido (S-0911, Extrasynthèse, Genay, Francia).
10. Patrones de 2-butanol, 4-metil-2-pentanol y 2-octanol de Sigma-Aldrich.
11. Levaduras seleccionadas *Saccharomyces cerevisiae* var. *Bayanus* de la empresa Enartis Sepsa.
12. Bacterias lácticas *Oenococcus oeni* de la empresa Enartis Sepsa.

13. Equipo de frío con una potencia frigorífica de 1 kilofrigoría/hora modelo ATB de la empresa Direma.
14. Un espectrofotómetro UV/VIS JASCO V-530.
15. Un equipo HPLC JASCO serie MD-2010 Plus (JASCO, Tokyo, Japón), equipado con un desgasificador, una bomba cuaternaria, un inyector automático, además de un compartimiento termostatzado para la columna y un detector DAD (JASCO LC-Net II/ADC, Tokyo, Japón).
16. Un cromatógrafo de gases (GC) HP-6890, equipado con una columna ZB-Wax plus (60 m x 0,25 mm x 0,25 µm) de Phenomenex.

5.2. MÉTODOS ANALÍTICOS.

Los parámetros convencionales (densidad, etanol, pH, acidez total y acidez volátil) se determinaron según Métodos Oficiales (Commission Regulation (EEC), 1990). Los sólidos solubles totales (TSS) (°Brix) se determinaron por refractometría y los azúcares reductores por el método de Fehling (Blouin, 1992).

Una vez que terminó la fermentación maloláctica, determinada mediante cromatografía líquida, se analizadas inmediatamente y durante su conservación en botella con una frecuencia de 3 meses durante un año. Los vinos se analizaron en orden aleatorio para evitar posibles errores sistemáticos. Todos los análisis se realizaron por duplicado, utilizando las medias de los valores obtenidos.

- **Concentración de Polifenoles totales (Ribéreau-Gayón, 1979).**

La concentración de polifenoles totales de los vinos se obtiene por medición de la absorbancia a la longitud de onda a la que escinde el grupo fenol (A_{280}). El núcleo bencénico característico de los compuestos polifenólicos tiene su máximo de absorbancia a esta longitud de onda. La metodología consiste en diluir previamente el vino y medir la absorbancia del vino a 280 nm (UV). Se diluye el vino 1/100 y se mide su densidad óptica a 280 nm bajo 10 mm de paso óptico en cubeta de cuarzo, frente al agua. Los polifenoles totales se expresan en concentración, multiplicando la absorbancia por 0,08 o 80, que es el factor de corrección para expresar los resultados en g/L o mg/L de ácido gálico, y por el factor de dilución (100).

$$\text{C.P.T. (g/L)} = 0,08 \times A_{280} \times 100 \quad \text{o} \quad \text{C.P.T. (mg/L)} = 80 \times A_{280} \times 100$$

A_{280} = Absorbancia a 280 nm. frente al agua.

100 = dilución.

C.P.T. = concentración de polifenoles totales

- **Índice de Folin-Ciocalteu (Singleton y Rossi, 1995).**

El índice de Folin-Ciocalteu es el parámetro que mide el nivel de polifenoles en el vino. Los compuestos fenólicos del vino se oxidan con el reactivo de Folin-Ciocalteu. Asimismo, el reactivo está constituido por una mezcla de ácido fosfotúngstico ($H_3PW_{12}O_{40}$) y ácido fosfomolibdico ($H_3PMo_{12}O_{40}$) que se reduce, en la oxidación de los fenoles, a una mezcla de óxidos azules de tungsteno (W_8O_{23}) y de molibdeno (Mo_8O_{23}). La coloración azul producida posee una absorción máxima en torno a 750 nm y es proporcional al porcentaje de compuestos fenólicos. Se determina la absorbancia a 750 nm en una cubeta de 10 mm con relación a un blanco. La fórmula empleada para vinos tintos es la siguiente:

$$IPT = A^{750} \times \text{factor de dilución (10 o 5)} \times 20$$

El factor 20 se utiliza para obtener resultados comparables a los del IPT.

- **Intensidad colorante y tono (Glories, 1978).**

Para la determinación de la intensidad colorante y la tonalidad se realizan mediciones directas de la absorbancia a 420, 520 y 620 nm mediante un espectrofotómetro con cubeta de vidrio de 10 mm de paso óptico y utilizando el agua destilada como referencia. El valor de la IC se obtiene mediante la suma de las absorbancias a las longitudes de onda indicadas:

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

La tonalidad se calcula como el cociente entre la absorbancia a los 420 y 520 nm:

$$TONO = A_{420}/A_{520}$$

- **Taninos Condensados totales (Ribéreau-Gayón y Stonestreet, 1965; Ribéreau-Gayón, 1979).**

Esta determinación se basa en la propiedad característica de los flavanodíoles 3-4, llamada reacción de Bate-Smith: la hidrólisis en medio ácido, con calor y en presencia de oxígeno transforma estas moléculas en antocianinas (coloreadas). El método se basa en la capacidad de condensación de las catequinas con los compuestos carbonílicos en medio ácido (HCl). El reactivo utilizado es la vainillina en medio ácido (vainillina clorhídrica), ya que ésta es un aldehído relativamente estable a altas concentraciones de ácidos. Se leen las absorbancias A_1 y A_2 a 550 nm en cubeta de 10 mm de camino óptico, utilizando como blanco agua destilada. La concentración de taninos viene dada por la expresión:

$$\text{Taninos condensados totales} = (A_1 - A_2) \times 19,33$$

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.

- **Antocianos copigmentados, polimerizados y libres (Boulton, 2001).**

Para determinar el porcentaje de antocianos copigmentados, libres y polimerizados, se ajustan las muestras a pH 3,6 y se filtran a través de una membrana de

0,45 μm de tamaño de poro. Se añaden 20 μL de una solución de acetaldehído al 10% a 2 mL de muestra. Después de 45 minutos se mide su absorbancia a 520 nm (A^{acet}). Por otra parte, se ponen 100 μL de la muestra en 1900 μL de solución tampón y después de algunos minutos se mide su absorbancia a 520 nm (A^{20}). Por último, se añaden 160 μL de una solución de SO_2 al 5% a 2 mL de la muestra y se mide su absorbancia a 520 nm. (A^{SO_2}). Los resultados se expresan en porcentaje, y se calculan según las siguientes fórmulas:

Porcentaje de color debido a antocianos copigmentados:

$$[(A^{\text{acet}} - A^{20}) / A^{\text{acet}}] \times 100$$

Porcentaje de color debido a antocianos poliméricos:

$$(A^{\text{SO}_2} / A^{\text{acet}}) \times 100$$

Porcentaje de color debido a antocianos libres:

$$[(A^{20} - A^{\text{SO}_2}) / A^{\text{acet}}] \times 100$$

- **Índice de gelatina (Glories, 1978).**

El índice de gelatina puede ser considerado como un reflejo de la astringencia del mosto o vino. Cuanto más elevado sea (superior a 50%) el vino será más astringente. El índice no determina exclusivamente a las moléculas condensadas, sino también a algunos taninos poco polimerizados, ya que representa el porcentaje de taninos capaces de combinarse con la gelatina y que son susceptibles de intervenir a nivel de astringencia. Este procedimiento determina los taninos en el sobrenadante de la mezcla vino/gelatina, por lo que se determinará los taninos que no ha precipitado la gelatina, los no astringentes.

Se leen las absorbancias A_1 y A_2 a 550 nm en cubeta de 10 mm de camino óptico, utilizando como blanco agua destilada. La concentración de taninos viene dada por la expresión:

$$\text{Taninos condensados no astringentes} = (A_1 - A_2) \times 19,33$$

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. El índice de gelatina se calcula de la siguiente manera:

$$\text{Índice de Gelatina (\%)} = 100 \times (T_{\text{TOTALES}} \times 0,833 - T_{\text{NO ASTRINGENTES}}) / T_{\text{TOTALES}} \times 0,833$$

Corresponde al porcentaje de los taninos condensados que ha precipitado la gelatina, que son aquellos capaces de producir astringencia.

- **Índice de DMACH (Vivas et al., 1994).**

Otro método utilizado para evaluar el grado de polimerización de los taninos del mosto y del vino es el método de p-dimetilaminocinamaldehído (DMACH). Los autores proponen una nueva técnica de evaluación del grado de polimerización de taninos de la uva y vino usando un aldehído específico, DMACH, que se usa para medir el grado de condensación de las proantocianidinas que será tanto más alto cuanto más bajo sea el índice. La determinación de la absorbancia a 640 nm con el reactivo DMACH viene definida por la fórmula siguiente:

$$A_{\text{DMACH}} = (A_m - A_t)$$

A partir del valor de los taninos condensados calcularemos el Índice de Dmach:

$$\text{Índice de DMACH \%} = (A_{\text{DMACH}} / \text{Taninos}) \times 100$$

El Índice de Polimerización de DMACH varía de 10 a 200, en sentido inverso a la masa molecular de los taninos y por tanto a su grado de polimerización. Un grado de condensación media presenta un índice próximo a 50 (PM sobre 1000) y los muy condensados entre 10 y 20 (PM entre 2000 y 3000). Los taninos menos condensados presentan un PM entre 500 y 700 (dímeros, trímeros).

- **Análisis de la composición fenólica mediante HPLC.**

Para determinar las antocianinas pormenorizadas y los antocianos totales, las muestras fueron analizadas mediante un equipo HPLC JASCO serie MD-2010 Plus (JASCO, Tokyo, Japón), con desgasificador, bomba cuaternaria, inyector automático y un detector DAD (JASCO LC-Net II/ADC, Tokyo, Japón). Como fase estacionaria se ha utilizado una columna Gemini NX (Phenomenex, Torrance, CA), 250 mm x 4.6 mm de 5µm de tamaño de partícula. Los disolventes empleados fueron trifluoroacético al 0.1% en agua (Fase A) y acetonitrilo (Fase B), a un flujo de 0.5 mL/min, optimizándose las condiciones del gradiente, propuestas por Boido et al. (2006) a las detalladas a continuación:

Tiempo (min.)	Fase A	Fase B
0	90%	10%
5	90%	10%
20	85%	15%
25	85%	15%
30	82%	18%
50	65%	35%

Los cromatogramas individuales se extrajeron a 280 nm (3-flavonoles y ácidos fenólicos), 320 nm (ácidos fenólicos), 360 nm (flavonoles) y 520 nm (antocianinas). Antes de la inyección cada muestra fue centrifugada durante 15 minutos a 4.000 rpm y filtrada por un filtro de 0,45 µm, el volumen de inyección fue de 20 µL. Los compuestos fueron identificados de acuerdo a su tiempo de retención (t_r) y a sus características espectrales. Los antocianos fueron cuantificados a 520 nm y expresados como mg/L de malvidina-3-glucósido por comparación con recta patrón de malvidina-3-glucósido.

- **Análisis de la composición aromática mediante GC.**

Los compuestos volátiles se analizaron por el procedimiento propuesto por Ortega et al. (2001) con ligeras modificaciones. Se transfirió un volumen de 2,7 mL de las

muestras a un tubo de centrífuga con tapón de rosca de 10 mL que contenía 4,05 g de sulfato de amonio (Panreac, Barcelona) al que se le añadieron los siguientes compuestos: 6,3 mL de agua milli-Q (Panreac), 20 μ L de una solución interna estándar (2-butanol, 4-metil-2-pentanol y 2-octanol de Aldrich, a 140 μ g/mL cada uno, en etanol absoluto de LiChrosolv-Merck), y 0,25 mL de diclorometano (Li-Chrosolv -Merck) El tubo se agitó mecánicamente durante 120 min y posteriormente se centrifugó a 2900 g durante 15 min. La fase de diclorometano se recuperó con una jeringa de 0,5 ml, se transfirió al vial y se analizó. El análisis cromatográfico se llevó a cabo en un HP-6890, equipado con una columna ZB-Wax plus (60 m x 0,25 mm x 0,25 μ m) de Phenomenex. La temperatura de la columna, inicialmente establecida en 40 °C y mantenida a esta temperatura durante 5 min, luego se elevó a 102 °C a una velocidad de 4 °C/min a 112 °C a una velocidad de 2 °C/min, a 125 °C a razón de 3 °C/min y esta temperatura se mantuvo durante 5 min y luego se elevó a 160 °C a razón de 3 °C/min; a 200 °C a razón de 6 °C/min y luego se mantuvo a esta temperatura durante 30 min. El gas portador era helio, que se fundía a una velocidad de 3 ml/min. La inyección se realizó en modo dividido 1:20 (volumen de inyección 2 μ L) con un detector de ionización de llama (detector FID).

Además, se calcularon los índices de retención de Kovats (KI) para los picos de GC correspondientes a la sustancia identificada mediante la interpolación del tiempo de retención del alcano normal (C8 e C20), analizados bajo las mismas condiciones cromatográficas. Los KI calculados se compararon con los reportados en la literatura para la misma fase estacionaria.

5.3. TÉCNICA DE MICROOXIGENACIÓN

La técnica de microoxigenación requiere que los depósitos empleados tengan una altura igual o superior a dos metros para favorecer la formación de pequeñas burbujas de oxígeno y así, garantizar su difusión en el vino. Debido a que no se dispone de tales condiciones, se aportará el O₂ en forma de acetaldehído. La adición se realizó una vez terminada la FML, en los vinos embotellados, inyectando una disolución equivalente de acetaldehído durante un mes y medio, con una frecuencia de tres veces a la semana, a través del tapón mediante agujas hipodérmicas. Esta dosis de acetaldehído corresponde teóricamente a una adición de 3 mL de O₂/L/mes, incorporándose al vino finalmente, después del embotellado 4,5 mL de O₂ por litro de vino. El tratamiento se realizó por duplicado.

5.4. TRATAMIENTO ESTADÍSTICO

El tratamiento estadístico de los resultados obtenidos se ha llevado a cabo con el programa informático STATGRAPHICS CENTURION XVIII para Windows (Statgraphics Technologies, Inc., The Plains, VA, USA).

El análisis de la varianza (ANOVA) incluye una serie de métodos estadísticos para contrastar diferencias entre las medias de varios grupos de datos, dividiendo la variación total existente en el conjunto de datos en diversas fuentes de variación, y determinándola mediante un contraste de hipótesis, si la aportación relativa de cada una de ellas a la variación total es significativa o no, y si las diferencias encontradas entre los valores medios de cada parámetro analizado, son asignables a la influencia de estos factores o no. Para precisar entre qué factores existen diferencias significativas, se establecieron intervalos LSD (“Least Significant Difference”) para comparar las medias de las

distintas variantes del factor estudiado y ver si existen diferencias significativas con niveles de significancia del 95% ($p < 0,05$).

Se han utilizados dos métodos del análisis de la varianza: el análisis unidireccional de la varianza, también llamado análisis de la varianza simple o análisis de la varianza para un solo factor; y el análisis multifactorial de la varianza, que es una generalización del anterior para el caso de dos a más variables independientes o factores.

Mediante el ANOVA multifactorial se comprobaron las interacciones copigmento/técnica, copigmento/acetaldehído, copigmento/año, técnica/acetaldehído, técnica/año y acetaldehído/año.

Los datos correspondientes al vino control y a los vinos tratados con copigmentos fueron procesados mediante ANOVA simple, con el fin de evaluar si la aplicación del copigmento tiene influencia sobre la composición fenólica y aromática de los vinos. Los datos correspondientes a los vinos elaborados con maceración tradicional y los elaborados con maceración prefermentativa seguido de vinificación tradicional fueron procesados mediante ANOVA simple para establecer si la maceración prefermentativa en frío modifica la composición fenólica y aromática de los vinos. Y los datos correspondientes a los vinos tratados con acetaldehído y los no tratados, fueron procesados mediante ANOVA simple para establecer si la adición de acetaldehído modifica la composición polifenólica y aromática de los vinos.

Asimismo, se realizaron Análisis Discriminantes considerando los polifenoles, los aromas y el conjunto de polifenoles y aromas, para todos los tratamientos realizados, considerando conjuntamente las dos cosechas estudiadas, en función de los copigmentos utilizados, de la técnica de vinificación y de la adición o no de acetaldehído, con el objetivo de representar gráficamente la existencia de diferencias entre los distintos grupos. Se ha comprobado previamente la normalidad de las variables, y el coeficiente de asimetría y la curtosis, que están dentro de los valores admisibles. Cada función discriminante es una combinación lineal de las distintas variables incluidas en la discriminación y el valor absoluto de los coeficientes estandarizados de dichas variables es directamente proporcional al peso de dicha variable en la discriminación. Siempre tendremos en cuenta los coeficientes por la desviación típica correspondiente a esa variable, para eliminar los posibles efectos de escalas de las unidades de medida de las distintas variables calculadas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6. RESULTADOS Y DISCUSION

La composición de los vinos obtenidos, se ha determinado en distintos momentos. La primera analítica se realizó posteriormente al embotellado, una vez que los vinos terminaron la fermentación maloláctica. En los vinos embotellados y conservados a una temperatura entre 18 y 20°C se determinó su composición a los 3, 6, 9 y 12 meses, tanto en los vinos con acetaldehído adicionado como en los no adicionados. El mismo procedimiento se siguió para los dos años estudiados. La composición de los vinos una vez concluida la fermentación maloláctica y a los 12 meses de conservación, se procesó mediante ANOVA multifactorial y simple, para valorar el efecto de los distintos tratamientos considerados.

Para una mejor interpretación de los resultados, en vez de valorarse conjuntamente el efecto de todos los copigmentos, los resultados obtenidos se van a dividir en tres bloques en función del tipo de copigmento (cafeico, rutina y catequina) y su correspondiente extracto vegetal y dentro de cada bloque se va a estudiar en efecto de los copigmentos, de las técnicas de vinificación y de la aplicación de acetaldehído, tanto al final de la fermentación maloláctica, como al final de la conservación.

Para poder tratar conjuntamente los datos, se estudiaron las interacciones entre estos factores (interacciones de orden dos) mediante ANOVA multifactorial. Paralelamente, se realizó el ANOVA simple para cada uno de los factores mencionados, con la finalidad de identificar los factores que han presentado los mejores resultados con respecto a la composición de los vinos objeto de estudio.

Si las interacciones entre los distintos factores lo permiten, se va a estudiar el efecto de los copigmentos independientemente de que los vinos hayan sido sometidos a maceración tradicional o prefermentativa y de la aplicación o no de acetaldehído; el efecto de las técnicas de vinificación (maceración tradicional y prefermentativa) se va a realizar sin tener en cuenta el tipo de copigmento aplicado ni la aportación de acetaldehído, tanto en postmaloláctica como al final de la conservación; y el efecto de la microoxigenación por adición de acetaldehído se va a estudiar al final del proceso de conservación, sin tener en cuenta el tipo de copigmentos aplicado, ni las técnicas de vinificación utilizadas. Este mismo protocolo se seguirá para las dos cosechas estudiadas.

Con el objetivo de contrastar los resultados obtenidos, se realizarán Análisis Discriminantes de los polifenoles, aromas y conjuntamente para todos los parámetros analizados en los vinos, en función de los copigmentos utilizados, de la técnica de vinificación y de la adición o no de acetaldehído, para visualizar gráficamente la existencia de diferencias entre los distintos grupos. Los resultados se presentan de forma individual para cada familia de copigmentos, y de forma conjunta en el último apartado de los resultados.

6.1. EFECTO DE LA APLICACIÓN DE COPIGMENTOS SOBRE LA COMPOSICIÓN DE LOS VINOS

Se ha evaluado la composición de los vinos elaborados con las uvas de la variedad Monastrell tratadas en campo con extractos vegetales ricos en copigmentos (extracto de romero rico en ácido cafeico, extracto de té verde rico en catequina y extracto de trigo sarraceno rico en rutina), con la aplicación directa de los copigmentos ácido cafeico, catequina y rutina en campo, y con la adición prefermentativa de estos copigmentos. Se contemplan de forma independiente los resultados de los dos años estudiados.

Para cada grupo de copigmentos (ácido cafeico, rutina y catequina) y sus correspondientes extractos, se van a presentar los resultados en función del tipo de copigmento aplicado, de las técnicas de vinificación y de la aplicación de acetaldehído.

6.1.1. ESTUDIO DE LA APLICACIÓN DE EXTRACTO DE ROMERO Y ÁCIDO CAFEICO

Debido a que los mostos tratados con extracto de romero y ácido cafeico en los años 2016 y 2017 no presentaron diferencias significativas en los parámetros convencionales analizados (°Brix, pH y acidez total), no se puede atribuir a los tratamientos de copigmentación en campo efecto sobre éstos. Sin embargo, si se han observado diferencias significativas entre los años estudiados, puesto que en el año 2017 la madurez de la uva fue más elevada al ser un año más cálido.

Respecto a los vinos elaborados tampoco se han podido encontrar diferencias entre los parámetros convencionales (grado alcohólico, pH, acidez total, azúcares residuales y acidez volátil) ni en función de los copigmentos ni de las técnicas de vinificación aplicadas. Es por ello por lo que los resultados que se van a detallar a continuación, provienen del estudio donde si se han encontrado diferencias significativas, es decir, del efecto de los tratamientos sobre los compuestos polifenólicos y aromáticos.

Se estudia en primer lugar el efecto, sobre los vinos de Monastrell, de los tratamientos con extracto de romero en campo, y ácido cafeico puro en el campo y a la entrada en bodega, enfrentándolos a los vinos procedentes de uvas de Monastrell sin tratar. Este efecto se va a estudiar una vez concluida la fermentación maloláctica y al final del proceso de conservación (12 meses), independientemente de que los vinos hayan sido sometidos a maceración tradicional o prefermentativa en frío, y de la aplicación o no de acetaldehído.

En segundo lugar, se estudia el efecto de la maceración tradicional y la maceración prefermentativa, independientemente del copigmento aplicado, tanto en postmaloláctica como al final de la conservación, y en tercer lugar el efecto de la aplicación de acetaldehído en la postconservación. Asimismo, se estudia el efecto simulado de la microoxigenación mediante adición de acetaldehído durante los 45 días posteriores a la terminación de la fermentación maloláctica, independientemente del tipo de copigmento aplicado y de la técnica de vinificación.

Por último, los resultados se han representado gráficamente mediante el análisis discriminante para comprobar si se podían diferenciar los vinos en distintos grupos en función de los copigmentos utilizados, de la técnica de vinificación y de la adición o no de acetaldehído.

6.1.1.1. ESTUDIO DE LA APLICACIÓN DE EXTRACTO DE ROMERO Y ÁCIDO CAFEICO POSTERIORMENTE A LA FERMENTACION MALOLÁCTICA.

Para poder tratar conjuntamente los datos en función del copigmento aplicado (extracto de romero, ácido cafeico en campo y ácido cafeico en bodega), o de la técnica de vinificación (tradicional o maceración prefermentativa), es necesario comprobar inicialmente que no existen interacciones entre los copigmentos y las técnicas de vinificación aplicadas.

En la tabla 6.1 aparecen los datos del Análisis simple y multifactorial de la varianza para los factores adición de copigmentos y técnicas de vinificación, así como para la interacción entre ambos, para el año 2016 y 2017, para los compuestos polifenólicos de los vinos analizados después de la fermentación maloláctica. El P-value muestra el nivel de significación estadística, mientras que el F-ratio representa el cociente entre la variabilidad debida al efecto considerado y la varianza residual. Los valores del F-ratio pueden ser comparados entre sí en cada columna, debido a que el número de comparaciones fue el mismo en todos los casos. Un alto valor del F-ratio significa un efecto más marcado del factor sobre la variable.

Tal como observamos, después de la fermentación maloláctica, los compuestos polifenólicos están afectados por la adición de los distintos copigmentos, y en menor medida por las técnicas de vinificación empleadas, en los dos años estudiados. También se observa una pequeña interacción de ambos factores en algunos parámetros polifenólicos, lo que indica que, para alguno de estos compuestos, el efecto de los copigmentos aplicados es ligeramente distinto en función de la técnica de vinificación empleada. A pesar de estas interacciones, y para simplificar el estudio de los resultados, se ha procedido a tratar conjuntamente los datos en función del copigmento aplicado o de la técnica de vinificación.

Con respecto al efecto de la aplicación de los copigmentos (extracto de romero o ácido cafeico), se observa que los parámetros polifenólicos relacionados con la concentración de antocianos y de sus distintas fracciones son los que muestran los mayores valores del F-ratio, y por lo tanto los que presentan un efecto más marcado con la adición de copigmentos en la uva (Robinson y Robinson, 1931; Boutaric et al., 1937; Osawa, 1982; Mazza y Brouillard, 1990; Boulton, 2001; Karna et al., 2005).

En cuanto a los parámetros relacionados con la concentración de taninos y con su calidad, se ven menos afectados por el tratamiento con los distintos copigmentos, encontrándose pequeñas diferencias en los vinos de 2017 en la concentración de taninos y polifenoles, así como en el grado de polimerización de los taninos.

Tabla 6.1. Análisis simple y multifactorial de la varianza para los factores considerados y para su interacción, en los compuestos polifenólicos de los vinos de Monastrell tratados con extracto de romero o ácido cafeico analizados después de la fermentación maloláctica.

Compuesto	Copigmento		Técnica de vinificación		Interacción Copig x Técnica	
	2016	2017	2016	2017	2016	2017
Intensidad Colorante	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Tono (%)	ns	37,04***	ns	ns	ns	5,00*
Antocianos copigmentados (%)	24,56***	ns	ns	ns	11,03**	ns
Antocianos polimerizados (%)	11,59**	18,06***	ns	ns	ns	ns
Antocianos libres (%)	37,38***	7,45**	ns	ns	ns	7,19**
Malvidina (mg/L)	23,71***	5,94*	ns	ns	9,67**	ns
Peonidina (mg/L)	45,76***	127,37***	ns	ns	ns	ns
Petunidina (mg/L)	25,43***	52,10***	16,69***	6,85*	ns	4,81*
Cianidina (mg/L)	17,20***	262,33**	ns	30,52***	6,09**	ns
Delfinidina (mg/L)	77,23***	44,36***	ns	ns	8,49**	ns

Tabla 6.1 (Continuación). *Análisis simple y multifactorial de la varianza para los factores considerados y para su interacción, en los compuestos polifenólicos de los vinos de Monastrell tratados con extracto de romero o ácido cafeico analizados después de la fermentación maloláctica.*

Compuesto	Copigmento		Técnica de vinificación		Interacción Copig x Técnica	
	2016	2017	2016	2017	2016	2017
Antocianos Totales (mg/L)	14,32***	149,83***	ns	ns	ns	4,12*
Taninos condensados (g/L)	13,44***	11,15**	ns	ns	ns	ns
Polifenoles Totales (g/L)	ns	3,82*	ns	ns	ns	ns
Índice de Folín	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Índice de DMACH (%)	ns	9,52**	ns	ns	ns	ns
Índice de Gelatina (%)	ns	ns	ns	ns	ns	ns

* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$. *** $p < 0.001$

Para el factor técnica de vinificación se aprecian muy pocas diferencias, encontrándose éstas exclusivamente en algún parámetro relacionado con la concentración de algún antociano minoritario. Aunque muchos estudios han puesto de manifiesto que las técnicas de maceración prefermentativa afectan a la concentración y el estado de los antocianos, debido al prolongado contacto en fase acuosa que se produce (Álvarez et al., 2005; Koyama et al., 2007; Gil-Muñoz et al., 2009; Gordillo et al., 2010; Heredia et al., 2010), en los vinos procedentes de uvas suplementadas con extracto de romero y ácido cafeico analizados después de la fermentación maloláctica sólo observamos pequeñas diferencias en algún parámetro relacionado con la concentración de algunas de las fracciones de antocianos, aunque la concentración de estos compuestos es tan pequeña (petunidina y cianidina) que no ha afectado a los valores de otras variables relacionadas con el color, como la concentración de antocianos totales, la intensidad colorante o el tono.

Por último, hay que destacar que existe alguna interacción de baja intensidad entre ambos factores para algunos parámetros relacionados con los distintos antocianos analizados, lo que indica que para los vinos elaborados, el efecto de la adición del extracto de romero o ácido cafeico es ligeramente distinto cuando se aplica maceración tradicional o maceración prefermentativa, y esto podría ser la causa de que estos compuestos tengan un distinto comportamiento en el tiempo, tal como han referido diversos autores (Boulton, 2001; Álvarez et al., 2009; Gordillo et al., 2010).

6.1.1.1.1. EFECTO DE LOS COPIGMENTOS EN LA COMPOSICIÓN DE LOS VINOS

En la tabla 6.2 se recogen las medias, desviación estándar y ANOVA para los compuestos polifenólicos estudiados una vez acabada la fermentación maloláctica, en función de la aplicación de extracto de romero y ácido cafeico en el campo o ácido cafeico a la entrada de la uva en la bodega. También se recogen los valores medios de los vinos elaborados sin adición de copigmentos, que nos servirán de testigo de las elaboraciones realizadas con las distintas familias de copigmentos.

Tabla 6.2. Media, desviación estándar y ANOVA en los compuestos polifenólicos de los vinos de Monastrell después de la fermentación maloláctica, en función de los copigmentos aplicados.

Parámetros	Copigmento	2016	2017	Media 2016-2017	Año (p-value)	Interacción Copig x Año (p)
Intensidad Colorante	Testigo	8,95±1,36a	9,93±0,62a	9,34±1,21a	23,98***	ns
	Ext. Romero	8,21±0,88a	9,93±0,45a	9,36±1,03a		
	Cafeico campo	9,08±1,07a	10,40±0,10a	9,74±1,00a		
	Cafeico bodega	8,34±1,48a	9,95±0,49a	9,64±1,11a		
Tono (%)	Testigo	66,29±6,63a	63,37±3,32b	65,12±5,63a	27,79***	3,53*
	Ext. Romero	68,09±0,80a	64,12±0,80b	65,45±2,10a		
	Cafeico campo	68,26±1,39a	65,29±0,36b	66,78±1,82a		
	Cafeico bodega	70,47±3,62a	60,93±1,80a	65,70±5,65a		
Antocianos Copigmentados (%)	Testigo	25,72±3,96a	35,73±1,54a	29,72±5,94a	11,65**	ns
	Ext. Romero	29,11±2,39b	36,62±3,40a	32,86±3,02a		
	Cafeico campo	28,40±3,77b	35,97±2,51a	32,18±4,18a		
	Cafeico bodega	27,08±6,50ab	36,60±1,65a	31,84±4,59a		
Antocianos Polimerizados (%)	Testigo	25,68±2,37a	21,13±0,30a	23,86±2,92a	ns	ns
	Ext. Romero	26,79±1,75ab	28,11±1,51b	27,45±1,55b		
	Cafeico campo	27,97±4,81ab	32,82±4,94c	30,39±5,33c		
	Cafeico bodega	30,71±4,07b	29,80±2,27bc	30,26±3,10c		
Antocianos libres (%)	Testigo	48,60±3,01b	43,14±1,52b	46,42±3,69b	ns	ns
	Ext. Romero	44,10±0,93ab	32,27±2,41a	39,68±2,13a		
	Cafeico campo	42,63±2,00a	31,21±5,57a	36,92±4,05a		
	Cafeico bodega	42,20±1,63a	33,60±2,01a	37,90±2,87a		
Malvidina (mg/L)	Testigo	118,98±17,82a	188,67±11,25a	153,82±35,56a	47,54***	7,70***
	Ext. Romero	182,28±2,97c	181,81±31,50a	182,04±15,18b		
	Cafeico campo	129,01±29,45ab	184,43±9,42a	156,72±22,57a		
	Cafeico bodega	138,25±6,56b	186,24±20,76a	162,25±20,74a		
Peonidina (mg/L)	Testigo	7,61±0,37a	15,11±1,55c	10,61±3,90b	ns	34,66***
	Ext. Romero	11,95±0,24c	10,13±1,83b	10,74±1,72b		
	Cafeico campo	9,09±2,12b	4,59±3,13a	6,84±3,47 ^a		
	Cafeico bodega	10,53±2,06bc	10,40±2,23b	10,46±2,07b		
Petunidina (mg/L)	Testigo	12,21±1,81a	17,79±3,38b	14,44±3,74b	ns	ns
	Ext. Romero	18,89±0,21b	16,18±2,71b	17,08±2,54c		
	Cafeico campo	13,24±3,56a	7,80±4,74a	10,52±4,93a		
	Cafeico bodega	13,13±0,38a	14,48±2,23ab	13,80±1,70b		
Cianidina (mg/L)	Testigo	3,50±0,51a	3,99±1,03b	3,78±1,45 ^a	ns	23,13***
	Ext. Romero	6,18±1,37c	4,80±1,20b	5,26±1,38b		
	Cafeico campo	4,70±1,53a	1,23±1,07a	2,97±2,20 ^a		
	Cafeico bodega	4,20±0,85a	3,77±1,15b	3,99±1,00ab		
Delfinidina (mg/L)	Testigo	8,55±1,08a	12,17±2,77b	10,00±2,61bc	ns	13,38***
	Ext. Romero	13,16±0,37b	10,92±1,57b	11,67±1,68c		
	Cafeico campo	8,95±2,03a	4,76±3,56a	6,85±3,54 ^a		
	Cafeico bodega	8,07±1,70a	10,12±2,14b	9,10±2,15b		
Antocianos Totales (mg/L)	Testigo	207,68±13,08a	289,91 ± 11,98a	248,57±42,52a	66,40***	3,45*
	Ext. Romero	270,30±29,98b	293,00±18,15ab	281,65±22,22b		
	Cafeico campo	225,34±33,39ab	300,07±17,37b	263,01±46,63ab		
	Cafeico bodega	212,12±32,33a	274,24±17,82a	251,02±45,85a		

Tabla 6.2 (Continuación). Media, desviación estándar y ANOVA en los compuestos polifenólicos de los vinos de Monastrell después de la fermentación maloláctica, en función de los copigmentos aplicados.

Parámetros	Copigmento	2016	2017	Media 2016-2017	Año (p-value)	Interacción Copig x Año (p)
Taninos condensados (g/L)	Testigo	2,02±0,16b	1,52±0,15a	1,77±0,35a	6,03*	17,07***
	Ext. Romero	1,72±0,13a	1,53±0,12a	1,63±0,12a		
	Cafeico campo	2,00±0,06b	1,91±0,15b	1,96±0,12a		
	Cafeico bodega	1,94±0,20b	1,66±0,10ab	1,80±0,27a		
Polifenoles Totales (g/L)	Testigo	2,13±0,10a	2,00±0,03a	2,06±0,10a	3,99*	8,40***
	Ext. Romero	1,99±0,07a	2,01±0,02a	2,00±0,04a		
	Cafeico campo	2,04±0,03a	2,08±0,08a	2,06±0,06a		
	Cafeico bodega	2,11±0,16a	1,96±0,06a	2,03±0,14a		
Índice de Fólin	Testigo	53,91±2,99a	52,22±1,07a	53,23±2,52a	4,22 *	Ns
	Ext. Romero	52,93±1,30a	51,49±0,98a	51,97±1,19a		
	Cafeico campo	52,78±2,69a	52,31±4,33a	52,54±3,49a		
	Cafeico bodega	52,01±3,53a	50,22±2,41a	51,11±3,06a		
Índice de DMACH (%)	Testigo	69,77±5,27a	90,99±4,13c	77,26±16,39a	66,71***	Ns
	Ext. Romero	68,82±4,48a	77,07±11,77b	74,32±10,49a		
	Cafeico campo	69,23±5,91a	64,31±6,34a	66,77±6,44a		
	Cafeico bodega	69,19±7,60a	88,29±6,05c	78,74±11,89a		
Índice de Gelatina (%)	Testigo	49,47±6,62a	74,97±2,21a	59,67±13,84a	151,41** *	3,50*
	Ext. Romero	41,14±11,83a	72,06±4,17a	61,75±16,76a		
	Cafeico campo	52,85±5,46a	69,72±7,61a	61,29±10,81a		
	Cafeico bodega	51,26±12,05a	73,70±3,32a	62,48±14,39a		

* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$. *** $p < 0.001$

En los vinos de Monastrell recién elaborados no se observan diferencias significativas con respecto a la intensidad colorante ni en el tono, en ninguna de las dos añadas estudiadas, a pesar del mayor porcentaje de antocianos copigmentados encontrado en los vinos tratados con copigmentos, aunque en 2017 este efecto no llega a ser significativo. Este efecto copigmentante del ácido cafeico, tanto aplicado directamente o como constituyente del extracto de romero, ha sido constatado después de concluida la fermentación, igual que en otros estudios (Darias et al., 2002; Hermosín et al., 2005; Schwarz et al., 2005; Álvarez et al., 2006; Aleixandre-Tudó et al., 2013; Heras-Roger, 2016), que también encontraron que a mayor porcentaje de antocianos copigmentados, mayor color presentaban los vinos, a diferencia de lo que sucede en este estudio. También se observa un porcentaje superior de antocianos polimerizados en los vinos procedentes de suplementación con copigmentos, especialmente cuando la suplementación se hace con ácido cafeico a la entrada en bodega, ya que en este caso el ácido cafeico permaneció en mayor concentración que cuando la adición se realiza en el viñedo, ya que la pulverización disminuye el aprovechamiento total del producto.

El hecho de que los antocianos se encuentren en su mayor parte copigmentados y polimerizados y en menor proporción libres, en los vinos procedentes de tratamientos de copigmentación con ácido cafeico, puede ser la causa de la mayor estabilidad de los antocianos, que se refleja en una concentración superior de antocianos totales, malvidina y en general de todas las fracciones de antocianos pormenorizados estudiadas. La malvidina, la antocianidina más abundante, y las distintos antocianos analizados, y por

tanto los antocianos totales, presentan en la cosecha 2016 un valor superior cuando las uvas se trataron con extracto de romero, en relación a las tratadas con ácido cafeico (tanto en campo como en bodega) y sobre todo con respecto a los testigos, que tienen valores significativamente inferiores de estos compuestos. Sin embargo, en los vinos elaborados en 2017, este resultado no es tan evidente. La capacidad de copigmentación de las distintas antocianidinas no es la misma y depende del copigmento (Zhao, et al, 2020), siendo la malvidina la que mejor copigmenta con ácido gálico y con la epicatequina, aunque es la peonidina la que mejor copigmenta con quercitina.

Por otro lado, la concentración de taninos muestra valores inferiores en los vinos procedentes de tratamientos con extracto de romero, mientras que la concentración total de polifenoles, el grado de polimerización de los taninos, así como su astringencia, no se ven afectadas por los tratamientos realizados en el viñedo.

En año 2017 las uvas de Monastrell mostraron una mejor madurez polifenólica, que dio lugar a uvas y vinos con más color y mayor concentración de antocianos, especialmente malvidina, con relación a los vinos de 2016. En cambio, las diferencias observadas en la concentración de taninos y polifenoles totales entre las dos añadas son mucho más pequeñas.

A pesar de las diferencias observada entre añadas, y de las interacciones existentes entre la adición de copigmentos y la añada para los antocianos totales y pormenorizados, la media de los dos años es bastante representativa, ya que son los vinos suplementados con extracto de romero los que muestran una mayor concentración de antocianos polimerizados, antocianos totales, malvidina, cianidina y delfinidina una vez concluida la fermentación maloláctica, y los testigos los que presentan los valores inferiores.

6.1.1.1.2. EFECTO DE LAS TÉCNICAS DE VINIFICACIÓN EN LA COMPOSICIÓN DE LOS VINOS

En la tabla 6.3 se recogen las medias, desviación estándar y ANOVA para los compuestos polifenólicos de los vinos cuyas uvas han sido tratadas con extracto de romero, ácido cafeico en campo o ácido cafeico a la entrada en bodega, una vez acabada la fermentación maloláctica, en función de la técnica de vinificación aplicada (vinificación con maceración tradicional y vinificación con maceración prefermentativa).

La técnica de maceración utilizada solo afecta a la concentración de petunidina y delfinidina, que es superior en los vinos sometidos a maceración tradicional en las dos añadas, siendo estos antocianos tan minoritarios que no ha afectado a los valores de otros parámetros polifenólicos relacionados como el color, la concentración de antocianos totales o la concentración de polifenoles totales. Tampoco se observan diferencias significativas en el resto de los parámetros polifenólicos analizados en los vinos inmediatamente después de concluida la fermentación maloláctica.

Es bien sabido que la maceración prefermentativa fue diseñada para mejorar la extracción de pigmentos, taninos y aromas desde los hollejos hasta el mosto, bajo el supuesto de que la extracción en medio acuoso incrementa la extracción del color y su posterior estabilidad. Pero existen importantes controversia en relación al efecto de la maceración prefermentativa en el color de los vinos, ya que mientras algunos estudios muestran un efecto positivo de la maceración prefermentativa tanto en el color, como en su estabilidad, y en la calidad sensorial de los vinos (Álvarez et al., 2005; Gómez-Míguez et al., 2006a; Koyama et al., 2007; Casassa et al., 2007; Gil-Muñoz et al., 2009; Gordillo et al., 2010), otros estudios han puesto de manifiesto que la maceración prefermentativa

en frío no tiene efecto en la composición fenólica de los vinos (Okubo et al., 2003; Marais, 2003), o incluso puede tener un efecto negativo ocasionando una disminución del color y de la composición fenólica de los vinos (Budic-Leto et al., 2003; González-Neves et al., 2008), o bien un comportamiento divergente con respecto a los distintos compuestos polifenólicos, incrementando la maceración prefermentativa las proantocianidinas, y en cambio, disminuyendo el contenido de antocianos y el color, con respecto a los vinos elaborados con maceración tradicional (Favre et al., 2013).

Esa disminución en el contenido de antocianos en los vinos macerados prefermentativamente, con respecto a los macerados de forma tradicional, coincide con lo observado en este estudio, aunque las diferencias encontradas son pequeñas ya que solo son significativas para algún antociano minoritario. La variedad de uva, su grado de madurez, y las técnicas de vinificación, pueden ser la causa de los variables efectos que puede presentar la realización de maceración prefermentativa (González-Neves et al., 2016).

Tabla 6.3. Media, desviación estándar y ANOVA en los compuestos polifenólicos de los vinos de Monastrell tratados con romero o ácido cafeico analizados después de la fermentación maloláctica, en función de la técnica de vinificación aplicada.

Parámetros	Técnica vinificación	2016	2017	Media 2016-2017	Año (p-value)	Interacción Téc x Año(p)
Intensidad Colorante	T	9,03±1,30a	10,18±0,41a	9,57±1,13a	23,98***	ns
	MP	8,94±1,27a	9,92±0,52a	9,46±1,05a		
Tono (%)	T	68,99±2,69a	62,40±2,73a	65,89±4,27a	7,74**	5,23*
	MT	66,85±6,31a	64,46±1,65a	65,58±4,55a		
Antocianos Copigmentados (%)	T	25,58±4,40a	26,87±6,91a	26,19±5,67a	ns	ns
	MP	26,61±4,59a	26,88±5,54a	26,76±5,03a		
Antocianos Polimerizados (%)	T	28,61±5,45a	25,29±3,91a	27,05±5,01a	ns	ns
	MP	26,41±2,37a	27,64±5,80a	27,07±4,50a		
Antocianos libres (%)	T	45,81±2,50a	47,84±3,76a	46,76±3,27a	ns	ns
	MP	46,98±4,51a	45,48±4,28a	46,18±4,38a		
Malvidina (mg/L)	T	149,64±20,71b	191,90±27,12a	169,53±31,84b	23,31***	6,55*
	MP	124,39±19,99a	149,17±60,20a	137,21±30,15a		
Peonidina (mg/L)	T	9,65±1,77a	12,09±3,32a	10,80±2,85a	ns	4,18*
	MP	8,73±2,45a	8,02±4,40a	8,35±3,58a		
Petunidina (mg/L)	T	15,39±2,32b	17,08±3,31b	16,19±2,91b	ns	ns
	MP	11,14±1,52a	11,04±4,68a	11,09±3,52a		
Cianidina (mg/L)	T	4,83±1,36a	4,96±1,82b	4,89±1,57b	ns	ns
	MP	3,64±0,90a	2,94±1,84a	3,26±1,50a		
Delfinidina (mg/L)	T	10,48±3,63a	11,83±2,47b	11,12±4,15a	ns	ns
	MP	7,34±1,16a	7,16±3,48a	7,24±2,62a		
Antocianos Totales (mg/L)	T	224,51±40,12a	289,36±11,17a	254,73±48,21a	76,65***	4,66*
	MP	216,56±18,55a	274,55±13,79a	247,49±33,44a		
Taninos condensados (g/L)	T	1,93±0,19a	1,67±0,26a	1,81±0,26a	39,62***	ns
	MP	2,09±0,17a	1,63±0,14a	1,85±0,28a		
Polifenoles Totales (g/L)	T	2,02±0,09a	2,02±0,10a	2,07±0,10a	ns	ns
	MP	2,15±0,11a	2,01±0,02a	2,07±0,12a		

Tabla 6.3 (Continuación). Media, desviación estándar y ANOVA en los compuestos polifenólicos de los vinos de Monastrell tratados con romero o ácido cafeico analizados después de la fermentación maloláctica, en función de la técnica de vinificación aplicada.

Parámetros	Técnica vinificación	2016	2017	Media 2016-2017	Año (p-value)	Interacción Téc x Año(p)
Índice de Folin	T	53,76±2,77a	52,18±2,09a	52,99±2,46a	5,05*	ns
	MP	52,08±2,84a	49,94±1,98a	50,93±2,61a		
Índice de DMACH (%)	T	63,97±5,38a	77,53±14,90a	70,35±12,77a	32,39***	ns
	MP	67,75±9,07a	82,79±10,42a	75,77±12,30a		
Índice de Gelatina (%)	T	45,80±7,56a	71,31±5,29a	57,81±14,46a	123,10***	ns
	MP	54,77±8,39a	73,91±4,38a	64,98±11,66a		

T: tradicional, MP: maceración prefermentativa; * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$. *** $p < 0.001$

6.1.1.2. ESTUDIO DE LA APLICACIÓN DE EXTRACTO DE ROMERO Y ÁCIDO CAFEICO AL FINAL DEL PROCESO DE CONSERVACIÓN DE LOS VINOS

Para poder tratar conjuntamente los datos en función del copigmento aplicado (extracto de romero, ácido cafeico puro en campo y en bodega), es necesario comprobar inicialmente que no existen interacciones entre los copigmentos, las técnicas de vinificación aplicadas (T o MP) y el aporte de acetaldehído. En la tabla 6.4 aparecen los datos del Análisis simple y multifactorial de la varianza para los factores adición de copigmentos, técnicas de vinificación y aplicación de microoxigenación, así como para la interacción entre ellos, para el año 2016 y 2017, para los compuestos polifenólicos y aromáticos de los vinos analizados a los 12 meses de embotellados.

Tabla 6.4. Análisis simple y multifactorial de la varianza para los factores considerados y para su interacción, en los compuestos polifenólicos de los vinos de Monastrell tratados con romero o ácido cafeico analizados a los 12 meses del embotellado.

Compuesto	Copigmento		Técnica de vinificación		Aplicación acetaldehído		Interacción Copig x Téc		Interacción Copig x Acetal		Interacción Tec x Acetal	
	2016	2017	2016	2017	2016	2017	2016	2017	2016	2017	2016	2017
Intensidad Colorante	3,23*	ns	ns	ns	ns	ns	ns	5,22*	ns	11,35**	ns	22,23***
Tono (%)	ns	ns	ns	ns	ns	ns	4,21*	ns	ns	ns	ns	ns
Antoc. copigmentados (%)	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	19,24***	ns	11,65**	25,52***
Antoc. polimerizados (%)	11,54**	9,22**	ns	ns	ns	12,39**	ns	9,48**	ns	3,87*	ns	64,11***
Antocianos libres (%)	7,84**	ns	ns	ns	ns	ns	3,78*	14,11**	ns	8,15**	ns	ns
Malvidina (mg/L)	7,89**	7,47**	ns	ns	7,34*	ns	ns	ns	ns	ns	8,85**	ns
Peonidina (mg/L)	4,56*	ns	ns	ns	4,24*	ns	ns	ns	ns	ns	5,54**	ns
Petunidina (mg/L)	3,57*	3,71*	ns	10,57**	6,78*	ns	ns	ns	12,75***	ns	ns	ns
Cianidina (mg/L)	3,38*	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	10,27***	ns	12,13**	ns
Delfinidina (mg/L)	5,52**	ns	ns	11,77**	5,95*	6,37*	ns	ns	16,91***	ns	16,15**	ns
Antocianos Totales (mg/L)	4,80*	ns	ns	ns	ns	4,44*	12,41***	14,27***	ns	10,52**	7,88**	4,83*
Taninos condensados (g/L)	ns	ns	11,94**	4,18*	ns	14,25**	18,12***	ns	21,5**	ns	ns	ns
Polifenoles Totales (g/L)	ns	ns	23,86**	6,63**	ns	ns	ns	4,79*	ns	ns	ns	ns
Índice de Folin	ns	ns	4,26*	ns	12,11**	4,80*	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Índice de DMACH (%)	ns	ns	ns	ns	ns	4,35*	14,81***	ns	16,04**	ns	ns	21,24**
Índice de Gelatina (%)	ns	ns	ns	ns	ns	83,13**	ns	7,91**	ns	ns	ns	ns
α-pineno (μg/L)	3,28*	3,26*	8,94**	7,08**	ns	ns	ns	5,32*	ns	5,80*	ns	ns
β-pineno (μg/L)	4,56*	3,48*	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	5,87*	ns	ns
Isovalerato de etilo (μg/L)	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Acetato de isoamilo (μg/L)	ns	3,19*	20,44***	11,76**	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	7,16**
Hexanoato de etilo (μg/L)	5,07*	4,28*	ns	ns	ns	ns	4,96*	9,97**	ns	5,42*	5,46**	ns
n-amyl alcohol (μg/L)	ns	ns	45,11***	12,11***	ns	ns	3,57*	4,31*	ns	ns	ns	ns

Tabla 6.4 (Continuación). *Análisis simple y multifactorial de la varianza para los factores considerados y para su interacción, en los compuestos polifenólicos de los vinos de Monastrell tratados con romero o ácido cafeico analizados a los 12 meses del embotellado.*

Compuesto	Copigmento		Técnica de vinificación		Aplicación acetaldehído		Interacción Copig x Téc		Interacción Copig x Acetal		Interacción Tec x Acetal	
	2016	2017	2016	2017	2016	2017	2016	2017	2016	2017	2016	2017
Acetato de hexilo (µg/L)	44,71***	46,35***	49,91***	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Lactato etilo (µg/L)	4,18*	3,38*	10,84***	8,05**	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	7,44**
Cis 3-hexenol (µg/L)	7,13**	8,70**	6,40*	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Octanoato de etilo (µg/L)	ns	ns	14,16**	15,49**	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
1,2 propilenglicol (µg/L)	15,12***	6,82**	ns	ns	ns	ns	6,51*	ns	ns	10,42**	ns	46,74***
Etil 3-hidroxibutirato (µg/L)	4,48*	3,89*	ns	ns	ns	ns	3,12*	7,83**	ns	ns	ns	ns
Linalol (µg/L)	12,65***	13,09***	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Decanoato de etilo (µg/L)	ns	ns	50,09***	39,33***	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Dietil succinato (µg/L)	9,02**	4,12*	ns	ns	ns	ns	11,13***	ns	ns	ns	ns	ns
2 fenilacetato (µg/L)	99,09***	4,05*	6,81**	31,53***	ns	ns	9,23**	ns	ns	ns	ns	ns
2 metoxifenol (µg/L)	3,55*	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	6,47**
γ-octolactona (µg/L)	11,56**	9,78**	11,74***	9,15**	ns	ns	5,32**	9,28**	ns	ns	ns	ns
2 feniletanol (µg/L)	ns	ns	15,14***	13,64***	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Eugenol (µg/L)	5,93*	6,10**	ns	ns	ns	ns	ns	ns	8,59**	18,19***	ns	ns
Ácido decanoico (µg/L)	ns	ns	87,97***	79,92***	ns	ns	19,55***	21,15***	ns	ns	ns	ns
Vainillina (µg/L)	4,12*	8,75**	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$. *** $p < 0.001$

Se observa que existe alguna interacción para los compuestos polifenólicos y aromáticos, que pueden estar ligeramente afectados por la adición de los distintos copigmentos y las técnicas de vinificación empleadas. Con respecto al efecto de la aplicación los copigmentos, se observa que los parámetros polifenólicos relacionados con la concentración de antocianos y de sus distintas fracciones son los que muestran los mayores valores del F-ratio, y por lo tanto los que presentan un efecto más marcado con la adición de copigmentos en la uva, tal como observaron otros investigadores (Boulton, 2001; Karna et al., 2005). Los parámetros relacionados con la concentración de taninos y con su calidad, se ven menos afectados por el tratamiento con los distintos copigmentos, y en cambio encontramos que las técnicas de vinificación influyen en estos compuestos, especialmente en la añada 2016, en la que la uva estaba menos madura.

La aplicación de copigmentos afecta también a la gran mayoría de los compuestos aromáticos analizados, y las técnicas de vinificación también muestran un efecto importante en la concentración de compuestos aromáticos de los vinos, en las dos añadas estudiadas.

La adición de acetaldehído, en cambio, no afecta significativamente a la mayor parte de los parámetros estudiados. Se observa también un bajo nivel de interacción entre la adición de copigmentos, las técnicas de vinificación y la adición de acetaldehído.

6.1.1.2.1. EFECTO DE LOS COPIGMENTOS EN LA COMPOSICIÓN DE LOS VINOS

En la tabla 6.5 se recoge la concentración de los compuestos polifenólicos transcurridos 12 de meses de conservación, en función de los copigmentos aplicados.

Tabla 6.5. Media, desviación estándar y ANOVA de los compuestos polifenólicos de los vinos de Monastrell a los 12 meses de conservación, en función de los copigmentos aplicados.

Parámetros	Copigmento	2016	2017	Media 2016-2017	Año p-value	Interacción Copig x Año (p)
Intensidad Colorante	Testigo	9,13±1,01a	11,63±0,90a	10,73±1,31a	ns	ns
	Ext. Romero	11,12±0,20b	12,62±0,85b	11,87±0,52b		
	Cafeico campo	10,77±1,42b	12,29±1,26a	11,53±1,38ab		
	Cafeico bodega	10,15±0,66ab	11,95±0,48a	11,05±0,79ab		
Tono (%)	Testigo	75,68±3,95a	68,70±2,57a	72,19±4,83a	ns	ns
	Ext. Romero	76,15±0,94a	68,99±2,29a	71,37±4,00a		
	Cafeico campo	73,55±2,19a	69,43±2,38a	71,49±3,07a		
	Cafeico bodega	74,21±2,37a	67,88±2,15a	71,05±3,93a		
Antocianos Copigmentados (%)	Testigo	9,87±1,25a	16,55±1,63a	13,21±3,72a	21,38***	ns
	Ext. Romero	10,82±1,40a	15,92±2,00a	14,22±3,06a		
	Cafeico campo	10,50±1,88a	15,60±2,62a	13,05±3,43a		
	Cafeico bodega	9,66±2,23a	15,36±1,81a	12,51±3,54a		
Antocianos Polimerizados (%)	Testigo	50,47±3,27a	47,64±4,85a	49,05±4,26a	ns	ns
	Ext. Romero	56,49±0,15b	51,89±2,86b	54,19±1,15b		
	Cafeico campo	57,15±4,27bc	49,89±8,62ab	53,52±6,93b		
	Cafeico bodega	60,20±3,30c	54,70±5,20b	57,45±5,38c		
Antocianos libres (%)	Testigo	39,66±3,41b	35,82±6,04a	37,74±5,14a	ns	ns
	Ext. Romero	32,68±1,53a	32,19±4,16a	31,59±3,43a		
	Cafeico campo	32,35±3,99a	34,51±9,91a	33,93±7,31a		
	Cafeico bodega	30,15±2,30a	29,94±6,17a	30,05±4,51a		
Malvidina (mg/L)	Testigo	34,99±7,35a	49,13±2,24a	42,06±15,45a	ns	6,29**
	Ext. Romero	56,64±5,48b	58,40±3,50b	57,52±4,21b		
	Cafeico campo	39,36±8,63ab	54,28±6,95b	46,82±7,15ab		
	Cafeico bodega	41,67±8,72ab	55,66±4,21b	48,67±5,96ab		
Peonidina (mg/L)	Testigo	2,53±0,56a	3,18±0,68a	2,85±0,62a	ns	6,07*
	Ext. Romero	4,08±1,12b	3,14±1,07a	3,45±0,56b		
	Cafeico campo	2,77±0,86a	3,18±0,86a	2,98±0,89a		
	Cafeico bodega	2,51±0,96a	3,13±1,12a	2,82±1,06a		
Petunidina (mg/L)	Testigo	4,54±1,24a	4,38±0,56a	4,46±1,33a	ns	ns
	Ext. Romero	7,14±2,35b	5,52±2,17b	6,06±2,26b		
	Cafeico campo	4,51±2,35a	4,72±1,58a	4,61±1,97a		
	Cafeico bodega	3,77±1,04a	5,29±1,78b	4,53±1,61a		
Cianidina (mg/L)	Testigo	2,04±0,33a	2,07±0,30a	2,05±0,38a	ns	ns
	Ext. Romero	3,09±0,92b	2,31±0,72a	2,57±0,84b		
	Cafeico campo	1,84±0,57a	2,45±0,54a	2,14±0,58a		
	Cafeico bodega	2,03±0,81a	2,06±0,67a	2,05±0,72a		
Delfinidina (mg/L)	Testigo	3,74±0,84a	4,87±0,78a	4,30±0,97a	ns	4,32*
	Ext. Romero	6,20±2,72b	4,59±2,18a	5,13±1,38b		
	Cafeico campo	4,15±1,50ab	4,84±1,23a	4,49±1,49a		
	Cafeico bodega	3,75±0,78a	4,27±1,58a	4,01±1,43a		
Antocianos Totales (mg/L)	Testigo	223,59±17,39a	303,21±53,02a	263,40±56,07a	72,83***	ns
	Ext. Romero	245,50±7,54b	349,30±17,53b	297,40±75,43a		
	Cafeico campo	242,05±24,52b	338,10±31,26b	290,08±88,35a		
	Cafeico bodega	237,83±21,82ab	332,24±43,91a	285,04±77,44a		

Tabla 6.5 (Continuación). Media, desviación estándar y ANOVA de los compuestos polifenólicos de los vinos de Monastrell a los 12 meses de conservación, en función de los copigmentos aplicados.

Parámetros	Copigmento	2016	2017	Media 2016-2017	Año p-value	Interacción Copig x Año (p)
Taninos condensados (g/L)	Testigo	2,01±0,08a	1,98±0,07a	2,00±0,11a	ns	ns
	Ext. Romero	1,96±0,11a	1,99±0,12a	1,97±0,11a		
	Cafeico campo	1,99±0,03a	1,93±0,10a	1,96±0,08a		
	Cafeico bodega	2,09±0,14a	1,92±0,15a	2,00±0,16a		
Polifenoles Totales (g/L)	Testigo	2,06±0,92a	2,21±0,68a	2,14±0,86a	ns	ns
	Ext. Romero	2,14±0,07a	2,55±0,37a	2,35±0,31a		
	Cafeico campo	1,96±0,50a	2,66±0,63a	2,31±0,66a		
	Cafeico bodega	1,99±0,25a	2,37±0,86a	2,18±0,68a		
Índice de Fólin	Testigo	54,38±7,92a	48,43±1,95a	51,40±6,36a	ns	ns
	Ext. Romero	54,44±7,16a	53,60±8,72a	53,88±7,91a		
	Cafeico campo	49,92±1,80a	54,33±2,02a	52,13±1,86a		
	Cafeico bodega	50,08±2,94a	48,76±3,20a	49,42±3,43a		
Índice de DMACH (%)	Testigo	47,71±17,06a	47,33±8,93a	47,52±14,21a	ns	3,96*
	Ext. Romero	42,27±4,50a	56,77±17,66a	49,52±17,21a		
	Cafeico campo	47,74±6,22a	50,43±8,56a	49,08±7,36a		
	Cafeico bodega	49,34±6,72a	53,67±7,62a	51,50±7,29a		
Índice de Gelatina (%)	Testigo	24,16±3,74a	37,30±10,47a	30,73±10,18a	13,76***	ns
	Ext. Romero	23,54±2,11a	43,70±8,78a	37,98±11,03a		
	Cafeico campo	20,97±3,07a	38,82±9,55a	29,89±11,38a		
	Cafeico bodega	22,62±2,04a	39,49±8,73a	31,06±10,65a		

* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$. *** $p < 0.001$

Al cabo de 12 meses de conservación, el comportamiento de los vinos es similar al observado después de la fermentación maloláctica, aunque las diferencias se minimizan, disminuyendo el porcentaje de antocianos copigmentados y desapareciendo las diferencias en estos antocianos entre los testigos y los vinos procedentes de uvas copigmentadas. A su vez, el porcentaje de antocianos polimerizados se incrementa, y se mantiene el mismo comportamiento que observamos después de la maloláctica, ya que los vinos testigos son los que tienen los antocianos menos polimerizados, correspondiendo a los vinos suplementados con extracto de romero y ácido cafeico los valores superiores en las dos añadas estudiadas, siendo ligeramente superiores cuando se adiciona ácido cafeico a la uva en la entrada en bodega. El efecto copigmentante del ácido cafeico en la fermentación alcohólica ha sido puesto de manifiesto por otros autores, así como su implicación en el incremento de los antocianos polimerizados a lo largo de la conservación (Darias-Martín et al., 2002; Hermosín et al., 2005; Schwarz et al., 2005; Álvarez et al., 2006; Aleixandre-Tudó et al., 2013; Heras-Roger, 2016).

Con respecto a la concentración de antocianos, a los 12 meses se aprecia una importante disminución de las fracciones pormenorizadas estudiadas, con respecto a los valores obtenidos después de la fermentación maloláctica debido a reacciones de condensación y polimerización con proantocianidinas y otros compuestos, estando esta polimerización facilitada por la presencia de los copigmentos (Bimpilas et al., 2016). Los vinos tratados con copigmentos, y en mayor medida con extracto de romero, son los que presentan mayor concentración de antocianos totales, malvidina y del conjunto de antocianos determinados.

La mayor concentración de antocianos pormenorizados y totales, y el hecho de que estos antocianos estén más polimerizados, ocasiona que los vinos procedentes de uvas tratados con copigmentos sean los que presentes mayor intensidad colorante a los 12 meses de conservación, correspondiendo también a los vinos elaborados con uvas tratadas con extracto de romero los mayores valores de intensidad colorante. Este aumento fue mayor que el observado con la adición de ácido cafeico, y esto coincide con lo observado por otros autores, que atribuyeron esto a la composición más compleja de los extractos, ricos en ácidos hidroxicinámicos y flavonoides (Bimpilas et al., 2016). La mayor concentración de antocianinas provocada por el extracto de romero no provocó cambios significativos en las concentraciones de polifenoles y taninos, ni en los parámetros de calidad de los taninos.

Estos resultados coinciden con los encontrados en otros estudios en los que, al aplicarse extracto de romero, se potenció la formación inicial de un mayor porcentaje de antocianos copigmentados (Del Pozo-Insfran, 2006; Talcott et al., 2003) y un incremento de la vida media de los antocianos durante la conservación de los vinos (Brenes et al., 2005). Bimpilas et al. (2016), al aplicar en viñedo extracto de romero y otros extractos de plantas aromáticas, mostraron un aumento de las antocianinas y de la intensidad del color, superior a la observada con ácido cafeico.

En la añada 2017 encontramos una mejor madurez de la uva, que se manifiesta en mayor concentración de polifenoles totales y antocianos, y mayor astringencia de sus taninos, pero a pesar de esto, los vinos de las añadas 2016 y 2017 muestran un comportamiento similar, siendo mínimas las interacciones encontradas entre la adición de copigmentos y la añada de los vinos.

Para poder visualizar si las diferencias encontradas en la composición de los vinos permiten una clara diferenciación de ellos en función de los tratamientos aplicados en campo, se ha recogido en el gráfico 6.1 el Análisis Discriminante de los parámetros polifenólicos de los vinos analizados a los 12 meses de conservación, tratando conjuntamente los datos de las cosechas 2016 y 2017.

La primera función discriminante permite diferenciar los vinos procedentes de tratamientos con ácido cafeico en campo y los vinos testigo, mientras que la segunda función discriminante permite diferenciar con bastante éxito los vinos tratados con extracto de romero en campo.

La primera función discriminante está ligada principalmente a la concentración de antocianos totales, malvidina y petunidina y al porcentaje de antocianos polimerizados (Tabla 6.6). La segunda función discriminante, ligada principalmente a la concentración de peonidina y cianidina, y a la concentración de taninos condensados, explica otro 10,86 % de la variabilidad, correspondiendo a la tercera función solo un 3,27%.

Estos resultados confirman los obtenidos en el ANOVA previamente realizado, ya que han sido estos parámetros polifenólicos los que presentan valores superiores en los vinos tratados con extracto de romero y ácido cafeico en campo y bodega, tal como encontraron otros autores (Darias-Martín et al., 2002; Del Pozo-Insfran, 2006; Alexandre-Tudó et al., 2013; Bimpilas et al. 2016), y aunque las diferencias existentes entre los tres tratamientos de copigmentación no fueron muy elevadas, si han sido lo suficiente para que, tratados conjuntamente, nos permitan establecer 4 grupos de vinos diferenciados. Los vinos testigo clasifican correctamente en su grupo el 100% de vinos, mientras que no resulta tan precisa la separación de los vinos tratados con extracto de romero y cafeico, encontrando que un 93,75% de los vinos tratados con extracto de

romero se encuentran correctamente diferenciados, así como un 87,50% de los vinos tratados con cafeico en campo y bodega.

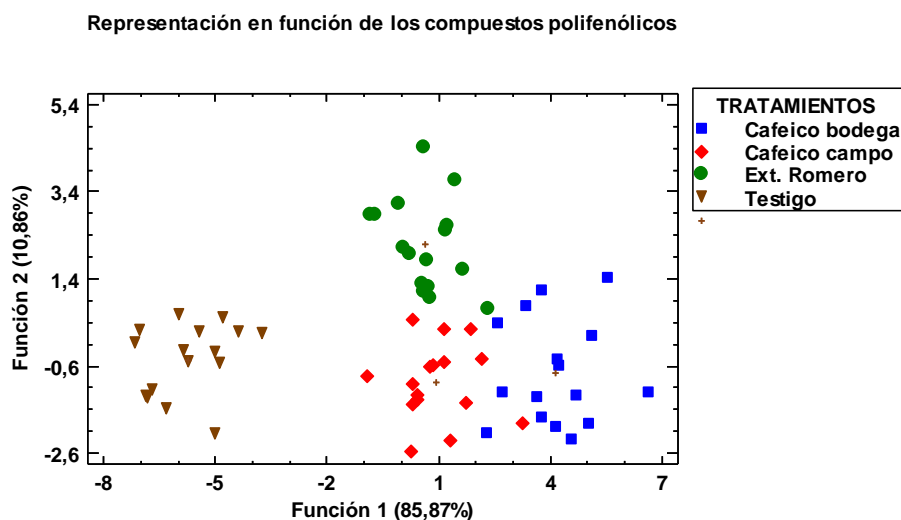


Gráfico 6.1. Representación de los vinos según los compuestos aplicados, en el espacio definido por la primera y segunda función discriminante en función de los parámetros polifenólicos.

Tabla 6.6. Coeficientes estandarizados de las 3 funciones discriminantes que permiten diferenciar los vinos según los tratamientos, en función de los compuestos polifenólicos.

Parámetros polifenólicos	Coeficientes estandarizados de las Funciones Discriminantes		
	1	2	3
Intensidad Colorante	-0,840697	0,976996	-0,915249
Tono o matiz	-0,243865	1,24662	-0,812751
% Antocianos copigmentados	-0,976393	0,231693	-0,150934
% Antocianos libres	-1,07355	1,04321	0,46387
% Antocianos polimerizados	3,0320814	1,33874	0,687217
Antocianos totales	3,64434	1,03243	-0,140421
Taninos condensados	-2,56775	2,0300995	-0,570636
Polifenoles totales	0,893892	-0,0794583	-0,329892
Índice de Fólin	-0,0189349	0,19555	0,0798413
Índice de DMACH	-0,705561	-0,351973	-0,31014
Índice de Gelatina	0,433325	0,178094	1,15487
Malvidina	2,64387	-0,526648	-0,178292
Peonidina	2,18905	-3,17596	-0,159541
Petunidina	-0,649178	-0,975143	-0,261243
Cianidina	0,19234	2,31881	1,71819
Delfinidina	-0,541815	-1,14134	-1,89613

Se ha determinado también la composición aromática de los vinos una vez concluido el proceso de conservación, a los 12 meses del embotellado, con el objetivo de realizar un análisis comparativo de los resultados y establecer si las técnicas enológicas ensayadas dan lugar a diferencias significativas en los compuestos aromáticos (tabla 6.7).

Tabla 6.7. Media, desviación estándar y ANOVA de los compuestos aromáticos de los vinos de Monastrell analizados a los 12 meses de conservación, en función de los copigmentos aplicados.

Parámetros (µg/L)	Copigmento	2016	2017	Media 2016-2017	Año p-value	Interacción Copig x Año (p)
α-pineno	Testigo	41,37±6,27a	46,48±7,05b	43,93±6,37b	ns	ns
	Ext. Romero	31,81±9,20a	32,74±11,97a	32,27±10,32a		
	Cafeico campo	36,06±3,49a	39,63±3,83ab	37,84±3,99ab		
	Cafeico bodega	34,30±9,55a	37,69±10,50ab	35,99±9,85a		
β-pineno	Testigo	14,37±1,24ab	16,15±1,40ab	15,26±1,57ab	ns	ns
	Ext. Romero	17,75±7,46b	19,50±8,20b	18,62±7,63b		
	Cafeico campo	14,01±2,81ab	15,39±3,08ab	14,70±2,94ab		
	Cafeico bodega	10,41±4,27a	11,44±4,69a	10,92±4,36a		
Isovalerato de etilo	Testigo	18,60±5,97a	20,90±6,71a	19,75±6,25b	ns	ns
	Ext. Romero	13,83±3,58a	15,20±3,94a	14,52±3,70a		
	Cafeico campo	18,96±6,48a	20,84±7,13a	19,90±6,65b		
	Cafeico bodega	18,20±3,62a	18,62±5,07a	18,41±4,26		
Acetato de isoamilo	Testigo	442,84±71,14a	437,57±79,93b	440,21±78,37b	3,78*	ns
	Ext. Romero	351,97±134,60a	386,78±147,92ab	369,37±137,80a		
	Cafeico campo	359,25±44,99a	394,78±49,44a	377,01±49,21a		
	Cafeico bodega	365,16±90,46a	401,27±99,41ab	383,22±93,69a		
Hexanoato de etilo	Testigo	171,84±37,88a	215,55±20,09b	193,70±32,08a	ns	ns
	Ext. Romero	145,37±45,54a	179,75±50,05a	162,56±46,82a		
	Cafeico campo	152,15±22,18a	167,20±24,38a	159,67±23,82a		
	Cafeico bodega	144,37±40,67a	158,65±44,69a	151,51±41,93a		
n-amyl alcohol	Testigo	43,52±7,33a	48,90±8,24b	46,21±8,03a	ns	ns
	Ext. Romero	37,65±13,15a	41,37±14,45ab	39,51±13,49a		
	Cafeico campo	43,54±11,53a	47,85±12,67b	45,69±11,91a		
	Cafeico bodega	34,73±11,69a	38,17±12,85a	36,45±12,00a		
Acetato de hexilo	Testigo	4,48±1,60a	6,85±1,86a	5,67±2,08a	ns	ns
	Ext. Romero	7,01±2,71b	8,46±2,18b	7,73±2,50ab		
	Cafeico campo	26,35±4,66c	28,46±4,90c	27,41±4,75c		
	Cafeico bodega	11,70±5,43b	12,91±5,91b	12,31±5,52b		
Lactato de etilo	Testigo	9710,64±1630,12b	10910,83±1832,23b	10310,74±1786,23b	ns	ns
	Ext. Romero	7359,68±2259,23a	8087,56±2483,78a	7723,62±2324,12a		
	Cafeico campo	10009,14±1819,13b	10999,05±1999,45b	10504,10±1916,23b		
	Cafeico bodega	7829,04±2637,45ab	8603,34±2898,98ab	8216,19±2707,56a		
Cis 3-hexenol	Testigo	9,90±3,06a	12,74±2,56b	11,32±3,10b	ns	ns
	Ext. Romero	8,63±2,49a	9,62±2,74a	9,12±2,58a		
	Cafeico campo	13,54±3,55b	14,88±3,90b	14,21±3,67c		
	Cafeico bodega	7,98±1,80a	8,02±2,37a	8,00±2,04a		
Octanoato de etilo	Testigo	20,81±7,66a	22,96±9,00a	21,89±8,15a	ns	ns
	Ext. Romero	26,29±17,08a	29,19±18,51a	27,74±17,27a		
	Cafeico campo	25,52±17,55a	28,00±19,29a	26,76±17,86a		
	Cafeico bodega	19,86±3,46a	21,02±4,55a	20,44±3,95a		
1,2 propilenglicol	Testigo	170,82±64,27c	188,84±73,91c	179,83±67,55c	ns	ns
	Ext. Romero	53,09±20,05a	58,34±22,03a	55,71±20,53a		
	Cafeico campo	84,70±35,79b	84,39±46,41ab	84,54±40,04b		
	Cafeico bodega	135,15±66,17c	134,51±86,62bc	134,83±74,46bc		

Tabla 6.7 (Continuación). Media, desviación estándar y ANOVA de los compuestos aromáticos de los vinos de Monastrell analizados a los 12 meses de conservación, en función de los copigmentos aplicados.

Parámetros (µg/L)	Copigmento	2016	2017	Media 2016-2017	Año p-value	Interacción Copig x Año (p)
Etil 3-hidroxitirato	Testigo	69,52±16,21b	78,11±18,21b	73,82±17,24b	3,41*	ns
	Ext. Romero	50,51±9,66a	55,51±10,61a	53,01±10,14a		
	Cafeico campo	55,78±10,15a	61,29±11,15a	58,53±22,37a		
	Cafeico bodega	55,92±13,31a	61,45±14,63a	58,68±13,81a		
Linalol	Testigo	48,94±7,87c	54,99±8,84b	51,97±8,67b	ns	ns
	Ext. Romero	48,91±5,48c	49,76±7,80b	49,36±6,59b		
	Cafeico campo	39,26±3,06b	42,14±3,54ab	40,80±3,53b		
	Cafeico bodega	30,86±9,57a	34,79±12,86a	32,83±11,00a		
Decanoato de etilo	Testigo	291,37±68,23a	327,38±76,67a	309,38±72,53a	ns	ns
	Ext. Romero	241,41±95,13a	265,28±104,53a	253,34±97,34a		
	Cafeico campo	288,23±63,96a	316,73±70,28a	302,48±66,56a		
	Cafeico bodega	255,43±52,23a	280,69±57,39a	268,06±54,59a		
Dietilsuccinato	Testigo	1074,88±182,62a	1207,73±205,19a	1141,31±199,79a	ns	ns
	Ext. Romero	1607,26±473,77b	1766,22±520,63b	1686,74±487,83c		
	Cafeico campo	1375,41±362,21ab	1511,44±398,04b	1443,43±374,29b		
	Cafeico bodega	1129,71±219,92a	1241,44±241,67a	1185,57±230,55a		
2 fenilacetato	Testigo	11,33±2,36a	15,93±2,89a	13,63±3,48a	5,92*	ns
	Ext. Romero	20,03±7,40b	24,80±5,30b	22,41±6,69b		
	Cafeico campo	14,51±3,14ab	21,99±7,51b	18,25±6,77b		
	Cafeico bodega	19,62±7,53b	18,87±11,85b	19,24±9,60b		
2 metoxifenol	Testigo	525,48±201,87ab	590,42±226,83a	557,95±210,13b	ns	ns
	Ext. Romero	450,13±140,90a	557,86±126,37a	504,00±140,75a		
	Cafeico campo	555,21±112,10ab	610,12±123,18a	582,66±117,26b		
	Cafeico bodega	631,08±152,08b	693,50±167,12a	662,29±157,68b		
γ-octolactona	Testigo	409,24±106,78a	491,28±111,22a	450,26±113,52a	ns	ns
	Ext. Romero	544,26±177,37b	598,09±194,91ab	571,18±182,16b		
	Cafeico campo	592,43±132,92b	651,02±146,06b	621,72±138,26b		
	Cafeico bodega	450,80±168,39ab	495,39±185,04a	473,09±172,46a		
2 feniletanol	Testigo	28581,14±5246,47a	32113,64±5894,91a	30347,39±5691,18ab	ns	ns
	Ext. Romero	31519,23±7745,04a	34636,51±8511,03a	33077,87±8024,27a		
	Cafeico campo	26938,34±2179,57a	29602,57±2395,13a	28270,45±2605,16a		
	Cafeico bodega	26452,40±7589,87a	29068,57±8340,52a	27760,49±7821,21a		
Eugenol	Testigo	95,14±13,78a	106,90±15,49ab	101,02±15,41a	ns	ns
	Ext. Romero	81,58±10,49a	88,66±11,53a	85,12±11,26a		
	Cafeico campo	89,63±28,13b	100,47±30,92a	95,05±29,10a		
	Cafeico bodega	100,83±17,39b	110,80±19,11b	105,82±18,39a		
Ácido decanoico	Testigo	48,28±26,65a	54,24±29,95a	51,26±27,56a	11,16**	4,36*
	Ext. Romero	52,15±33,73a	59,55±39,72a	55,85±35,80a		
	Cafeico campo	48,62±6,79a	53,43±7,46a	51,03±7,32a		
	Cafeico bodega	46,34±20,57a	49,55±24,90a	47,95±22,13a		
Vainillina	Testigo	38,53±16,63a	43,29±18,69a	40,91±17,27a	ns	ns
	Ext. Romero	62,13±14,22b	68,27±15,63b	65,20±14,78c		
	Cafeico campo	52,55±16,75b	59,10±17,93ab	55,82±17,10b		
	Cafeico bodega	48,09±23,42ab	52,85±25,74a	50,47±23,90ab		

* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$. *** $p < 0.001$

A los 12 meses de su elaboración, los distintos tratamientos de copigmentación aplicados, mostraron un comportamiento poco homogéneo en los 22 compuestos volátiles cuantificados. En primer lugar, la concentración de 5 de ellos no se vio influenciada por la suplementación en las uvas con extracto de romero y ácido cafeico, en ninguna de las dos añadas estudiadas (isovalerato de etilo, octanoato de etilo y decanoato de etilo en el grupo de los ésteres, el n-amylalcohol y el 2 feniletanol en los alcoholes, y el ácido decanoico). En cambio, la aplicación de extracto de romero y ácido cafeico ocasionaron el incremento de la concentración de acetato de hexilo, dietilsuccinato, 2-fenilacetato, γ -octolactona, vainillina, entre otros. Este efecto es importante organolépticamente ya que los esterres se relacionan con aromas frutales y florales, la γ -octolactona con aroma a nuez de coco y la vainillina a vainilla, todos ellos positivos para la calidad aromática del vino.

Los vinos tratados con extracto de romero mostraron valores más elevados de β -pineno, dietilsuccinato, 2-fenilacetato y vainillina, e inferiores de 1,2-propilenglicol, 2-metoxifenol y eugenol. Los vinos tratados con ácido cafeico en el viñedo destacan por su elevada concentración de acetato de hexilo, lactato de etilo y cis-3-hexenol, mientras que los vinos tratados con cafeico a la entrada en bodega mostraron la mayor concentración de 1,2-propilenglicol y 2-metoxifenol. Resulta interesante destacar el efecto en la composición aromática de la adición de copigmentos en las uvas de Monastrell, ya que afecta un número limitado de compuestos, pero éstos están directamente relacionados con aromas positivos florales, frutales y especiados.

La aplicación de extracto de romero y ácido cafeico durante la maduración de la uva parece que estimuló la biosíntesis de los precursores aromáticos conducentes a la formación de estos compuestos, efecto mucho menos evidente cuando el ácido cafeico se aplica en la bodega antes de la fermentación.

Durante los últimos años, diferentes investigadores han evaluado el efecto de la aplicación foliar de elicitors sobre el contenido en compuestos volátiles en la uva y en los vinos. Un efecto bioestimulante de la formación de compuestos aromáticos en las uvas de cv. Monastrell fue también observado al aplicar benzotiadiazol y jasmonato de metilo en el viñedo, obteniéndose vinos con mayor concentración de terpenos, acetales y ésteres (Ruiz-García et al., 2013). La aplicación de jasmonato de metilo en uvas cv. Sangiovese probó la capacidad de este compuesto para estimular la producción de aromas, identificando los principales genes implicados en las vías biosintéticas (Vitalini et al., 2014). También la aplicación en el viñedo de un aminopolisacárido como el quitosano aumentó los niveles de acetales y alcoholes totales en los vinos y la aplicación de benzotiadiazol la de acetales y ésteres totales (D'Onofrio et al., 2018).

En los gráficos 6.2 y 6.3 podemos ver la diferenciación de estos vinos en función de su composición aromática. La primera función discriminante separa los vinos tratados con cafeico en campo y bodega, mientras que la segunda separa estos vinos de los tratados con extracto de romero y de los testigos. Con el apoyo de la tercera función discriminante, que separa los vinos tratados con ácido cafeico en campo, conseguimos clasificar correctamente el 100 % de los vinos en su correspondiente grupo.

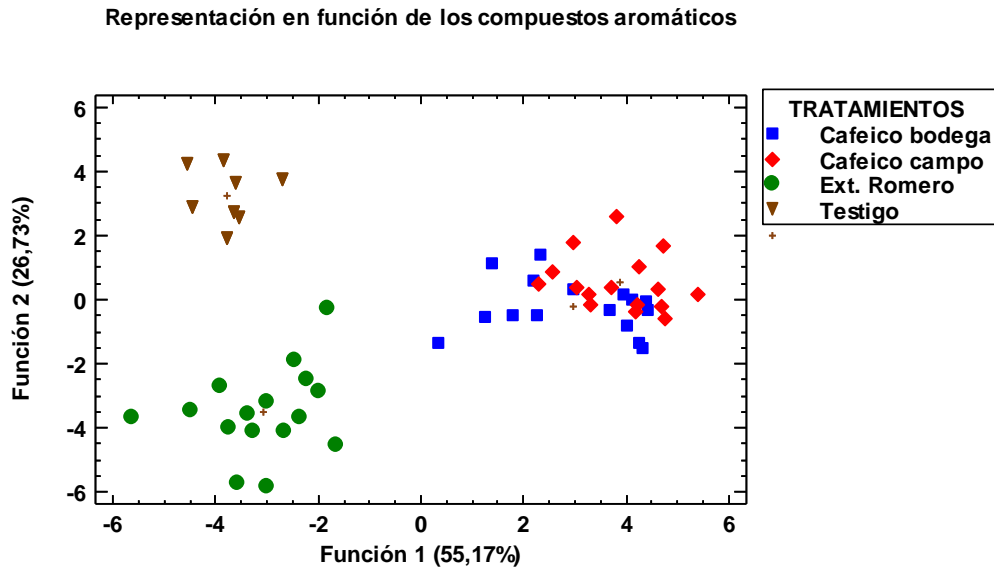


Gráfico 6.2. Representación de los vinos según los compuestos aplicados, en el espacio definido por la primera y segunda función discriminante en función de su composición aromática.

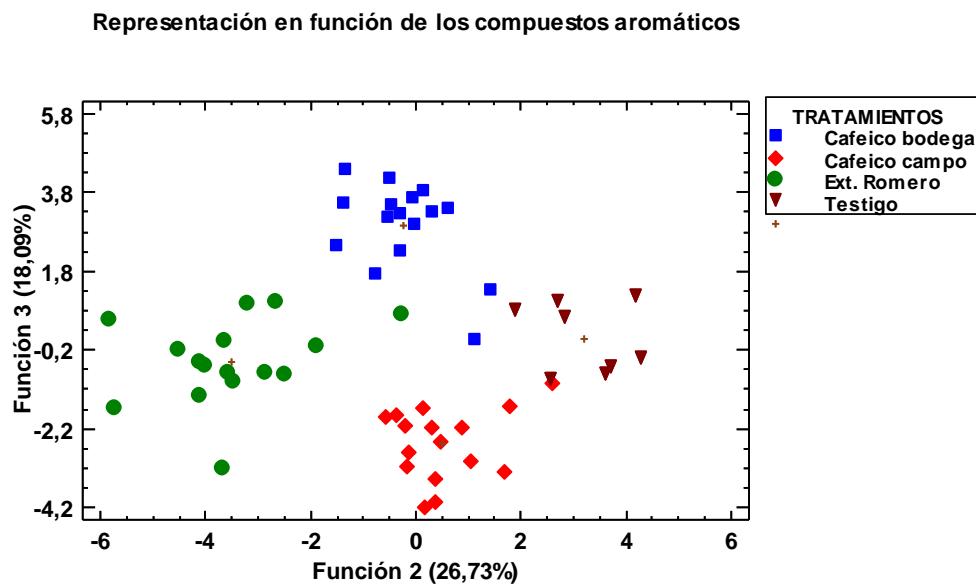


Gráfico 6.3. Representación de los vinos según los compuestos aplicados, en el espacio definido por la segunda y tercera función discriminante en función de su composición aromática.

La primera función discriminante, que separa los vinos tratados con ácido cafeico de los tratados con extracto de romero y testigos, está vinculada principalmente al 2-feniletacetato, al hexanoato de etilo, al acetato de isoamilo, y a la γ -octolactona (tabla 6.8). En la segunda función discriminante, que separa los vinos testigo de los tratados con extracto de romero y con ácido cafeico en campo y bodega, las variables que tienen más peso son el acetato de isoamilo, acetato de hexilo el cis-3-hexenol, eugenol y vainillina. Para la tercera función discriminante, que separa los vinos tratados cafeico en bodega, los componentes que tienen más peso son el etil-3-hidroxitirato, la vainillina y el cis-3-hexenol.

Tabla 6.8. Coeficientes estandarizados de las 3 funciones discriminantes que permiten diferenciar los vinos según el tratamiento, en función de los compuestos aromáticos.

Compuestos aromáticos	Coeficientes estandarizados de las Funciones Discriminantes		
	1	2	3
α -pineno	-0,248508	-0,51529	-0,317493
Isovalerato de etilo	-0,743164	0,0426491	0,253878
β -pineno	-0,214302	0,208191	0,801819
Acetato de isoamilo	2,11258	-2,00749	0,61711
Hexanoato de etilo	-2,39952	1,0775	-0,437987
n-amyl alcohol	1,46654	-1,48715	0,153444
Acetato de hexilo	1,39475	1,982106	-0,607783
Lactato de etilo	-1,5926	-0,373737	0,938828
Cis-3-hexenol	-0,855191	1,78807	1,54584
Octanoato de etilo	0,242712	-0,735161	0,771596
1,2 propilenglicol	-0,72143	1,7945	-0,936039
Etil-3-hidroxitirato	0,223215	0,685551	-1,77502
Linalol	-1,05692	-1,72409	-0,20375
Decanoato de etilo	-1,36896	0,596775	-1,1281
Dietilsuccinato	1,22125	-1,33963	0,771723
2- fenilacetato	2,26426	-0,365297	-1,15847
2-metoxifenol	-0,0225092	-1,05575	1,13513
γ -octolactona	1,41355	0,0832951	0,768559
2 feniletanol	0,910893	-1,43187	0,6071
Eugenol	0,23473	1,78195	-0,706096
Ácido decanoico	-0,0256225	-0,120973	-0,100937
Vainillina	-0,15427	1,875548	0,164787

Tal como hemos observado, la aplicación de los distintos tratamientos en campo ocasiona mayores diferencias en los compuestos aromáticos, que en los polifenólicos. Si el Análisis Discriminante se realiza conjuntamente con los parámetros polifenólicos y aromáticos (gráfico 6.4), se observan perfectamente diferenciados los 4 grupos.

Representación en función de los compuestos polifenólicos y aromáticos

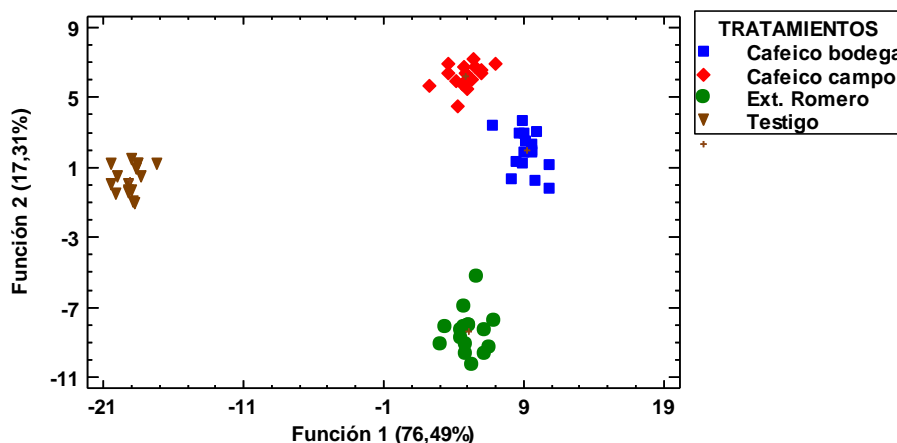


Gráfico 6.4. Representación de los vinos según los compuestos aplicados, en el espacio definido por la primera y segunda función discriminante en función de su composición polifenólica y aromática.

La primera función discriminante separa los vinos testigos del resto y está vinculada principalmente a la concentración de malvidina y petunidina, porcentaje de antocianos libres y polimerizados, concentración de antocianos totales, 2-fenilacetato, hexanoato de etilo, acetato de isoamilo, y γ -octolactona (tabla 6.9); y la segunda, ligada principalmente al porcentaje de antocianos copigmentados, libres y polimerizados, la concentración de peonidina y cianidina, el acetato de hexilo, el cis-3-hexanol y el 2-feniletanol, separa los vinos procedentes de tratamientos con extracto de romero y con cafeico en campo, consiguiéndose clasificar correctamente el 100 % de los vinos, al igual que observamos con los compuestos aromáticos.

Tabla 6.9. Coeficientes estandarizados de las 3 funciones discriminantes que permiten diferenciar los vinos según los tratamientos, en función de los compuestos polifenólicos y aromáticos.

Compuestos polifenólicos y aromáticos	Coeficientes estandarizados de las Funciones Discriminantes		
	1	2	3
Intensidad Colorante	-1,56565	-2,28114	-0,0889688
Tono o matiz	-2,10612	-1,8116	-0,234281
% Antocianos copigmentados	-2,84143	-3,58004	5,76904
% Antocianos libres	-7,41445	-4,53411	9,13476
% Antocianos polimerizados	-4,73868	-5,08305	7,97197
Antocianos totales	3,46826	-1,9045	-1,85335
Taninos condensados	-7,10858	0,595177	1,33948
Polifenoles totales	1,87669	-0,878058	-0,426568
Índice de Fólín	-1,1505	-0,488593	-0,860365
Índice de DMACH	-2,6733	-0,055099	0,65378
Índice de Gelatina	3,81934	0,692028	-0,340793
Malvidina	5,37399	1,06696	-0,0648961
Peonidina	0,316372	2,93269	-4,39593
Petunidina	3,24822	1,81075	-0,230991
Cianidina	-0,442199	-2,40359	-1,17053
Delfinidina	-1,12109	0,617744	0,633289
α -pineno	-1,97194	-0,337128	-0,684106
Isovalerato de etilo	-1,98645	0,532687	-0,569894
β -pineno	1,3395	1,3449	1,28263
Acetato de isoamilo	-0,0868873	-1,396736	-0,2027
Hexanoato de etilo	0,430873	1,05986	-0,0730381
n-amyl alcohol	-0,867018	-0,000450641	-1,48741
Acetato de hexilo	0,97304	-3,155778	-0,460118
Lactato de etilo	-0,913929	-0,10412	1,8694
Cis-3-hexenol	0,616445	2,22727	1,65724
Octanoato de etilo	3,08049	0,473058	0,22441
1,2 propilenglicol	-1,8146	1,95274	-0,671052
Etil-3-hidroxibutirato	-1,19837	-0,0127048	-1,09229
Linalol	0,810465	-1,68933	0,138354
Decanoato de etilo	-2,37275	-0,75032	-0,0792615
Dietilsuccinato	0,227169	-0,850423	1,18947
2- fenilacetato	-1,80016	-0,49905	-1,26853
2-metoxifenol	-4,02859	-1,07791	-2,43166
γ -octolactona	4,9055	1,36332	2,57724
2 feniletanol	-0,407972	-2,62295	-0,387898
Eugenol	2,48987	1,84971	0,613747
Ácido decanoico	0,0717812	-0,314042	-0,408183
Vainillina	-0,00942657	0,556312	-0,7674

6.1.1.2.2. EFECTO DE LAS TÉCNICAS DE VINIFICACIÓN EN LA COMPOSICIÓN DE LOS VINOS

En la tabla 6.10 se recogen las medias y desviaciones estándar junto con el ANOVA para los compuestos polifenólicos estudiados una vez acabada la conservación, en función de la técnica de vinificación aplicada.

El efecto de las técnicas de vinificación a los 12 meses de la conservación es similar al observado después de la fermentación maloláctica, puesto que solo encontramos diferencias en la petunidina y la delphinidina, que siguen mostrando valores superiores en los vinos macerados tradicionalmente, no observándose diferencias significativas ni en el color ni en la concentración de antocianos totales ni en el resto de los pormenorizados, en función de la técnica de vinificación empleada. Hay que destacar que la pérdida de antocianos totales fue muy pequeña en la cosecha de 2016 e inexistente en la 2017, mientras que el color se incrementó con la conservación, sin mostrar diferencias significativas entre los vinos macerados tradicionalmente o sometidos a maceración prefermentativa.

Esta misma situación fue observada en otros estudios, que no evidenciaron un efecto significativo de la maceración prefermentativa en los parámetros relacionados con el color (Okubo et al., 2003; Marais, 2003; Favre et al., 2013; González-Neves et al., 2016).

Se observa, en cambio, un incremento de los taninos condensados de los vinos macerados prefermentativamente en la cosecha 2016, y de los polifenoles totales en las dos cosechas estudiadas, siendo los vinos elaborados con maceración prefermentativa los que muestran mayor concentración de estos compuestos, y esto no puede atribuirse a una mayor extracción, puesto que en postmaloláctica no se ha observado, por tanto, sólo puede atribuirse a la mayor estabilidad polifenólica ocasionada por la maceración prefermentativa, tal como lo interpretaron Favre et al. (2013). También otros estudios pusieron de manifiesto el efecto positivo de la maceración prefermentativa sobre los compuestos polifenólicos de los vinos (Álvarez et al., 2005; Gómez-Míguez et al., 2006a; Koyama et al., 2007; Casassa et al., 2007; Gil-Muñoz et al., 2009; Gordillo et al., 2010),

Tabla 6.10. Media, desviación estándar y ANOVA en los compuestos polifenólicos de los vinos de Monastrell tratados con romero o ácido cafeico al final del proceso de conservación, en función de la técnica de vinificación aplicada.

Parámetros	Técnica vinificación	2016	2017	Media 2016-2017	Año p-value	Interacción Téc x Año (p)
Intensidad Colorante	T	10,14±1,12a	11,33±1,10a	10,73±1,25a	22,33***	ns
	MP	9,72±0,80a	10,97±0,76a	10,44±0,97a		
Tono (%)	T	74,82±3,30a	68,85±2,74a	71,83±4,25a	77,54***	ns
	MT	74,59±2,12a	68,65±1,87a	71,09±3,55a		
Antocianos Copigmentados	T	9,84±1,64a	16,04±2,15a	12,94±3,67a	132,49***	ns
	MP	10,52±1,86a	15,67±1,89a	13,55±3,16a		
Antocianos Polimerizados (%)	T	53,32±5,58a	50,80±6,90a	52,06±6,31a	13,21***	ns
	MP	52,28±2,64a	44,86±2,86a	48,37±4,88a		
Antocianos libres (%)	T	36,84±5,27a	34,16±8,23a	35,00±7,05a	ns	4,46*
	MP	37,20±2,17a	39,47±3,23a	38,08±3,70a		
Malvidina (mg/L)	T	38,78±16,96a	56,16±14,02a	47,47±17,67a	10,69**	ns
	MP	37,19±7,25a	49,57±14,35a	44,69±12,73a		

Tabla 6.10 (Continuación). Media, desviación estándar y ANOVA en los compuestos polifenólicos de los vinos de Monastrell tratados con romero o ácido cafeico al final del proceso de conservación, en función de la técnica de vinificación aplicada.

Parámetros	Técnica vinificación	2016	2017	Media 2016-2017	Año p-value	Interacción Téc x Año (p)
Peonidina (mg/L)	T	2,67±1,16a	3,59±0,82a	3,13±1,09a	ns	5,17*
	MP	3,02±0,63a	2,72±1,29a	2,91±1,10a		
Petunidina (mg/L)	T	4,88±2,26a	6,15±1,56b	5,51±2,02a	ns	ns
	MP	4,43±1,56a	4,31±1,64a	4,47±1,67a		
Cianidina (mg/L)	T	2,08±0,81a	2,33±0,61a	2,21±0,72a	ns	ns
	MP	2,20±0,66a	1,81±0,66a	2,02±0,69a		
Delfinidina (mg/L)	T	3,98±2,16a	5,01±1,63b	4,50±1,95b	ns	ns
	MP	3,85±0,94a	3,28±1,19a	3,63±1,24a		
Antocianos Totales (mg/L)	T	209,80±29,30a	313,71±54,77a	261,75±70,60a	80,82***	ns
	MP	213,08±14,34a	304,12±56,68a	258,60±77,87a		
Taninos condensados (g/L)	T	1,80±0,43a	2,38±0,24a	2,09±0,32a	ns	8,52**
	MP	2,47±0,59b	2,53±0,45b	2,54±0,53b		
Polifenoles Totales (g/L)	T	1,96±0,06a	1,87±0,11a	1,91±0,10a	ns	ns
	MP	2,10±0,10b	1,96±0,10b	2,02±0,12b		
Índice de Folin	T	50,14±4,57a	51,28±5,97a	50,71±5,26a	ns	6,93*
	MP	54,21±5,89b	48,88±4,17a	51,51±5,62a		
Índice de DMACH (%)	T	50,50±10,46a	44,08±11,08a	47,29±11,09a	ns	12,32**
	MP	43,29±8,65a	57,52±13,79b	51,17±13,52a		
Índice de Gelatina (%)	T	23,24±2,84a	38,89±10,20a	31,06±10,84a	79,62***	ns
	MP	23,03±3,62a	40,77±8,44a	33,44±11,07a		

T: tradicional, MP: maceración prefermentativa; * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$. *** $p < 0.001$

La aplicación de copigmentos en el viñedo, junto con la realización de maceración prefermentativa, parece afectar a la composición polifenólica de los vinos de Monastrell, ya que da lugar a vinos con mayor concentración de taninos que repercuten en la concentración de polifenoles totales, lo que ocasiona vinos con mayor cuerpo y estructura.

El Análisis Discriminante aplicado a los compuestos polifenólicos nos ha permitido comprobar que las diferencias observadas permiten diferenciar los vinos testigo de los tratados con copigmentos fermentados con vinificación tradicional y con maceración prefermentativa (gráfico 6.5).

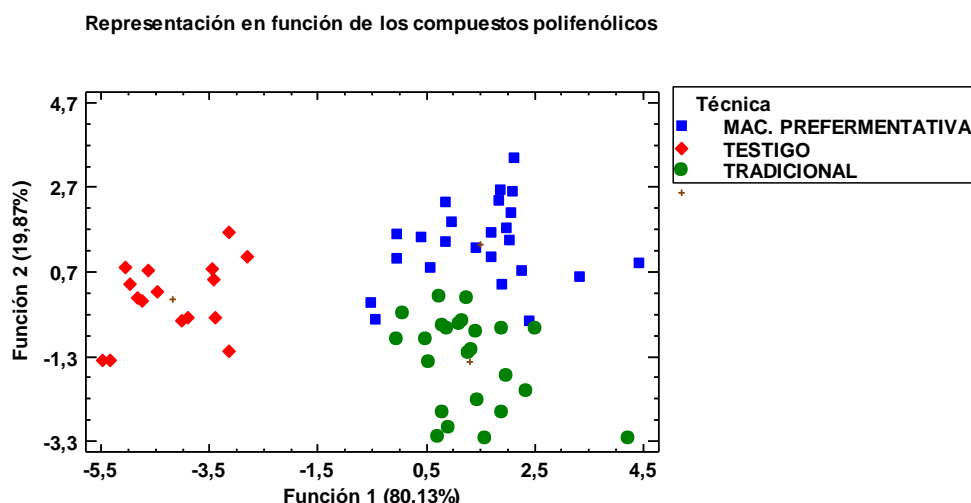


Gráfico 6.5. Representación de los vinos según la técnica de vinificación, en el espacio definido por la primera y segunda función discriminante en función de su composición polifenólica.

La primera función discriminante nos permite diferenciar los vinos testigo de los tratados con copigmentos, independientemente de que hayan sido sometidas a maceración tradicional o prefermentativa, y está ligada principalmente a la concentración de antocianos totales, taninos condensados y malvidina y permite separar al 100 % de los vinos testigo de los copigmentados. La segunda función discriminante, ligada principalmente al porcentaje de antocianos copigmentados, polimerizados y libres (tabla 6.11), permite separar el 87,5% de los vinos de uvas tratadas con copigmentos vinificados tradicionalmente o con maceración prefermentativa. El efecto de la maceración prefermentativa sobre la concentración de antocianos y su grado de copigmentación y polimerización, fue reportada también por otros autores (Álvarez et al., 2006, 2009; Puertas et al., 2008; Aleixandre-Tudó et al., 2016; González-Neves et al., 2015).

Tabla 6.11. Coeficientes estandarizados de las 2 funciones discriminantes que permiten diferenciar los vinos según la técnica de vinificación, en función de los compuestos polifenólicos.

Compuestos polifenólicos	Coeficientes estandarizados de las Funciones Discriminantes	
	1	2
Intensidad Colorante	0,111951	-0,22951
Tono o matiz	0,5524	-0,0261686
% Antocianos copigmentados	-0,185084	3,33791
% Antocianos libres	-0,48671	5,03255
% Antocianos polimerizados	0,522049	4,96565
Antocianos totales	1,47943	0,799306
Taninos condensados	-1,45102	1,3366
Polifenoles totales	0,698778	0,462522
Índice de Fólin	0,0115809	0,0371644
Índice de DMACH	-0,359717	1,33793
Índice de Gelatina	-0,24751	-1,81569
Malvidina	1,78804	-0,119002
Peonidina	0,676737	0,427354
Petunidina	-0,683792	-0,901364
Cianidina	0,0524274	-0,166064
Delfinidina	0,120949	-0,471134

En la tabla 6.12 se muestra la composición aromática de los vinos tratados con extracto de romero y ácido cafeico una vez concluido el proceso de conservación, a los 12 meses del embotellado. De los 22 compuestos volátiles cuantificados, en 10 de ellos no hay un efecto significativo de la técnica de maceración utilizada sobre la composición volátil del vino; en cambio, la vinificación tradicional incrementa la concentración del n-amyl alcohol, 2-feniletanol y ácido decanoico.

Es importante destacar que la maceración prefermentativa en frío aumentó la concentración de muchos compuestos volátiles de gran importancia para la calidad de los vinos, particularmente de ésteres y acetatos (acetato de isoamilo, acetato de hexilo, 2-feniletacetato, octanoato y decanoato de etilo. La combinación de la aplicación de copigmentos junto con la maceración prefermentativa resulta favorable para la calidad aromática de los vinos, ya que provoca un aumento significativo de muchos de los ésteres responsables de aromas positivos en el vino.

Estos resultados coinciden con los obtenidos por De Santis y Frangipane (2010) y Selli et al. (2006). También con los obtenidos por Álvarez et al. (2006) en un estudio sobre la maceración prefermentativa en frío en el que los vinos elaborados mediante esta técnica presentaban mayores concentraciones de acetatos y ésteres totales, pudiendo atribuirse la mayor concentración aromática de los vinos macerados prefermentativamente al efecto extractivo de esta técnica sobre los componentes del hollejo. Este efecto también podría explicarse porque mediante esta técnica de maceración en frío es posible el desarrollo de levaduras criófilas y su influencia en la liberación de ciertos aromas, especialmente ésteres volátiles (acetato de fenil 2-etilo, que recuerda a rosas), lo que supondría una de las ventajas de esta técnica, citadas por otros autores (Charpentier y Feuillat, 1998; Cai et al., 2014; Casassa y Sari 2015; Mihnea et al., 2015). González-Neves et al. (2015) hizo una observación similar y planteó la posibilidad de que este efecto resultara de la acción de las levaduras no-Saccharomyces durante el período de enfriamiento, que pueden comenzar la fermentación generando aromas varietales, especialmente ésteres volátiles, y disminuir las notas herbáceas.

Tabla 6.12. Media, desviación estándar y ANOVA de los aromas de los vinos de Monastrell tratados con romero o ácido cafeico a los 12 meses de conservación, en función de la técnica de vinificación.

Parámetros (µg/L)	Técnica vinificación	2016	2017	Media 2016-2017	Año p-value	Interacción Téc x Año (p)
α-pineno	T	39,23±7,21a	43,37±8,06b	41,30±7,81b	ns	ns
	MP	32,54±7,51a	34,90±9,85a	33,72±8,70a		
β-pineno	T	12,59±1,36a	13,92±1,56a	13,26±1,59a	ns	ns
	MT	15,67±6,81a	17,32±7,48a	16,50±7,08a		
Isovalerato de etilo	T	16,81±3,04a	18,59±3,44a	17,70±3,32a	ns	ns
	MP	17,98±6,90a	19,19±7,96a	18,58±7,35a		
Acetato de isoamilo	T	329,66±75,43a	364,68±85,16a	347,17±81,11a	3,49*	ns
	MP	429,95±32,91b	475,53±97,27b	452,74±93,24b		
Hexanoato de etilo	T	147,33±39,81a	163,17±45,78a	155,25±42,96a	ns	ns
	MP	169,53±32,91a	187,40±36,52a	178,47±35,38a		
n-amyl alcohol	T	47,94±7,77b	52,97±8,53b	50,45±8,43b	4,08*	ns
	MP	31,78±7,93a	35,17±9,05a	33,48±8,55a		

Tabla 6.12 (Continuación). Media, desviación estándar y ANOVA de los aromas de los vinos de Monastrell tratados con romero o ácido cafeico a los 12 meses de conservación, en función de la técnica de vinificación.

Parámetros (µg/L)	Técnica vinificación	2016	2017	Media 2016-2017	Año p-value	Interacción Téc x Año (p)
Acetato de hexilo	T	9,51±8,64a	11,31±8,90a	10,41±8,68a	ns	ns
	MP	15,26±9,45b	17,03±9,51a	16,14±9,37a		
Lactato de etilo	T	9796,13±1702a	10826,04±1891b	10311,08±1845a	ns	ns
	MP	7658,12±2429a	8474,36±2722a	8066,24±2571a		
Cis 3-hexenol	T	8,83±2,49a	10,26±3,20a	9,55±2,91a	ns	ns
	MP	11,19±3,92a	12,37±4,34a	11,78±4,11a		
Octanoato de etilo	T	16,06±2,53a	17,24±2,50a	16,65±2,54a	ns	ns
	MP	30,18±14,73b	33,34±16,17b	31,76±15,30b		
1,2 propilenglicol	T	126,87±84,97a	136,37±98,89a	131,62±90,83a	ns	ns
	MP	95,01±37,03a	96,67±44,50a	95,84±40,28a		
3-hidroxitirato de etilo	T	53,91±9,69a	59,60±10,89a	56,76±10,54a	ns	ns
	MT	61,95±16,56a	68,58±18,87a	65,26±17,78 ^a		
Linalol	T	40,84±9,93a	39,95±14,38a	40,37±12,30a	ns	ns
	MP	42,75±10,85a	47,89±10,72a	45,32±10,93a		
Decanoato de etilo	T	215,60±42,88a	238,49±48,82a	227,05±46,67a	5,13*	ns
	MP	322,62±50,98b	356,55±56,97b	339,58±55,90b		
Dietil succinato	T	1275,97±467,10a	1408,10±509,41a	1342,04±485,43a	ns	ns
	MP	1317,66±284,36a	1455,31±309,47a	1386,49±300,60a		
2 fenilacetato	T	14,39±5,65a	16,78±3,11a	15,58±4,64a	5,32*	ns
	MP	23,36±9,33b	29,02±8,15b	26,19±9,09b		
2 metoxifenol	T	538,85±147,23a	628,06±135,73a	583,46±146,48a	ns	ns
	MP	542,10±179,51a	597,88±195,00a	569,99±186,53a		
γ-octolactona	T	432,73±119,05a	478,30±132,24a	455,51±125,92a	ns	ns
	MP	565,63±170,79b	639,59±167,36b	602,61±170,53b		
2 feniletanol	T	31758,42±4420,12b	35098,37±4915,76b	33428,40±4901,87b	ns	ns
	MP	24987,13±5857,34a	27612,28±6448,34a	26299,71±6205,65a		
Eugenol	T	98,12±27,74a	108,45±30,63a	103,28±29,22a	ns	ns
	MP	90,48±16,55a	99,97±18,18a	95,22±17,77a		
Ácido decanoico	T	68,45±12,75b	76,78±15,95b	72,61±14,82b	ns	ns
	MP	29,25±10,44a	31,61±12,41a	30,43±11,35a		
Vainillina	T	49,51±15,56a	54,70±17,09a	52,11±16,29a	ns	ns
	MP	51,14±22,82a	57,06±24,86a	54,10±23,66a		

T: tradicional, MP: maceración prefermentativa; * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$. *** $p < 0.001$

En el gráfico 6.6 podemos ver que el Análisis Discriminante aplicado a los componentes aromáticos, permite una perfecta diferenciación de los vinos testigo, los tratados con copigmentos sometidos a maceración tradicional y a vinificación con maceración prefermentativa. La primera función discriminante separa los vinos sometidos a maceración prefermentativa del resto, siendo el acetato de isoamilo, el acetato de hexilo, cis-3-hexenol, la γ-octolactona y el octanoato de etilo, los compuestos que más contribuyen a esta separación, mientras que la segunda función discriminante permite diferenciar perfectamente los vinos sometidos a maceración tradicional y los testigos, siendo principalmente la concentración de 2-metoxifenol y eugenol, los que más contribuyen a esta separación (tabla 6.13).

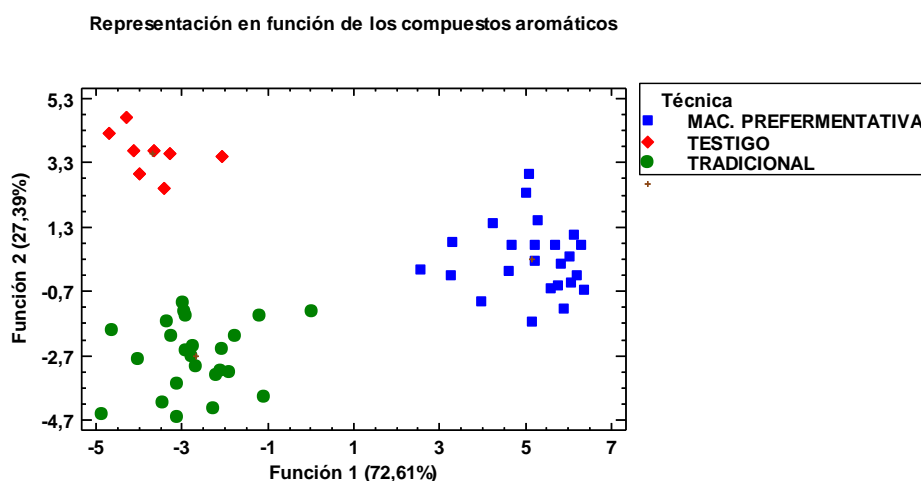


Gráfico 6.6. Representación de los vinos según la técnica de vinificación, en el espacio definido por la primera y segunda función discriminante en función de su composición aromática.

Tabla 6.13. Coeficientes estandarizados de las 2 funciones discriminantes que permiten diferenciar los vinos según la técnica de vinificación, en función de los compuestos aromáticos.

Compuestos aromáticos	Coeficientes estandarizados de las Funciones Discriminantes	
	1	2
α -pineno	-0,176846	0,090392
Isovalerato de etilo	-0,490326	0,489817
β -pineno	0,556374	-0,638728
Acetato de isoamilo	1,389372	0,378397
Hexanoato de etilo	0,477101	0,493389
n-amyl alcohol	-0,278647	0,431235
Acetato de hexilo	0,84169	-0,569797
Lactato de etilo	-0,63388	0,140518
Cis-3-hexenol	1,10941	-0,222081
Octanoato de etilo	0,952472	0,250627
1,2 propilenglicol	-0,597701	-0,182614
Etil-3-hidroxibutirato	-0,4751	0,736712
Linalol	-0,0336265	0,649259
Decanoato de etilo	-0,239008	0,509702
Dietilsuccinato	0,306074	-0,420845
2- fenilacetato	0,164995	-0,098891
2-metoxifenol	0,632105	1,075941
γ -octolactona	1,18336	-0,176856
2 feniletanol	0,305274	0,0576555
Eugenol	-0,313943	-0,749267
Ácido decanoico	0,0273313	-0,0309816
Vainillina	0,896716	0,0475703

Si el Análisis Discriminante lo realizamos con los parámetros polifenólicos y aromáticos (gráfico 6.7), la diferenciación de estos grupos de vinos es completa (100 % de los vinos clasificados correctamente), diferenciando la primera función discriminante a los vinos testigos de los tratados con copigmentos principalmente por el porcentaje de

antocianos libres, copigmentados y polimerizados, la de malvidina y taninos condensados, 2-metoxifenol y γ -octolactona, entre otros. La segunda función discriminante permite diferenciar perfectamente los tres grupos de vinos, siendo principalmente los antocianos copigmentados, la concentración de delphinidina, el etil-3-hidroxi-butirato, el n-amyl alcohol, y el eugenol, los que más contribuyen a esta diferenciación (tabla 6.14).

Representación en función de los compuestos polifenólicos y aromáticos

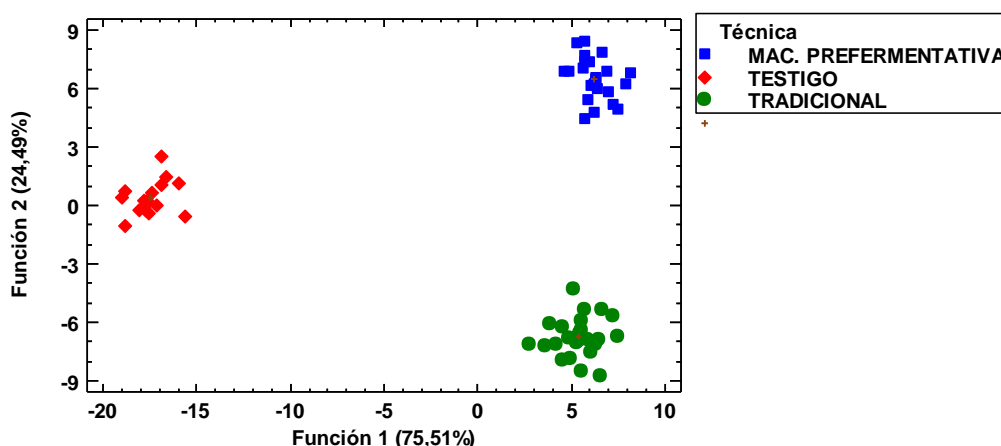


Gráfico 6.7. Representación de los vinos según la técnica de vinificación, en el espacio definido por la primera y segunda función discriminante en función de su composición polifenólica y aromática.

Tabla 6.14. Coeficientes estandarizados de las 2 funciones discriminantes que permiten diferenciar los vinos según la técnica de vinificación, en función de los compuestos polifenólicos y aromáticos.

Compuestos polifenólicos y aromáticos	Coeficientes estandarizados de las Funciones Discriminantes	
	1	2
Intensidad Colorante	-1,33003	0,503722
Tono o matiz	-1,81829	1,1181
% Antocianos copigmentados	-2,30446	2,30991
% Antocianos libres	-2,10072	1,99725
% Antocianos polimerizados	2,31649	1,42973
Antocianos totales	0,732434	2,5624
Taninos condensados	-5,83555	0,571523
Polifenoles totales	1,47243	0,625998
Índice de Fólin	-1,37663	1,65141
Índice de DMACH	-1,95447	0,629134
Índice de Gelatina	1,17399	-1,35209
Malvidina	4,8559	-1,59591
Peonidina	-1,86836	1,16241
Petunidina	2,94026	1,22435
Cianidina	-0,903272	0,0967304
Delphinidina	-0,959441	-2,41598
α -pineno	-2,02717	0,421683
Isovalerato de etilo	-2,06905	0,602342
β -pineno	2,57996	-0,156317
Acetato de isoamilo	-0,151078	-0,152558
Hexanoato de etilo	0,337103	0,647918
n-amyl alcohol	-1,34898	1,60017

Tabla 6.14 (Continuación). *Coefficientes estandarizados de las 2 funciones discriminantes que permiten diferenciar los vinos según la técnica de vinificación, en función de los compuestos polifenólicos y aromáticos.*

Compuestos polifenólicos y aromáticos	Coeficientes estandarizados de las Funciones Discriminantes	
	1	2
Acetato de hexilo	0,770043	0,44107
Lactato de etilo	-0,0304709	-0,869481
Cis-3-hexenol	0,915953	1,41474
Octanoato de etilo	1,83956	0,451504
1,2 propilenglicol	-2,24273	-1,0626
Etil-3-hidroxibutirato	-1,45275	0,0352032
Linalol	0,706194	0,400263
Decanoato de etilo	-2,0591	0,439078
Dietilsuccinato	0,82117	0,0208407
2- fenilacetato	-2,30724	-0,122576
2-metoxifenol	-4,15174	2,9681
γ -octolactona	5,43999	0,989436
2 feniletanol	-0,340044	0,555169
Eugenol	2,3131	-1,87958
Ácido decanoico	-0,0507522	0,477185
Vainillina	-0,267071	1,27827

6.1.1.2.3. EFECTO DE LA APLICACIÓN DE ACETALDEHÍDO EN LA COMPOSICIÓN DE LOS VINOS

En la tabla 6.15 se recogen las medias y desviaciones estándar junto con el ANOVA para los compuestos polifenólicos estudiados una vez acabada la conservación, en función de la aplicación o no de acetaldehído.

La aplicación de acetaldehído dio lugar al cabo de 12 meses a modificaciones en la composición polifenólica de los vinos, ocasionando un incremento de la fracción de los antocianos polimerizados, significativa en la cosecha de 2017, debido a que la presencia de acetaldehído provoca una polimerización de antocianos mediadas por puentes de etilo (Han et al., 2019). Las reacciones de condensación provocan una estabilidad de las moléculas condensadas frente a reacciones de oxidación, modificaciones de pH, SO₂ (Forino et al., 2020), que explicaría el incremento de antocianos pormenorizados encontrado, especialmente la malvidina y que da lugar al incremento de los antocianos totales en la cosecha de 2017.

También se observa con la adición de acetaldehído incrementa la concentración de los taninos condensados y de los polifenoles totales expresados por el índice de Fólín, en las dos cosechas estudiadas, siendo significativo este incremento en la cosecha 2017, así como un incremento del grado de polimerización y la astringencia de los taninos, que es también significativo en 2017, y en la media de los dos años.

La microoxigenación inducida, proceso que consiste en la adición de oxígeno para dar lugar a acetaldehído a partir de la oxidación del etanol, ha sido ampliamente estudiado (Pérez-Magariño et al., 2007; Gómez-Plaza y Cano-López, 2011; Han et al., 2015, 2019) y cabe destacar con su aplicación una mejora del color en vinos tintos, de la estabilización del color por formación de pigmentos poliméricos entre antocianos y taninos, y del sabor y estructura de los vinos.

Estos resultados coinciden con los observados en nuestros vinos suplementados con extracto de romero y ácido cafeico, salvo en la mejora del color que, aunque se

observa un mayor color en los vinos adicionados de acetaldehído, este incremento no llega a ser significativo en ninguna de las dos añadas. Tampoco se observan diferencias en el tono, parámetro que en otros estudios se ve incrementado por la adición de oxígeno, pero que al introducirse directamente el acetaldehído en cantidades muy pequeñas no afecta a la oxidación de sus antocianos (Han et al., 2019).

Tabla 6.15. Media, desviación estándar y ANOVA en los compuestos polifenólicos de los vinos de Monastrell tratados con romero o ácido cafeico al final del proceso de conservación, en función de la aplicación de acetaldehído.

Parámetros	Aplicación Acetaldehído	2016	2017	Media 2016-2017	Año p-value	Interacción Acetal x Año (p)
Intensidad Colorante	SIN	9,74±1,05a	10,90±0,74a	10,36±1,06a	ns	ns
	CON	10,18±0,94a	11,39±1,08a	10,83±1,18a		
Tono (%)	SIN	74,94±3,07a	69,59±2,70a	72,09±3,92a	83,98***	ns
	CON	74,50±2,62a	67,91±1,49a	70,99±3,92a		
Antocianos Copigmentados (%)	SIN	11,29±1,09a	14,75±1,83a	13,13±2,31a	23,62***	ns
	CON	9,97±1,48a	16,97±1,51a	13,23±4,32a		
Antocianos Polimerizados (%)	SIN	52,08±4,71a	45,25±3,86a	48,43±5,45a	ns	ns
	CON	55,68±4,35a	50,41±6,74b	51,93±5,89a		
Antocianos libres (%)	SIN	36,64±4,92a	40,01±3,92a	38,43±4,66b	ns	9,02**
	CON	37,36±3,40a	35,63±7,41a	34,83±6,27a		
Malvidina (mg/L)	SIN	31,88±8,94a	45,81±12,60a	39,31±12,95a	10,92**	ns
	CON	44,31±14,66b	53,93±17,13a	49,44±16,49b		
Peonidina (mg/L)	SIN	2,46±0,80a	2,92±1,04a	2,71±0,95a	ns	ns
	CON	3,17±1,02b	3,39±1,25b	3,29±1,13b		
Petunidina (mg/L)	SIN	3,80±1,17a	4,86±1,00a	4,37±1,19a	ns	ns
	CON	5,56±2,24b	5,60±2,38a	5,58±2,28b		
Cianidina (mg/L)	SIN	1,89±0,63a	1,88±0,53a	1,89±0,57a	ns	ns
	CON	2,37±0,78a	2,27±0,76a	2,31±0,76a		
Delfinidina (mg/L)	SIN	3,20±0,74a	3,46±0,85a	3,34±0,80a	ns	ns
	CON	4,65±2,10b	4,83±1,99b	4,75±2,01b		
Antocianos Totales (mg/L)	SIN	201,90±22,96a	308,79±57,72a	260,37±63,93a	82,13***	7,62**
	CON	207,66±21,49a	349,05±50,10b	278,35±86,06a		
Taninos condensados (g/L)	SIN	1,81±0,10a	1,91±0,14a	1,88±0,14a	ns	ns
	CON	1,99±0,09b	2,29±0,09b	2,15±0,09b		
Polifenoles Totales (g/L)	SIN	2,16±0,55a	2,28±0,53a	2,25±0,53a	ns	ns
	CON	2,19±0,62a	3,03±0,59b	2,61±0,82a		
Índice de Folin	SIN	48,86±2,68a	48,57±4,04a	48,70±3,41a	ns	ns
	CON	54,92±5,94b	50,99±6,19b	52,82±6,29b		
Índice de DMACH (%)	SIN	45,01±7,76a	45,87±14,15a	45,47±11,44a	ns	ns
	CON	49,81±12,02a	55,73±12,54b	52,97±12,45b		
Índice de Gelatina (%)	SIN	24,32±3,13a	32,01±5,08a	28,42±5,74a	50,70***	22,85***
	CON	25,98±2,77a	47,65±4,57b	37,57±13,56b		

Sin: sin acetaldehído; Con: con acetaldehído; * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$. *** $p < 0.001$

Si realizamos con los vinos copigmentados un Análisis Discriminante (gráfico 6.8), incorporando a ellos vinos testigo que no proceden de tratamientos de copigmentación, podemos observar que la primera función discriminante, ligada

principalmente a la concentración de antocianos, antocianos libres, malvidina y peonidina, permite una perfecta diferenciación entre los vinos testigo y los tratados con copigmentos, mientras que la segunda función discriminante permite una aceptable diferenciación en los vinos procedentes de uvas tratadas con copigmentos (95,83% de los vinos), en función de que se haya aplicado o no acetaldehído en su conservación, siendo la fracción de antocianos polimerizados y la concentración de polifenoles totales y taninos, los que más contribuyen a esta diferenciación (tabla 6.16). En anteriores estudios, la aplicación de acetaldehído simulando el proceso de microoxigenación, ha dado resultados similares a los encontrados en estos vinos (Escribano-Bailón et al., 2001; Aleixandre-Tudó et al., 2009; Han et al., 2019).

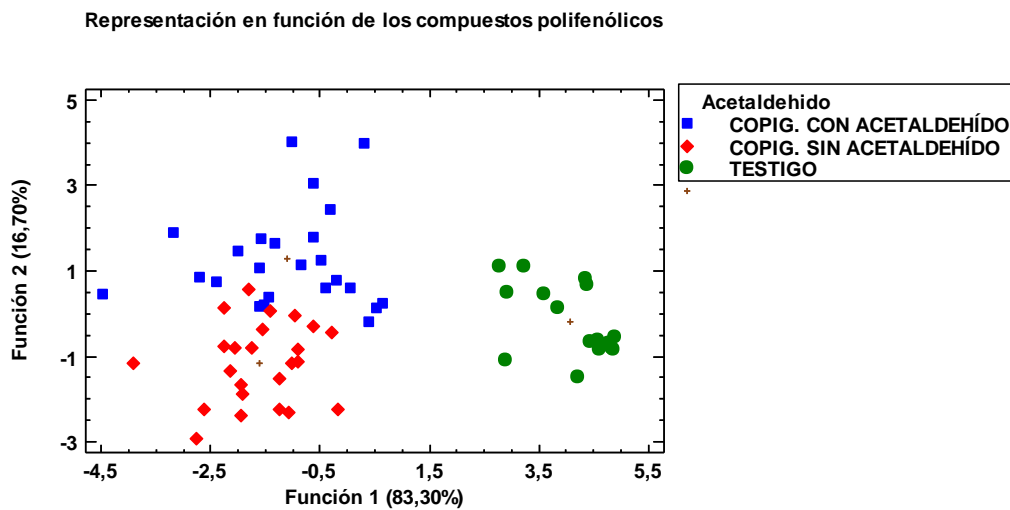


Gráfico 6.8. Representación de los vinos según la aplicación de acetaldehído, en el espacio definido por la primera y segunda función discriminante en función de su composición polifenólica.

Tabla 6.16. Coeficientes estandarizados de las 2 funciones discriminantes que permiten diferenciar los vinos según la aplicación de acetaldehído, en función de los compuestos polifenólicos.

Compuestos polifenólicos	Coeficientes estandarizados de las Funciones Discriminantes	
	1	2
Intensidad Colorante	-0,16016	-0,710302
Tono o matiz	-0,678489	-0,876039
% Antocianos copigmentados	0,723238	0,533456
% Antocianos libres	2,37769	1,90324
% Antocianos polimerizados	0,259654	1,90087
Antocianos totales	-1,71147	-1,51894
Taninos condensados	1,48152	1,315596
Polifenoles totales	-0,740856	-0,328211
Índice de Fólín	0,00128178	0,166963
Índice de DMACH	0,5669	0,577768
Índice de Gelatina	0,534885	1,14069
Malvidina	-1,51098	0,885792
Peonidina	0,355901	0,55518
Petunidina	1,12691	-1,03394
Cianidina	-0,392192	-0,259358
Delfinidina	0,175362	0,732543

En la Tabla 6.17 se recoge la composición aromática de los vinos en función de la adición de acetaldehído, una vez concluido el proceso de conservación, a los 12 meses del embotellado.

Tabla 6.17. Media, desviación estándar y ANOVA de los aromas de los vinos tratados con romero o ácido cafeico al final de la conservación, en función de la adición de acetaldehído.

Parámetros (µg/L)	Aplicación Acetaldehído	2016	2017	Media 2016-2017	Año p-value	Interacción Acet x Año (p)
α-pineno	SIN	34,48±7,63a	37,65±9,31a	36,07±8,53a	ns	ns
	CON	37,28±8,37a	40,62±10,43a	38,95±9,46a		
β-pineno	SIN	14,88±6,78a	16,37±7,45a	15,66±7,05a	ns	ns
	CON	13,39±2,47a	14,80±2,76a	14,09±2,67a		
Isovalerato de etilo	SIN	16,69±5,37a	17,97±6,13a	17,22±5,69a	ns	ns
	CON	18,11±5,26a	20,03±5,92a	19,07±5,59a		
Acetato de isoamilo	SIN	369,44±111,31a	412,62±123,96a	389,02±117,58a	ns	ns
	CON	390,17±76,38a	431,60±87,29a	410,88±83,38a		
Hexanoato de etilo	SIN	163,93±42,15a	185,06±47,10a	172,62±44,84a	ns	ns
	CON	152,94±33,02a	169,27±38,04a	161,10±36,01a		
n-amyl alcohol	SIN	41,53±12,98a	46,58±14,35a	43,73±13,64a	ns	ns
	CON	38,19±9,39a	42,22±10,51a	40,20±10,01a		
Acetato de hexilo	SIN	11,49±8,48a	12,96±8,24a	12,23±8,26a	ns	ns
	CON	13,28±10,39a	15,38±10,78a	14,33±10,47a		
Lactato de etilo	SIN	8529,31±2956,35a	9647,83±3269,98a	8979,30±3100,12a	3,85*	ns
	CON	8924,94±1552,43a	9871,10±1773,76a	9398,02±1708,34a		
Cis 3-hexenol	SIN	10,42±3,14a	11,76±3,67a	11,09±3,43a	ns	ns
	CON	9,60±3,79a	10,87±4,19a	10,23±3,98a		
Octanoato de etilo	SIN	24,00±12,56a	26,08±13,99a	25,04±13,12a	ns	ns
	CON	22,24±13,06a	24,51±14,45a	23,37±13,60a		
1,2 propilenglicol	SIN	91,49±44,00a	99,89±47,70a	95,69±45,34a	ns	ns
	CON	130,39±79,94a	133,14±98,67a	131,77±88,35a		
3-hidroxitirato de etilo	SIN	59,83±16,04a	66,70±18,12a	63,00±17,14a	ns	ns
	CON	56,04±11,74a	62,00±13,41a	59,02±12,76a		
Linalol	SIN	41,62±9,70a	43,57±13,22a	42,59±11,45a	ns	ns
	CON	42,13±11,31a	44,28±13,42a	43,27±12,32a		
Decanoato de etilo	SIN	269,24±74,02a	297,85±81,58a	283,38±77,96a	ns	ns
	CON	268,97±71,18a	297,52±80,04a	283,25±75,91 ^a		
Dietil succinato	SIN	1298,49±395,34a	1424,23±430,42a	1365,80±412,25a	ns	ns
	CON	1295,14±379,04a	1430,29±413,76a	1362,72±396,32a		
2 fenilacetato	SIN	18,72±9,25a	23,22±9,20a	20,97±9,36a	3,27*	ns
	CON	19,02±8,74a	22,58±8,44a	20,80±8,64a		
2 metoxifenol	SIN	492,56±160,07a	560,45±167,39a	526,50±164,76a	7,62**	ns
	CON	588,39±152,92a	665,50±151,74a	626,95±154,89a		
γ-octolactona	SIN	502,14±172,28a	561,79±181,87a	531,96±176,88a	ns	ns
	CON	496,22±151,87a	556,09±162,10a	526,16±157,48a		
2 feniletanol	SIN	28374,65±7966,45a	31811,62±8733,76a	29858,98±8360,12a	ns	ns
	CON	28370,90±3851,43a	31367,34±4401,98a	29869,12±4343,54a		

Tabla 6.17 (Continuación). Media, desviación estándar y ANOVA de los aromas de los vinos tratados con romero o ácido cafeico al final de la conservación, en función de la adición de acetaldehído.

Parámetros (µg/L)	Aplicación Acetaldehído	2016	2017	Media 2016-2017	Año p-value	Interacción Acet x Año (p)
Eugenol	SIN	96,97±25,50a	108,15±27,89a	102,04±26,79a	ns	ns
	CON	91,62±20,22a	101,31±22,60a	96,47±21,66a		
Ácido decanoico	SIN	47,74±22,18a	52,77±24,58a	50,25±23,17a	ns	ns
	CON	49,96±24,41a	55,62±29,81a	52,79±26,96a		
Vainillina	SIN	45,60±14,45a	51,05±16,06a	48,33±15,28a	ns	ns
	CON	55,05±22,54a	60,70±24,61a	57,88±23,39a		

Sin: sin acetaldehído; Con: con acetaldehído; * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$. *** $p < 0.001$

En los vinos tratados con extracto de romero y ácido cafeico, en campo y bodega, no se observan diferencias significativas en sus compuestos aromáticos en función de que hayan sido microoxigenados mediante adición de acetaldehído. Estos resultados son similares durante los dos años estudiados, y las medias de los dos años tampoco muestran diferencias significativas, ni interacción entre la adición o no de acetaldehído y la añada.

Estos resultados coinciden con los encontrados por Ortega-Heras et al. (2008) que no observaron cambios significativos en la concentración de compuestos volátiles, concluyendo que el efecto de la microoxigenación sobre los volátiles del vino depende de las principales características del vino, como cultivar, origen o añada. Se han encontrado resultados contradictorios en la literatura con respecto al efecto de la microoxigenación, Cejudo-Bastante et al. (2011a, b, c) informaron efectos variables según el grupo volátil o el compuesto individual investigado. Hernández-Orte et al. (2009), remarcaron el que efecto de la microoxigenación depende en gran medida del cultivar de uva. Sin embargo, estudios realizados por Alexandre-Tudó et al. (2016) y Sáenz-Navajas et al. (2018), mostraron el efecto positivo del acetaldehído en la composición de las sustancias volátiles de los vinos tempranillo después de 12 meses de crianza, siendo los ésteres y ácidos grasos los más afectados.

Anteriormente hemos observado que no existían diferencias significativas en los compuestos aromáticos de los vinos en función de la adición de acetaldehído, y esto mismo lo podemos apreciar con el Análisis Discriminante (gráfico 6.9), observándose en cambio diferencias entre estos vinos y los testigos, pero solo un 75% de los vinos se clasifican correctamente como vinificación tradicional o con maceración prefermentativa.

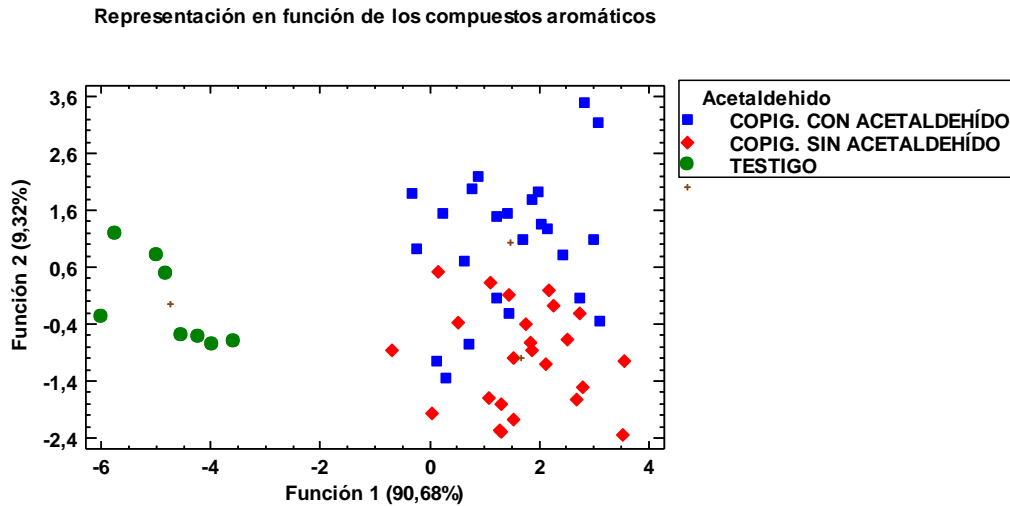


Gráfico 6.9. Representación de los vinos según la aplicación de acetaldehído, en el espacio definido por la primera y segunda función discriminante en función de su composición aromática.

Si el Análisis Discriminante se realiza conjuntamente con los parámetros polifenólicos y aromáticos (gráfico 6.10), se observan perfectamente diferenciados los vinos tratados en campo de los testigos, pero también los copigmentados conservados con y sin acetaldehído. El tratamiento conjunto de los compuestos polifenólicos y aromáticos permite una perfecta diferenciación de la totalidad de los vinos.

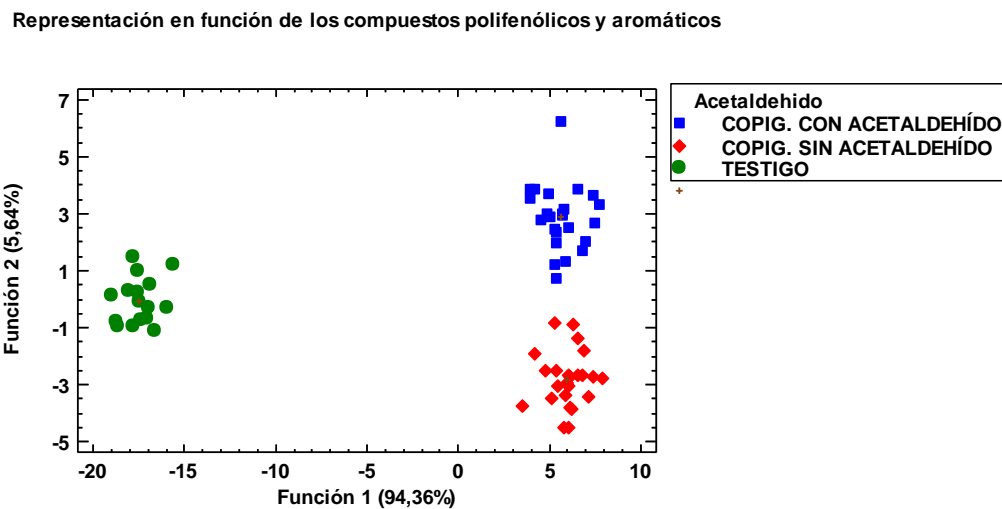


Gráfico 6.10. Representación de los vinos según la aplicación de acetaldehído, en el espacio definido por la primera y segunda función discriminante en función de su composición polifenólica y aromática.

La primera función discriminante, que separa a los vinos tratados con copigmentos de los testigos, está ligada principalmente a los antocianos copigmentados, polimerizados y libres, a los taninos condensados, malvidina, peonidina y petunidina, octanoato de etilo, eugenol, 2-metoxifenol y γ -octolactona. La segunda función discriminante es responsable de la separación de los vinos procedentes de tratamientos de copigmentación conservadas con o sin acetaldehído, y está ligada principalmente al color, al porcentaje de antocianos

polimerizados y libres, a la concentración de peonidina, a la astringencia de los taninos, a la concentración de decanoato de etilo y de lactato de etilo (tabla 6.18).

Tabla 6.18. *Coefficientes estandarizados de las 2 funciones discriminantes que permiten diferenciar los vinos según la aplicación de acetaldehído, en función de los compuestos polifenólicos y aromáticos.*

Compuestos polifenólicos y aromáticos	Coeficientes estandarizados de las Funciones Discriminantes	
	1	2
Intensidad Colorante	-1,36389	-1,79181
Tono o matiz	-1,75153	-1,50141
% Antocianos copigmentados	-2,20942	-2,11688
% Antocianos libres	-2,1701	-0,296246
% Antocianos polimerizados	2,49443	-1,16096
Antocianos totales	1,73026	-3,31349
Taninos condensados	-5,81163	0,325111
Polifenoles totales	1,56149	-0,879283
Índice de Fólín	-1,41416	0,00178704
Índice de DMACH	-2,09326	0,287521
Índice de Gelatina	2,88468	3,3107
Malvidina	4,59349	0,804104
Peonidina	-2,49573	0,297982
Petunidina	2,556	0,441809
Cianidina	-0,704358	0,388161
Delfinidina	-0,871725	0,0985391
α -pineno	-1,09299	-0,229251
Isovalerato de etilo	-1,06059	-0,317014
β -pineno	2,56266	0,717813
Acetato de isoamilo	-0,22092	1,29953
Hexanoato de etilo	0,234225	0,227414
n-amyl alcohol	-1,49982	-0,745951
Acetato de hexilo	0,756486	1,07138
Lactato de etilo	-0,0980759	1,81334
Cis-3-hexenol	1,18556	1,102
Octanoato de etilo	2,8009	0,967077
1,2 propilenglicol	-2,09963	0,0471738
Etil-3-hidroxibutirato	-1,36997	-1,79928
Linalol	0,873151	0,550971
Decanoato de etilo	-2,08797	-2,13326
Dietilsuccinato	0,83218	0,440893
2- fenilacetato	-2,32758	-1,21117
2-metoxifenol	-4,82637	-0,326252
γ -octolactona	5,39288	0,911814
2 feniletanol	-0,389237	-0,841438
Eugenol	2,52098	-0,0950821
Ácido decanoico	-0,10981	0,186264
Vainillina	-0,394732	-0,028134

6.1.2. ESTUDIO DE LA APLICACIÓN DE EXTRACTO DE TRIGO SARRACENO Y RUTINA

En los mostos tratados con extracto de trigo sarraceno y rutina, se determinaron los parámetros convencionales ($^{\circ}$ Brix, pH y acidez total), no observándose diferencias entre ellos en ninguno de los años estudiados, por lo que no se puede atribuir a los tratamientos en campo un efecto sobre dichos parámetros. Asimismo, si se han observado diferencias entre los años estudiados, ya que 2017 fue un año más cálido, dando lugar a una mayor maduración de la uva.

Lo mismo sucedió con los parámetros convencionales (grado alcohólico, pH, acidez total, azúcares residuales y acidez volátil), de los vinos elaborados, que no permitieron atribuir un efecto significativo, ni por los tratamientos de copigmentación realizados en las uvas, ni por las técnicas de vinificación empleadas. Por este motivo, los resultados que se van a detallar a continuación, van a estudiar el efecto de estos tratamientos sobre los compuestos polifenólicos y aromáticos, que son en donde se han encontrado las diferencias significativas.

Se estudia en primer lugar el efecto, sobre los vinos de Monastrell, de los tratamientos con extracto de trigo sarraceno en campo, y rutina puro en el campo y a la entrada en bodega, enfrentándolos a los vinos procedentes de uvas de Monastrell sin tratar. Este efecto se va a estudiar una vez concluida la fermentación maloláctica y al final de los 12 meses de conservación, independientemente de que los vinos hayan sido sometidos a maceración tradicional o prefermentativa, y de la aplicación o no de acetaldehído.

En segundo lugar, se estudia el efecto de la maceración tradicional y maceración prefermentativa, independientemente del copigmento aplicado, tanto en postmaloláctica como en postconservación, y en tercer lugar el efecto de la aplicación de acetaldehído en postconservación. Igualmente, se estudia el efecto simulado de la microoxigenación mediante adición de acetaldehído durante los 45 días posteriores a la terminación de la fermentación maloláctica, independientemente del tipo de copigmento aplicado y de la técnica de vinificación.

Finalmente, los resultados se han representado gráficamente mediante el análisis discriminante para comprobar si se podían diferenciar los vinos en distintos grupos en función de los copigmentos utilizados, de la técnica de vinificación y de la adición o no de acetaldehído.

6.1.2.1. ESTUDIO DE LA APLICACIÓN DE EXTRACTO DE TRIGO SARRACENO Y RUTINA POSTERIORMENTE A LA FERMENTACION MALOLÁCTICA

Para tratar conjuntamente los datos en función del copigmento aplicado (extracto de trigo sarraceno, rutina pura en campo y rutina pura en bodega), se ha comprobado inicialmente la interacción entre los copigmentos y las técnicas de vinificación aplicadas.

En la tabla 6.19 se recogen los datos del Análisis simple y multifactorial de la varianza para los factores adición de copigmentos y técnicas de vinificación, así como para la interacción entre ambos, para los compuestos polifenólicos de los vinos analizados después de la fermentación maloláctica en las añadas 2016 y 2017.

Tabla 6.19. Análisis simple y multifactorial de la varianza para los factores considerados y para su interacción, en los compuestos polifenólicos de los vinos de Monastrell tratados con trigo sarraceno o rutina analizados después de la fermentación maloláctica.

Compuesto	Copigmento		Técnica de vinificación		Interacción Copig x Técnica	
	2016	2017	2016	2017	2016	2017
Intensidad Colorante	ns	ns	ns	ns	ns	24,60***
Tono (%)	5,75**	12,51***	ns	ns	ns	ns
Antocianos copigmentados (%)	ns	4,58*	ns	ns	ns	ns
Antocianos polimerizados (%)	ns	30,70***	ns	ns	ns	ns
Antocianos libres (%)	3,43*	4,73*	ns	7,92**	ns	ns
Malvidina (mg/L)	26,37***	25,58***	ns	ns	35,11***	ns
Peonidina (mg/L)	11,68***	11,24**	ns	ns	ns	17,46***
Petunidina (mg/L)	14,70***	13,13***	ns	ns	7,73*	ns
Cianidina (mg/L)	11,02**	12,52***	ns	ns	ns	ns
Delfinidina (mg/L)	17,60***	9,35**	ns	ns	ns	4,23*
Antocianos Totales (mg/L)	13,70***	ns	ns	ns	23,09***	ns
Taninos condensados (g/L)	4,42*	5,50*	ns	ns	ns	ns
Polifenoles Totales (g/L)	23,45***	8,89**	ns	ns	ns	9,65**
Índice de Folin	ns	4,63*	ns	ns	ns	ns
Índice de DMACH (%)	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Índice de Gelatina (%)	ns	ns	ns	ns	ns	ns

* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$. *** $p < 0.001$

Podemos observar que la mayor parte de los compuestos polifenólicos son afectados por la adición de los distintos copigmentos, y en cambio, las técnicas de vinificación no afectan prácticamente a los compuestos polifenólicos estudiados. Debido a que existe una mínima interacción entre la aplicación de los distintos copigmentos y las técnicas de vinificación empleadas, se van a interpretar conjuntamente los datos en función del copigmento aplicado sin tener en cuenta la técnica de vinificación empleada, y en función de la técnica empleada sin tener en cuenta el tipo de copigmentos aplicados.

6.1.2.1.1. EFECTO DE LOS COPIGMENTOS EN LA COMPOSICIÓN DE LOS VINOS

En la tabla 6.20 se recogen los valores medios, desviaciones estándar y ANOVA para los compuestos polifenólicos estudiados una vez acabada la fermentación maloláctica, en función de los copigmentos aplicados.

Tabla 6.20. Media, desviación estándar y ANOVA de los compuestos polifenólicos de los vinos de Monastrell analizados después de la fermentación maloláctica, en función de los copigmentos aplicados.

Parámetros	Copigmento	2016	2017	Media 2016-2017	Año (p-value)	Interacción Copig x Año (p)
Intensidad Colorante	Testigo	8,95±1,36a	9,93±0,62a	9,34±1,21a	ns	ns
	Ext.Trigo sarraceno	8,69±2,69a	9,36±1,34a	9,13±1,79a		
	Rutina campo	8,48±1,60a	9,64±0,96a	9,06±1,53a		
	Rutina bodega	10,02±1,75a	9,97±0,27a	10,00±1,21a		
Tono (%)	Testigo	66,29±6,63a	63,37±3,32a	65,12±5,63a	32,81***	ns
	Ext.Trigo sarraceno	71,98±6,69ab	61,88±1,02a	65,25±6,14a		
	Rutina campo	80,17±13,55b	67,14±1,30b	73,66±11,48b		
	Rutina bodega	73,20±3,96ab	62,63±0,54a	67,92±6,10a		
Antocianos Copigmentados (%)	Testigo	25,72±3,96a	35,73±1,54c	29,72±5,94a	ns	2,97*
	Ext.Trigo sarraceno	24,59±3,70a	24,50±2,16ab	24,53±2,59a		
	Rutina campo	24,11±5,70a	27,78±2,97b	25,95±4,78a		
	Rutina bodega	22,76±10,08a	23,58±7,15a	23,17±8,45a		
Antocianos Polimerizados (%)	Testigo	25,68±2,37a	21,13±0,30a	23,86±2,92a	ns	3,66*
	Ext.Trigo sarraceno	29,17±4,15a	31,33±3,33c	30,61±3,59c		
	Rutina campo	26,29±2,92a	24,30±1,45b	25,30±2,45ab		
	Rutina bodega	28,11±6,04a	29,62±3,15c	28,87±4,72bc		
Antocianos libres (%)	Testigo	48,60±3,01a	43,14±1,52a	46,42±3,69a	ns	ns
	Ext.Trigo sarraceno	46,25±2,55a	44,16±3,07a	44,86±2,67a		
	Rutina campo	49,59±2,91a	47,92±1,80b	48,76±2,49a		
	Rutina bodega	49,13±4,58a	46,81±4,31b	47,97±4,46a		
Malvidina (mg/L)	Testigo	118,98±17,82a	188,67±11,25a	153,82±35,56a	27,08***	ns
	Ext.Trigo sarraceno	193,51±4,28c	203,22±6,39a	198,36±13,38c		
	Rutina campo	167,08±11,94b	176,26±22,06a	171,67±17,14b		
	Rutina bodega	161,61±31,85b	184,73±5,12a	173,17±22,09ab		
Peonidina (mg/L)	Testigo	7,31±0,90a	15,11±1,55b	10,43±4,09a	5,96*	18,37***
	Ext.Trigo sarraceno	9,72±0,71b	10,22±1,22a	10,05±1,07a		
	Rutina campo	12,35±1,00c	10,56±3,00a	11,45±2,35a		
	Rutina bodega	12,64±4,6c	10,29±1,80a	11,46±3,61a		
Petunidina (mg/L)	Testigo	12,21±1,81a	17,79±3,38b	14,44±3,74a	ns	ns
	Ext.Trigo sarraceno	17,05±0,59b	16,78±0,76b	16,87±0,70a		
	Rutina campo	17,18±1,01b	13,51±1,29a	15,34±2,20a		
	Rutina bodega	17,58±3,82b	12,98±0,39a	15,28±3,54a		
Cianidina (mg/L)	Testigo	3,50±0,51a	3,99±1,03a	3,78±1,45a	ns	ns
	Ext.Trigo sarraceno	5,09±0,60b	4,81±0,54b	4,90±0,55a		
	Rutina campo	5,52±0,82b	3,81±1,00a	4,67±1,25a		
	Rutina bodega	4,96±2,65b	4,13±0,16ab	4,55±1,86a		
Delfinidina (mg/L)	Testigo	8,55±1,08a	12,17±2,77b	10,00±2,61a	ns	ns
	Ext.Trigo sarraceno	10,19±1,15b	10,60±0,82b	10,47±0,91a		
	Rutina campo	12,35±0,77c	9,39±0,45ab	10,87±1,65a		
	Rutina bodega	12,52±2,40c	8,17±1,22a	10,35±2,90a		
Antocianos Totales (mg/L)	Testigo	207,68±13,08a	289,91±1,28a	248,57±41,41a	6,67**	ns
	Ext.Trigo sarraceno	256,86±17,77b	298,86±9,01a	278,86±18,62b		
	Rutina campo	241,12±58,29ab	287,78±9,74a	264,45±46,72ab		
	Rutina bodega	246,48±24,20b	288,29±15,53a	267,47±29,62ab		

Tabla 6.20 (Continuación). Media, desviación estándar y ANOVA de los compuestos polifenólicos de los vinos de Monastrell analizados después de la fermentación maloláctica, en función de los copigmentos aplicados.

Parámetros	Copigmento	2016	2017	Media 2016-2017	Año (p-value)	Interacción Copig x Año (p)
Taninos condensados (g/L)	Testigo	2,02±0,16b	1,52±0,15ab	1,77±0,35b	16,72**	ns
	Ext.Trigo sarraceno	1,92±0,07a	1,40±0,15a	1,58±0,28a		
	Rutina campo	2,06±0,13b	1,63±0,09b	1,85±0,24b		
	Rutina bodega	1,99±0,32b	1,60±0,10b	1,80±0,30b		
Polifenoles Totales (g/L)	Testigo	2,13±0,10b	2,01±0,03b	2,07±0,10b	ns	ns
	Ext.Trigo sarraceno	1,98±0,07a	1,85±0,12a	1,89±0,12a		
	Rutina campo	2,10±0,11b	2,03±0,09b	2,06±0,11b		
	Rutina bodega	2,23±0,05c	2,04±0,06b	2,13±0,11b		
Índice de Folin	Testigo	53,91±2,99a	52,22±1,07b	53,23±2,52b	ns	3,36*
	Ext.Trigo sarraceno	56,30±1,07a	46,79±3,08a	49,96±5,32a		
	Rutina campo	53,84±3,12a	50,34±5,35b	52,09±4,60b		
	Rutina bodega	58,63±3,70a	52,97±3,66b	55,80±4,60b		
Índice de DMACH (%)	Testigo	59,77±5,27a	90,99±4,13a	72,26±16,39a	112,78***	ns
	Ext.Trigo sarraceno	62,71±1,82a	92,19±4,99a	82,37±15,08a		
	Rutina campo	59,79±7,03a	86,34±13,78a	73,06±17,31a		
	Rutina bodega	66,83±12,16a	84,72±13,81a	75,77±15,60a		
Índice de Gelatina (%)	Testigo	49,47±6,62a	74,97±2,21a	59,67±13,84a	14,85***	ns
	Ext.Trigo sarraceno	43,48±6,09a	74,27±26,04a	64,01±25,91a		
	Rutina campo	46,59±9,07a	67,81±20,79a	57,20±18,98a		
	Rutina bodega	42,89±14,51a	60,98±26,58a	51,94±22,70a		

* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$. *** $p < 0.001$

Al igual que observamos en los vinos suplementados con extracto de romero y ácido cafeico, los vinos de la cosecha 2017 suplementados con trigo sarraceno y rutina tienen una mayor concentración de compuestos polifenólicos, que puede atribuirse a la mejor maduración propiciada por el efecto añada. Ni en los vinos de 2016 ni 2017 se pueden observar diferencias significativas en el color, aunque el tono en 2016 es ligeramente superior en los vinos procedentes de tratamientos con copigmentos, mientras que en la cosecha de 2017 solamente los vinos tratados con rutina en campo presentan un tono más elevado que los testigos.

No hay diferencias entre las distintas fracciones de los antocianos en 2016, en cambio en los vinos de 2017 los valores más elevados de antocianos copigmentados corresponden a los vinos testigos, mientras que los antocianos polimerizados son más elevados en los vinos procedentes de uvas suplementadas con trigo sarraceno y rutina. En ningún caso el porcentaje de antocianos copigmentados inmediatamente después de acabada la fermentación maloláctica es superior en los vinos cuando se han suplementado copigmentos en la uva, a diferencia de lo observado en otros estudios, que mostraron que a medida que transcurría el proceso de conservación los antocianos copigmentados disminuían para transformarse en antocianos polimerizados (Álvarez et al., 2006; Alexandre-Tudó et al., 2013). En los vinos de 2016 analizados después de la fermentación maloláctica, no encontramos diferencias en el porcentaje de antocianos copigmentados, polimerizados y libres, mientras que la aplicación de extracto de trigo

sarraceno o rutina en 2017 dio lugar a un rápido incremento del porcentaje de antocianos polimerizados.

En cuanto a la concentración de antocianos totales, en los vinos de 2016 es significativamente superior en los suplementados con copigmentos, especialmente con extracto de trigo sarraceno, mientras que, en los vinos de la cosecha de 2017, estas diferencias no son significativas. Las fracciones de antocianos pormenorizados son claramente inferiores en el vino testigo de la cosecha 2016 con respecto a los vinos tratados. De todos ellos, la malvidina es la principal y resulta claramente superior cuando se aplica extracto de trigo sarraceno sobre los ensayos implementados con rutina bien en campo bien en bodega. Según un estudio llevado a cabo por Baranac et al. (1997), la rutina tiene una alta reactividad de copigmentación con la malvidina, por lo que esta pudiera ser una explicación de que sea inferior la concentración de este compuesto en el vino testigo y superior en los demás ensayos. El resto de las fracciones integradas por peonidina, petunidina, cianidina y delphinidina tienen en común que son superiores al testigo con diferencias significativas, pero no tienen un comportamiento tan claro como la malvidina. En la cosecha de 2017, aunque no aparecieron diferencias significativas en la concentración de antocianos totales, la malvidina tiene el mismo comportamiento que en 2016, es decir, la aplicación de trigo sarraceno provoca las mayores concentraciones, aunque sin diferencias significativas con los otros copigmentos añadidos ni con el testigo, debido a que se parte de una uva con mayor concentración polifenólica que la de 2016. Estos mismos resultados se encontraron cuando se aplicó extracto de romero (Tabla 6.2).

El hecho de que la adición de trigo sarraceno de lugar a vinos con mayor cantidad de antocianos que los suplementados con rutina, puede ser debido al mayor contenido polifenólico del extracto, que no solo contiene rutina, a la presencia de pequeñas cantidades de etanol resultantes de la extracción, que estimulan la formación de etileno en la planta contribuyendo a la síntesis de antocianos (Chervin y al., 2001; Gallegos et al., 2006), y también a la estabilidad antociánica ocasionada por la rápida polimerización de sus antocianos.

Al igual que observamos en los vinos procedentes de uvas tratadas con extracto de romero en la cosecha de 2016, los vinos tratados con extracto de trigo sarraceno en 2016 y 2017 presentan una concentración inferior de taninos condensados con relación al resto de los vinos, y esto va a repercutir en la concentración de polifenoles totales, que son inferiores también en los vinos tratados con extracto de trigo sarraceno, que a pesar de ser superior su concentración de antocianos, al ser muy inferior la de taninos, son los taninos los que determinan las diferencias entre los polifenoles totales.

6.1.2.1.2. EFECTO DE LAS TÉCNICAS DE VINIFICACIÓN EN LA COMPOSICIÓN DE LOS VINOS

En la tabla 6.21 se recogen las medias y desviaciones estándar junto con el ANOVA para los compuestos polifenólicos estudiados una vez acabada la fermentación maloláctica, en función de la técnica de vinificación aplicada.

Tabla 6.21. Media, desviación estándar y ANOVA en los compuestos polifenólicos de los vinos de Monastrell tratados con trigo sarraceno o rutina analizados después de la fermentación maloláctica, en función de la técnica de vinificación aplicada.

Parámetros	Técnica vinificación	2016	2017	Media 2016-2017	Año (p-value)	Interacción Téc x Año (p)
Intensidad Colorante	T	8,95±2,05a	9,72±1,02a	9,31±1,67a	ns	ns
	MP	8,95±1,43a	9,73±0,76a	9,37±1,17a		
Tono (%)	T	72,75±4,46a	62,80±2,96a	68,06±6,30a	21,24***	ns
	MT	71,49±14,14a	64,72±2,14a	67,88±10,19a		
Antocianos Copigmentados (%)	T	23,97±6,01a	25,93±4,41a	24,89±6,68a	ns	ns
	MP	25,04±6,63a	29,87±4,10b	27,61±5,87a		
Antocianos Polimerizados (%)	T	27,87±4,01a	27,04±4,75a	27,48±4,33a	ns	ns
	MP	25,60±3,59a	26,15±4,84a	25,89±4,24a		
Antocianos libres (%)	T	48,16±2,92a	47,03±3,49b	47,63±3,20a	ns	7,05**
	MP	49,36±3,74a	43,99±2,55a	46,50±4,13a		
Malvidina (mg/L)	T	156,49±27,41a	198,20±25,77a	176,12±33,70a	22,12***	ns
	MP	143,89±39,35a	179,08±27,89a	161,49±36,48a		
Peonidina (mg/L)	T	9,17±1,47a	12,76±2,78a	10,86±2,82a	ns	5,33*
	MP	11,54±4,58a	10,33±2,40a	10,89±3,57a		
Petunidina (mg/L)	T	15,40±1,87a	16,29±3,13a	15,82±2,54a	ns	ns
	MP	15,40±4,67a	14,24±1,85a	14,78±3,45a		
Cianidina (mg/L)	T	4,17±1,37a	5,06±1,15a	4,59±1,33a	ns	ns
	MP	5,08±1,82a	4,31±1,00a	4,67±1,46a		
Delfinidina (mg/L)	T	10,44±1,30a	10,25±2,92a	10,35±2,18a	ns	ns
	MP	11,03±3,22a	9,92±0,88a	10,44±2,32a		
Antocianos Totales (mg/L)	T	242,05±37,49a	285,46±12,58a	259,65±39,57a	36,06***	ns
	MP	217,11±31,33a	286,96±8,71a	257,56±38,00a		
Taninos condensados (g/L)	T	2,03±0,12a	1,50±0,18a	1,78±0,31a	134,12***	ns
	MP	2,05±0,29a	1,58±0,09a	1,82±0,32a		
Polifenoles Totales (g/L)	T	2,06±0,09a	1,98±0,15a	2,02±0,13a	ns	4,16*
	MP	2,14±0,07a	1,98±0,04a	2,08±0,13a		
Índice de Folin	T	54,98±2,84a	52,18±5,08a	53,72±4,67a	ns	ns
	MP	53,29±3,44a	48,98±2,33a	50,99±3,59a		
Índice de DMACH (%)	T	60,12±3,65a	83,18±11,30a	70,97±14,19a	158,31***	ns
	MP	64,20±11,18a	93,94±5,33a	80,06±17,27a		
Índice de Gelatina (%)	T	46,09±5,67a	67,56±27,12a	56,20±21,66a	14,89***	ns
	MP	46,70±13,42a	63,52±24,02a	55,67±21,26a		

T: tradicional, MP: maceración prefermentativa; * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$. *** $p < 0.001$

En los vinos de la cosecha de 2016 procedentes de uvas suplementadas con extracto de trigo sarraceno y rutina, las técnicas de maceración ensayadas no afectan a la composición de los vinos una vez concluida la fermentación maloláctica.

En cambio, en la cosecha 2017 encontramos un mayor porcentaje de antocianos copigmentados y menor de antocianos libres, en los vinos sometidos a maceración prefermentativa. Esta situación es similar a la observada por Soto-Vázquez et al. (2010), que encontraron que esta técnica favorece las reacciones de copigmentación entre los antocianos, aunque también observaron un incremento en la concentración de antocianos, situación no observada en los vinos suplementados con extracto de trigo sarraceno y

rutina, pero que sí se pudo apreciar en la concentración de antocianos totales de los vinos suplementados con extracto de romero y ácido cafeico en la añada 2017 (tabla 6.3). En cambio, en ningún caso se observó influencia significativa en el color de los vinos en función de la técnica de maceración.

6.1.2.2. ESTUDIO DE LA APLICACIÓN DE EXTRACTO DE TRIGO SARRACENO Y RUTINA AL FINAL DEL PROCESO DE CONSERVACIÓN DE LOS VINOS

Para tratar conjuntamente los datos de los vinos suplementados con extracto de trigo sarraceno, rutina pura en campo y rutina pura en bodega, se ha comprobado inicialmente la existencia de interacciones entre los copigmentos, las técnicas de vinificación aplicadas (tradicional o maceración prefermentativa) y el aporte de acetaldehído. En la tabla 6.22 aparecen los datos del Análisis simple y multifactorial de la varianza para los factores adición de copigmentos, técnicas de vinificación y aplicación de microoxigenación, así como para la interacción entre ellos, para el año 2016 y 2017, en los compuestos polifenólicos y aromáticos de los vinos analizados a los 12 meses de embotellados.

Tabla 6.22. Análisis simple y multifactorial de la varianza para los factores considerados y para su interacción, en los compuestos polifenólicos de los vinos de Monastrell tratados con trigo sarraceno o rutina analizados a los 12 meses del embotellado.

Compuesto	Copigmento		Técnica de vinificación		Aplicación acetaldehído		Interacción Copig x Téc		Interacción CopigxAcetal		Interacción TécxAcetal	
	2016	2017	2016	2017	2016	2017	2016	2017	2016	2017	2016	2017
Intensidad Colorante	3,59*	ns	ns	ns	ns	ns	10,71*	ns	ns	3,70*	ns	ns
Tono (%)	ns	4,20*	13,01***	ns	ns	ns	ns	3,55*	ns	ns	ns	ns
Ant. copigmentados (%)	ns	9,62**	ns	ns	15,71**	ns	ns	ns	5,65*	ns	4,33*	ns
Ant.polimerizados (%)	ns	11,14**	ns	ns	ns	11,27**	5,30*	ns	ns	ns	ns	ns
Antocianos libres (%)	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Malvidina (mg/L)	9,88**	3,78*	ns	ns	19,75***	4,21*	4,90*	26,09**	ns	ns	ns	ns
Peonidina (mg/L)	5,10*	ns	ns	ns	9,26**	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Petunidina (mg/L)	6,29*	ns	ns	10,36**	13,15**	5,73*	ns	4,92*	ns	ns	ns	ns
Cianidina (mg/L)	ns	5,64*	ns	ns	12,12**	ns	ns	9,08**	ns	ns	ns	ns
Delfinidina (mg/L)	3,97*	4,22*	ns	6,23*	7,71*	6,77*	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Antocianos Totales(mg/L)	5,95*	7,77**	ns	ns	ns	8,35**	5,87*	ns	ns	ns	ns	ns
Taninos condensados(g/L)	11,53***	ns	ns	ns	ns	11,21**	ns	ns	ns	3,91*	ns	ns
Polifenoles Totales (g/L)	25,07***	ns	11,16**	4,21*	ns	Ns	7,36*	6,22*	ns	ns	ns	ns
Índice de Folin	ns	ns	7,63**	ns	16,18**	ns	ns	ns	ns	ns	ns	8,28**
Índice de DMACH (%)	ns	5,62*	ns	ns	ns	20,36***	ns	ns	ns	ns	7,88*	ns
Índice de Gelatina (%)	ns	ns	ns	ns	ns	9,95**	ns	ns	ns	5,52*	ns	ns
α-pineno (µg/L)	8,69**	11,06**	ns	13,00**	ns	ns	3,15*	ns	ns	ns	ns	ns
β-pineno (µg/L)	ns	ns	8,97	ns	ns	ns	9,70*	12,56**	ns	ns	ns	ns
Isovalerato de etilo (µg/L)	4,88*	4,48*	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Acetato de isoamilol (µg/L)	6,41**	8,07**	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Hexanoato de etilo (µg/L)	4,17*	5,17*	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	8,12*	7,45*
n-amyl alcohol (µg/L)	ns	ns	6,41	10,69**	ns	ns	14,2**	4,69*	ns	ns	ns	ns
Acetato de hexilol (µg/L)	14,21***	22,40**	7,03	ns	ns	ns	6,32*	ns	ns	ns	ns	ns
Lactato etilo (µg/L)	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Cis 3-hexenol (µg/L)	7,49**	ns	14,93	16,45***	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Octanoato de etilo (µg/L)	8,72**	5,46*	4,33	19,31***	3,13*	ns	ns	ns	ns	ns	7,02*	8,42**
1,2 propilenglicol (µg/L)	ns	ns	7,87	ns	ns	ns	5,69*	ns	ns	ns	ns	ns
Etil 3-hidroxibutirato (µg/L)	ns	3,18*	16,56	15,87***	ns	ns	7,66**	ns	ns	ns	ns	ns
Linalol (µg/L)	ns	3,47*	ns	4,53*	ns	ns	ns	11,26**	ns	ns	ns	ns
Decanoato de etilo (µg/L)	3,75*	4,29*	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Dietil succinato (µg/L)	3,19*	4,21*	16,00	15,00***	ns	ns	ns	ns	ns	ns	8,64**	ns
2 fenilacetato (µg/L)	24,35***	24,35***	4,92	4,92*	ns	ns	ns	6,54*	ns	ns	ns	ns
2 metoxifenol (µg/L)	8,85**	8,88*	ns	6,00*	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
γ-octolactona (µg/L)	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
2 feniletanol (µg/L)	ns	ns	6,21*	ns	ns	ns	ns	42,64***	ns	ns	ns	ns

Tabla 6.22 (Continuación). *Análisis simple y multifactorial de la varianza para los factores considerados y para su interacción, en los compuestos polifenólicos de los vinos de Monastrell tratados con trigo sarraceno o rutina analizados a los 12 meses del embotellado.*

Compuesto	Copigmento		Técnica de vinificación		Aplicación acetaldehído		Interacción Copig x Téc		Interacción CopigxAcetal		Interacción TécxAcetal	
	2016	2017	2016	2017	2016	2017	2016	2017	2016	2017	2016	2017
Eugenol (µg/L)	ns	ns	ns	ns	ns	ns	5,62*	ns	ns	ns	ns	ns
Ácido decanoico (µg/L)	3,21*	ns	29,76***	20,99***	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Vainillina (µg/L)	7,52**	5,18*	ns	ns	ns	ns	12,87*	3,45*	ns	ns	ns	ns

* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$. *** $p < 0.001$

De acuerdo con esto, los compuestos polifenólicos y aromáticos son afectadas, en general, por la adición de los distintos copigmentos y las técnicas de vinificación empleadas, y en menor medida por la adición de acetaldehído durante la conservación de los vinos. Existe un bajo nivel de interacción entre copigmentos y técnicas de maceración, prácticamente inexistente entre copigmentos y adición de acetaldehído, y mínimo entre técnicas de maceración y adición de acetaldehído.

6.1.2.2.1. EFECTO DE LOS COPIGMENTOS EN LA COMPOSICIÓN DE LOS VINOS

En la tabla 6.23 se recogen las medias y desviaciones estándar junto con el ANOVA para los compuestos polifenólicos estudiados a los 12 de meses de conservación, en función de los copigmentos aplicados.

Tabla 6.23. *Media, desviación estándar y ANOVA en los compuestos polifenólicos de los vinos de Monastrell analizados a los 12 meses de conservación, en función de los copigmentos aplicados.*

Parámetros	Copigmento	2016	2017	Media 2016-2017	Año (p-value)	Interacción Copig x Año (p)
Intensidad Colorante	Testigo	9,83±1,01a	11,63±0,90a	10,73±1,29a	26,85***	3,28*
	Ext.Trigo sarraceno	9,79±0,16a	11,34±0,87a	10,82±1,03a		
	Rutina campo	9,42±1,19a	11,42±0,97a	10,42±1,48a		
	Rutina bodega	11,10±1,82a	11,15±0,61a	11,12±1,12a		
Tono (%)	Testigo	75,68±3,95a	68,70±2,57a	72,19±4,85a	10,37**	ns
	Ext.Trigo sarraceno	78,47±1,09a	68,80±1,57a	72,02±4,95a		
	Rutina campo	76,50±5,35a	69,95±0,77a	73,23±5,01a		
	Rutina bodega	74,91±1,08a	65,79±5,79a	70,35±5,42a		
Antocianos Copigmentados (%)	Testigo	9,87±1,25a	16,55±1,63a	13,21±3,72a	26,54***	ns
	Ext.Trigo sarraceno	10,30±0,36a	18,72±3,77a	14,51±6,38a		
	Rutina campo	11,28±2,60a	14,42±9,87a	12,85±6,74a		
	Rutina bodega	11,68±1,99a	15,15±10,04a	13,41±9,16a		
Antocianos Polimerizados (%)	Testigo	50,47±3,27a	47,64±1,95a	49,05±4,12a	6,89*	ns
	Ext.Trigo sarraceno	49,12±0,49a	51,92±6,92a	49,66±3,86a		
	Rutina campo	48,72±4,12a	49,69±7,34a	49,21±4,06a		
	Rutina bodega	49,46±4,14a	45,14±6,90a	47,30±3,68a		
Antocianos libres (%)	Testigo	39,66±3,41a	35,82±6,04a	37,74±5,02a	ns	ns
	Ext.Trigo sarraceno	40,58±0,54a	38,70±3,66a	39,32±3,08a		
	Rutina campo	40,00±3,98a	39,93±3,11a	39,96±3,45a		
	Rutina bodega	38,86±4,29a	39,68±1,91a	39,27±3,24a		

Tabla 6.23 (Continuación). Media, desviación estándar y ANOVA en los compuestos polifenólicos de los vinos de Monastrell analizados a los 12 meses de conservación, en función de los copigmentos aplicados.

Parámetros	Copigmento	2016	2017	Media 2016-2017	Año (p-value)	Interacción Copig x Año (p)
Malvidina (mg/L)	Testigo	34,99±7,35a	49,13±2,24a	42,06±15,45a	4,25*	8,02*
	Ext.Trigo sarraceno	55,78±5,24c	49,00±20,00a	49,26±16,89a		
	Rutina campo	47,77±12,88bc	54,67±14,14ab	51,22±13,55a		
	Rutina bodega	42,33±10,34b	56,04±6,72b	49,18±8,47a		
Peonidina (mg/L)	Testigo	2,53±0,56a	3,18±0,68a	2,85±1,01a	ns	ns
	Ext.Trigo sarraceno	3,83±0,48b	2,65±1,08a	3,05±1,07a		
	Rutina campo	3,53±0,69b	3,30±0,60a	3,41±0,64a		
	Rutina bodega	3,58±1,09b	2,88±0,76a	3,23±0,98a		
Petunidina (mg/L)	Testigo	4,54±1,24a	4,38±0,56a	4,46±1,31a	ns	ns
	Ext.Trigo sarraceno	6,98±0,82b	4,79±2,11a	5,52±2,04a		
	Rutina campo	6,02±1,53b	5,01±2,39a	5,52±2,01a		
	Rutina bodega	6,10±1,66b	4,58±1,20a	5,34±1,60a		
Cianidina (mg/L)	Testigo	2,04±0,33a	2,07±0,30b	2,05±0,38a	6,47*	ns
	Ext.Trigo sarraceno	2,67±0,30a	1,86±0,47a	2,13±0,57a		
	Rutina campo	2,55±0,40a	1,91±0,63a	2,23±0,61a		
	Rutina bodega	2,57±0,89a	2,14±0,55ab	2,36±0,75a		
Delfinidina (mg/L)	Testigo	3,74±0,84a	4,87±0,78b	4,30±0,95a	ns	ns
	Ext.Trigo sarraceno	5,15±1,10b	3,52±1,48a	4,06±1,54a		
	Rutina campo	5,09±1,21b	4,69±0,99b	4,89±1,09a		
	Rutina bodega	5,19±1,69b	3,72±1,10ab	4,45±1,57a		
Antocianos Totales (mg/L)	Testigo	203,59±17,39a	303,21±53,02a	253,40±54,34a	85,21***	3,02*
	Ext.Trigo sarraceno	245,15±15,37b	341,01±30,34b	307,39±49,37b		
	Rutina campo	234,48±17,05ab	359,23±61,43bc	296,86±77,76ab		
	Rutina bodega	247,20±25,90b	368,73±27,00c	307,96±77,43b		
Taninos condensados (g/L)	Testigo	2,01±0,08b	1,98±0,07a	2,00±0,11a	28,52***	ns
	Ext.Trigo sarraceno	1,86±0,03a	1,86±0,05a	1,86±0,04a		
	Rutina campo	1,99±0,09b	1,97±0,08a	1,98±0,08a		
	Rutina bodega	2,16±0,05c	1,91±0,13a	2,03±0,16a		
Polifenoles Totales (g/L)	Testigo	2,06±0,92a	2,21±0,68a	2,14±0,86a	14,33**	ns
	Ext.Trigo sarraceno	2,09±0,35a	2,71±0,24a	2,51±0,40a		
	Rutina campo	2,00±0,44a	2,68±0,50a	2,34±0,75a		
	Rutina bodega	2,04±0,18a	2,54±0,62a	2,29±0,52a		
Índice de Folin	Testigo	54,38±7,92a	48,43±1,95a	51,40±6,18a	15,65***	ns
	Ext.Trigo sarraceno	55,44±7,00a	52,09±6,92a	53,21±6,82a		
	Rutina campo	57,54±5,09a	51,91±7,34a	54,72±6,76a		
	Rutina bodega	60,22±4,46a	50,85±6,90a	55,53±7,41a		
Índice de DMACH (%)	Testigo	47,71±17,06a	47,33±8,93a	47,52±13,77a	ns	ns
	Ext.Trigo sarraceno	47,53±4,69a	56,73±12,86a	53,67±11,48a		
	Rutina campo	54,19±11,13a	49,75±6,87a	51,97±11,00a		
	Rutina bodega	54,81±8,89a	52,28±13,03a	53,54±10,85a		
Índice de Gelatina (%)	Testigo	46,89±20,56a	47,30±15,86a	47,09±17,37a	ns	ns
	Ext.Trigo sarraceno	42,03±11,97a	42,71±18,80a	42,48±16,25a		
	Rutina campo	38,82±17,21a	33,32±20,46a	36,07±18,48a		
	Rutina bodega	46,58±22,48a	43,97±15,90a	45,27±18,86a		

* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$. *** $p < 0.001$

Los vinos procedentes de uvas tratadas con extracto de trigo sarraceno y rutina en la cosecha de 2016 muestran, a los 12 meses de almacenamiento, una mayor concentración de malvidina, peonidina, petunidina, delphinidina y antocianos totales en relación a los vinos testigo, tal como se observó también al final de la fermentación maloláctica. En los vinos de 2017, la concentración de malvidina y de antocianos totales también es superior en los vinos tratados con copigmentos, pero las diferencias en los otros antocianos pormenorizados (peonidina, petunidina) son menores que en los vinos de la cosecha 2016, debido al efecto añada que facilitó una mejor madurez polifenólica.

También la concentración de taninos condensados es inferior en los vinos tratados con extracto de trigo sarraceno, al igual que sucedía en estos vinos después de la fermentación maloláctica, aunque a los 12 meses, los vinos de la cosecha 2017 tratados con extracto de trigo sarraceno, tienen una menor proporción de taninos condensados, pero la diferencia no es significativa.

Esta disminución de los taninos condensados con el extracto de trigo sarraceno, observada también en los vinos tratados con extracto de romero, extractos cuya composición es diferente, salvo el hecho de que se extraen en una disolución hidroalcohólica que, aunque se elimina la mayor parte del alcohol, siempre permanece éste en un pequeño porcentaje, parece indicar una relación entre esta disminución y el alcohol que contienen los extractos.

No se observan diferencias a los 12 meses de almacenamiento en el porcentaje de antocianos copigmentados, polimerizados y libres, ni en la concentración total de polifenoles, ni en los parámetros de calidad de los taninos.

Para visualizar las diferencias en la composición de los vinos tratados con extracto de trigo sarraceno y rutina, se muestra en el gráfico 6.11 el Análisis Discriminante de los parámetros polifenólicos de los vinos analizados a los 12 meses de conservación, tratando conjuntamente los datos de las cosechas 2016 y 2017.

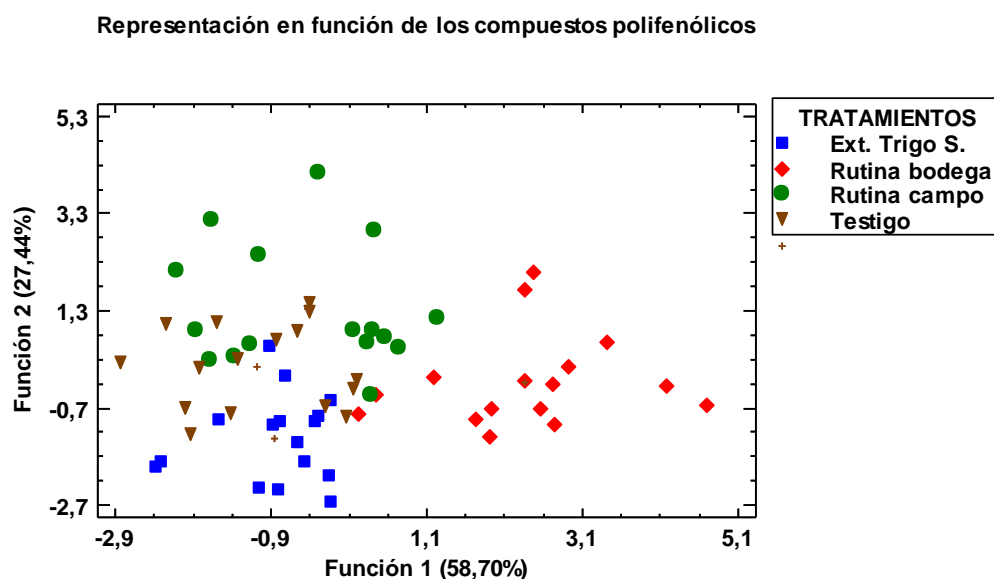


Gráfico 6.11. Representación de los vinos según los compuestos aplicados, en el espacio definido por la primera y segunda función discriminante en función de los parámetros polifenólicos.

Como se puede observar, con los parámetros polifenólicos estudiados, la primera función discriminante permite diferenciar los vinos tratados con rutina en bodega del resto de los vinos, y ni el aporte de la segunda ni de la tercera función discriminante, permite diferenciar los vinos testigo de los tratados con extracto de trigo sarraceno y rutina en campo.

Se ha determinado también la composición aromática de los vinos una vez concluido el proceso de conservación, a los 12 meses del embotellado, con el objetivo de realizar un análisis comparativo de los resultados y establecer si la adición de los copigmentos contenidos en el extracto de trigo sarraceno, y la adición de rutina, da lugar a diferencias significativas en los compuestos aromáticos de los vinos elaborados (tabla 6.24).

Tabla 6.24. Media, desviación estándar y ANOVA de los compuestos aromáticos de los vinos de Monastrell analizados a los 12 meses de conservación, en función de los copigmentos aplicados.

Parámetros (µg/L)	Copigmento	2016	2017	Media 2016-2017	Año (p-value)	Interacción Año x Copig (p)
α-pineno	Testigo	41,37±6,27b	46,48±7,05c	43,93±6,97c	ns	ns
	Ext.Trigo sarraceno	23,37±5,57a	24,54±5,61a	23,95±5,43a		
	Rutina campo	34,54±8,16b	36,74±8,68b	35,64±8,22b		
	Rutina bodega	34,79±8,28b	37,01±8,81b	35,90±8,34b		
β-pineno	Testigo	14,37±1,24a	16,15±1,40a	15,26±1,57a	ns	ns
	Ext.Trigo sarraceno	13,32±0,61a	14,17±0,65a	13,74±0,75a		
	Rutina campo	17,09±7,97a	18,18±8,48a	17,63±7,97a		
	Rutina bodega	15,12±7,93a	16,08±8,44a	15,60±7,92a		
Isovalerato de etilo	Testigo	17,35±3,41ab	20,90±6,71ab	19,12±5,46b	ns	ns
	Ext.Trigo sarraceno	11,16±0,80a	11,68±1,22a	11,42±1,03a		
	Rutina campo	29,02±17,47b	30,87±18,59b	29,94±17,45c		
	Rutina bodega	18,95±6,48ab	20,18±6,93ab	19,56±6,51b		
Acetato de isoamilo	Testigo	442,84±71,14b	497,57±79,93c	470,21±78,37c	ns	ns
	Ext.Trigo sarraceno	269,24±67,16a	286,43±71,44a	277,83±67,57a		
	Rutina campo	376,42±63,56b	400,45±67,62b	388,43±64,00b		
	Rutina bodega	365,17±109,21b	388,48±116,26b	376,82±109,66b		
Hexanoato de etilo	Testigo	191,84±17,88b	215,55±20,09b	203,70±22,08b	ns	ns
	Ext.Trigo sarraceno	131,73±10,03a	140,14±10,67a	135,93±10,90a		
	Rutina campo	181,52±44,02b	193,11±46,83b	187,32±44,31b		
	Rutina bodega	179,34±56,20b	190,79±59,78b	185,07±56,36b		
n-amyl alcohol	Testigo	43,52±7,33a	48,90±8,24a	46,21±8,03b	ns	ns
	Ext.Trigo sarraceno	39,14±6,18a	37,32±3,04a	38,23±5,69a		
	Rutina campo	40,17±14,26a	42,74±15,17a	41,45±14,29a		
	Rutina bodega	35,42±9,66a	39,01±15,44a	37,21±12,58a		
Acetato de hexilo	Testigo	9,36±3,08ab	11,15±2,50b	10,26±2,86b	6,34*	ns
	Ext.Trigo sarraceno	12,40±4,50b	15,40±2,74c	13,90±3,92c		
	Rutina campo	7,48±0,88a	7,83±1,21a	7,65±1,04a		
	Rutina bodega	17,08±3,00c	19,79±4,82d	18,43±4,12d		
Lactato de etilo	Testigo	9710,64±1630,23a	10910,83±1832,12a	10310,74±1786,65b	ns	ns
	Ext.Trigo sarraceno	8457,77±1951,56a	8997,63±2075,98a	8727,70±1965,99a		
	Rutina campo	8931,41±1859,76a	9501,50±1978,76a	9216,45±1878,43ab		
	Rutina bodega	7824,32±2173,32a	8323,75±2311,54a	8074,04±2182,32a		

Tabla 6.24 (Continuación). Media, desviación estándar y ANOVA de los compuestos aromáticos de los vinos de Monastrell analizados a los 12 meses de conservación, en función de los copigmentos aplicados.

Parámetros (µg/L)	Copigmento	2016	2017	Media 2016-2017	Año (p-value)	Interacción Año x Copig (p)
Cis 3-hexenol	Testigo	10,84±2,34a	12,24±2,77a	11,54±2,58a	ns	ns
	Ext.Trigo sarraceno	10,09±2,47a	9,79±3,18a	9,94±2,75a		
	Rutina campo	16,52±4,57b	16,16±6,32a	16,34±5,33b		
	Rutina bodega	16,04±4,02b	12,25±6,00a	14,14±5,31b		
Octanoato de etilo	Testigo	23,75±4,95a	23,12±8,85a	23,43±6,93a	ns	ns
	Ext.Trigo sarraceno	31,67±10,07b	31,60±12,84b	31,63±11,15a		
	Rutina campo	33,08±20,52b	33,29±22,96b	33,19±21,04a		
	Rutina bodega	27,18±19,27b	30,85±19,35b	29,01±18,75a		
1,2 propilenglicol	Testigo	161,32±70,89a	163,84±99,34a	162,58±83,38a	ns	ns
	Ext.Trigo sarraceno	129,39±34,69a	158,22±82,06a	143,81±71,10a		
	Rutina campo	138,35±37,18a	147,18±39,55a	142,76±37,36a		
	Rutina bodega	129,79±62,70a	138,07±66,70a	133,93±55,59a		
Etil 3-hidroxitirato	Testigo	69,52±16,21b	78,11±18,21b	73,82±17,24b	ns	ns
	Ext.Trigo sarraceno	69,05±26,45b	73,46±28,14b	71,26±26,48b		
	Rutina campo	50,29±8,80a	53,50±9,36a	51,90±8,94a		
	Rutina bodega	55,96±11,50a	59,53±12,24ab	57,74±11,62a		
Linalol	Testigo	48,94±7,87a	54,99±8,84b	51,97±8,67b	ns	ns
	Ext.Trigo sarraceno	53,13±27,78a	53,90±25,68b	53,51±25,84ab		
	Rutina campo	39,01±6,71a	36,75±11,02a	37,88±8,89a		
	Rutina bodega	41,77±6,21a	44,43±6,61ab	43,10±6,35b		
Decanoato de etilo	Testigo	291,37±68,23b	327,38±76,67b	309,38±72,53b	ns	ns
	Ext.Trigo sarraceno	190,03±59,42a	202,16±63,21a	196,09±59,60a		
	Rutina campo	297,60±78,29b	316,60±83,29b	307,10±78,70b		
	Rutina bodega	254,11±80,68ab	270,94±85,83ab	262,82±80,31b		
Diethylsuccinato	Testigo	1074,88±182a	1207,73±205a	1141,31±199,79a	ns	ns
	Ext.Trigo sarraceno	1449,86±438b	1755,17±702b	1602,52±587,48b		
	Rutina campo	1136,09±284ab	1208,61±302a	1172,35±286,11a		
	Rutina bodega	1362,94±324ab	1449,94±345ab	1406,44±327,23ab		
2 fenilacetato	Testigo	18,03±9,02a	19,18±9,59a	18,60±9,01a	ns	ns
	Ext.Trigo sarraceno	25,99±11,26ab	27,65±11,98b	26,82±11,27b		
	Rutina campo	27,55±5,47b	29,31±5,81b	28,43±5,53b		
	Rutina bodega	49,89±2,73bc	53,07±2,90c	51,48±3,18c		
2 metoxifenol	Testigo	525,48±201,87c	590,42±226c	557,95±210,13c	ns	ns
	Ext.Trigo sarraceno	563,08±313,79c	599,02±333c	581,05±313,52c		
	Rutina campo	102,43±11,16a	118,58±30,58a	111,04±11,37a		
	Rutina bodega	311,33±159,21b	331,20±169b	321,27±159,13b		
γ-octolactona	Testigo	234,24±80,24a	291,28±252a	275,26±231,52a	4,97*	ns
	Ext.Trigo sarraceno	402,46±252,06a	374,95±320a	394,96±187,16a		
	Rutina campo	343,85±105,72a	365,80±112a	354,83±106,05a		
	Rutina bodega	318,02±153,30a	243,77±262a	417,96±150,46a		
2 feniletanol	Testigo	28581,14±5246,44a	32113,64±5894,23a	30347,39±5691,99a	ns	ns
	Ext.Trigo sarraceno	26271,36±4237,88a	27948,25±4507,87a	27109,81±4314,56a		
	Rutina campo	26477,97±4464,34a	28168,06±4749,11a	27323,02±4537,77a		
	Rutina bodega	27951,50±7656,77a	29735,64±8144,34a	28843,57±7691,02a		

Tabla 6.24 (Continuación). Media, desviación estándar y ANOVA de los compuestos aromáticos de los vinos de Monastrell analizados a los 12 meses de conservación, en función de los copigmentos aplicados.

Parámetros (µg/L)	Copigmento	2016	2017	Media 2016-2017	Año (p-value)	Interacción Año x Copig (p)
Eugenol	Testigo	95,14±13,78a	106,90±15,49a	101,02±15,41a	ns	ns
	Ext.Trigo sarraceno	103,25±19,23a	109,85±20,45a	106,55±19,48a		
	Rutina campo	88,31±15,63a	87,57±16,63a	87,94±15,83a		
	Rutina bodega	93,09±12,88a	99,04±13,70a	96,07±13,20a		
Ácido decanoico	Testigo	48,28±26,65a	54,24±29,95a	51,26±27,56a	6,33*	ns
	Ext.Trigo sarraceno	72,31±58,17ab	76,93±61,88a	74,62±58,06a		
	Rutina campo	86,89±53,95ab	92,43±57,39a	89,66±53,88a		
	Rutina bodega	100,09±51,35b	106,48±54,63a	103,28±51,33a		
Vainillina	Testigo	34,78±15,86a	38,29±17,42a	36,54±16,20a	ns	ns
	Ext.Trigo sarraceno	68,44±14,48c	70,30±13,10bc	69,37±13,37c		
	Rutina campo	47,28±14,71ab	53,20±33,41b	50,24±25,12b		
	Rutina bodega	62,91±17,80bc	74,67±11,38c	68,79±15,65c		

* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$. *** $p < 0.001$

Los resultados de los 22 compuestos volátiles estudiados, se muestran en la tabla 6.24. Se observa un comportamiento bastante homogéneo entre las dos añadas estudiadas, ya que el ANOVA año entre los dos años muestra muy pocas diferencias significativas. Tal como se hizo en los vinos suplementados con extracto de romero y ácido cafeico, se van a diferenciar los compuestos aromáticos de los vinos suplementados con trigo sarraceno y rutina, en función de su comportamiento. En la Tabla se aprecia que la concentración de β -pineno, n-amyl alcohol, lactato de etilo, 1,2 propilenglicol, 2 feniletanol, γ -octolactona y eugenol, no muestra diferencias significativas en los vinos de las dos cosechas estudiadas. Sin embargo, el cis 3-hexenol, el octanoato de etilo, el linalol y el ácido decanoico, solo muestran diferencias significativas en una de las dos cosechas.

Algunos compuestos están en mayor concentración en los vinos procedentes de uvas tratadas con extracto de trigo sarraceno y rutina, como el dietilsuccinato, el 2 fenilacetato, la vainillina y el octanoato de etilo. Este estudio muestra un claro efecto significativo de la adición de extracto de trigo sarraceno sobre los compuestos como el α -pineno, el isoalerato de etilo, el acetato de isoamilo, el hexanoato de etilo, el decanoato de etilo, cuya concentración es menor en los vinos en los que se ha realizado la adición. Así mismo la adición de rutina en campo o bodega permite obtener vinos con menor concentración de acetato de hexilo, etil-3-hidroxibutirato y 2- metoxifenol. Estos compuestos tienen una gran importancia en el perfil aromático del vino, ya que aportan aromas florales y frutales (Englezos et al., 2016).

En los gráficos 6.11 y 6.12 se observa la diferenciación mediante Análisis Discriminante de los vinos en función de su composición aromática. Mediante las tres funciones discriminantes se obtiene una perfecta diferenciación de los vinos testigo y los tratados en campo con extracto de trigo sarraceno (Función 1), los tratados en campo con rutina pura y los tratados con rutina a la entrada de la bodega (Función 3), pudiendo clasificarse correctamente el 100% de los vinos elaborados en su respectivo grupo, en función de su composición aromática.

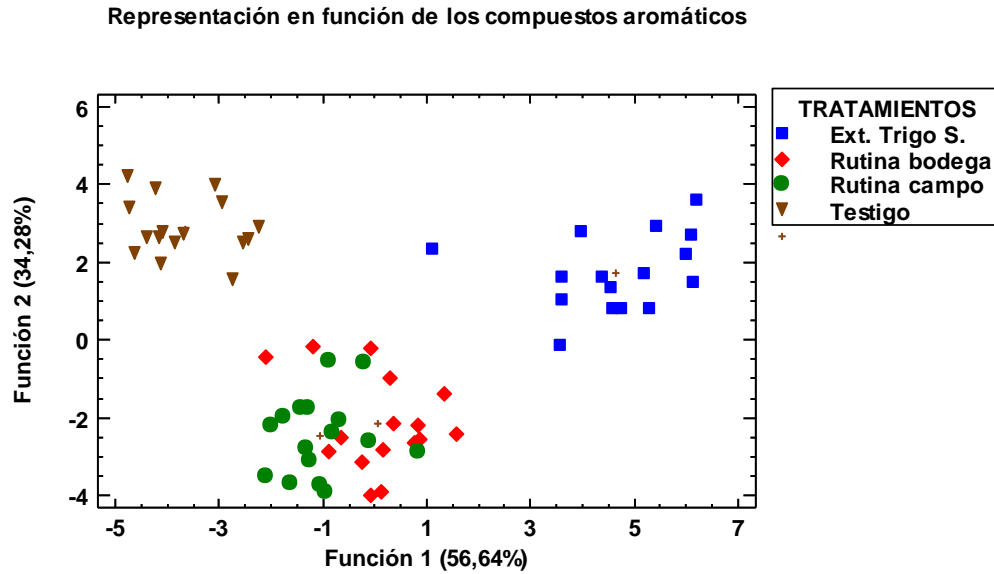


Gráfico 6.12. Representación de los vinos según los compuestos aplicados, en el espacio definido por la primera y segunda función discriminante en función de su composición aromática.

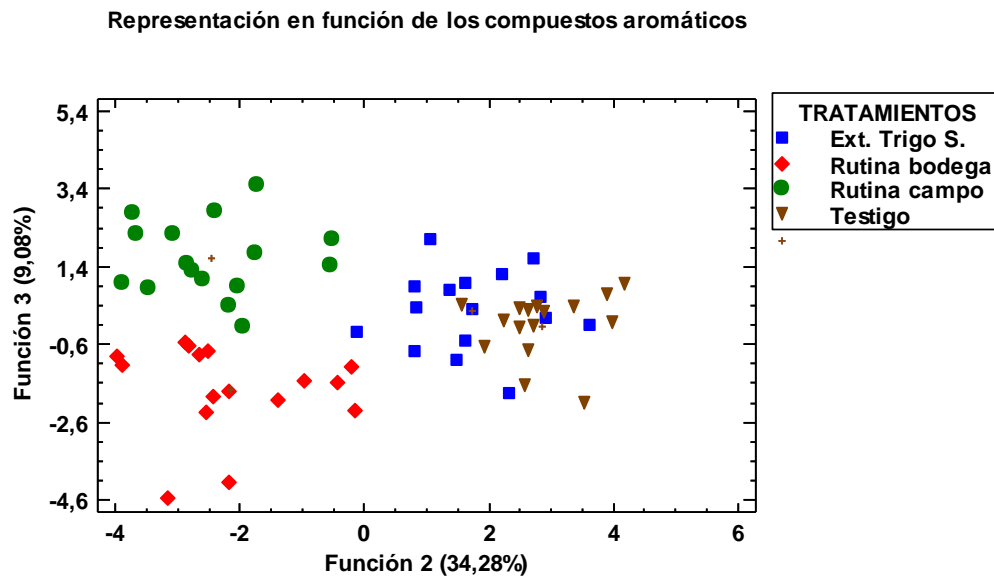


Gráfico 6.13. Representación de los vinos según los compuestos aplicados, en el espacio definido por la segunda y tercera función discriminante en función de su composición aromática.

Tabla 6.25. Coeficientes estandarizados de las 3 funciones discriminantes que permiten diferenciar los vinos según los tratamientos, en función de los compuestos aromáticos.

Compuestos aromáticos	Coeficientes estandarizados de las Funciones Discriminantes		
	1	2	3
α -pineno	0,0810259	0,299252	0,253912
etilisovalerato	-0,483565	0,509441	0,536832
β -pineno	0,57675	0,176575	0,0597074
acetato isoamilo	0,586525	0,685831	-0,00494696
etil hexanoato	-0,786312	-0,242098	-0,231119
n-amyl alcohol	0,381245	0,385651	0,89492

Tabla 6.25 (Continuación). *Coefficientes estandarizados de las 3 funciones discriminantes que permiten diferenciar los vinos según los tratamientos, en función de los compuestos aromáticos.*

Compuestos aromáticos	Coeficientes estandarizados de las Funciones Discriminantes		
	1	2	3
acetato hexilo	0,485974	-0,897121	0,21672
lactato etilo	-0,337115	-0,7171	0,754526
cis 3hexenol	0,0373532	-1,00791	0,15549
octanoato etilo	0,883184	-0,284423	-0,274495
1,2 propilenglicol	-0,918746	-0,47943	-0,0322187
etil3 hidroxibutirato	-1,46266	0,212815	-1,38138
linalol	-0,0806952	1,45531	1,34074
decanoato de etilo	-1,1013	-0,342002	0,664209
dietilsuccinato	2,26858	0,553952	0,0453456
2 fenilacetato	0,216426	-0,00828959	-0,548522
2 metoxifenol	0,295001	0,184004	-1,65142
γ -octolactona	0,223075	-0,551677	1,06207
2 feniletanol	1,44339	0,698869	-0,593187
eugenol	-0,593743	-0,167378	0,0690987
ácido decanoico	0,177884	0,389527	-0,381452
vainillina	0,343863	-0,16342	0,246417

En la tabla 6.25 se puede apreciar que la primera función discriminante permite diferenciar los vinos de extracto de trigo sarraceno de los testigos, y está vinculada principalmente a los compuestos dietilsuccinato, etil-3 hidroxibutirato, 2 feniletanol, octanoato de etilo, y hexanoato de etilo. La tercera función discriminante tiene también un peso importante en la diferenciación, siendo el 2-metoxifenol, linalol, etil-3 hidroxibutirato, γ -octolactona, n-amyl alcohol y lactato de etilo los compuestos responsables de esa diferenciación.

La aplicación de extracto de trigo sarraceno y rutina en las uvas ocasionan mayores diferencias en los compuestos aromáticos de los vinos que en los polifenólicos, y si el Análisis Discriminante se realiza conjuntamente con los parámetros polifenólicos y aromáticos (gráfico 6.14) se observan perfectamente diferenciados los 4 grupos solamente con las dos primeras funciones discriminantes, ya que la primera función no permite la diferenciación de los vinos tratados con rutina en campo y a la entrada en bodega, pero la segunda permite su correcta diferenciación, a pesar de encontrarse bastante próximos los dos grupos.

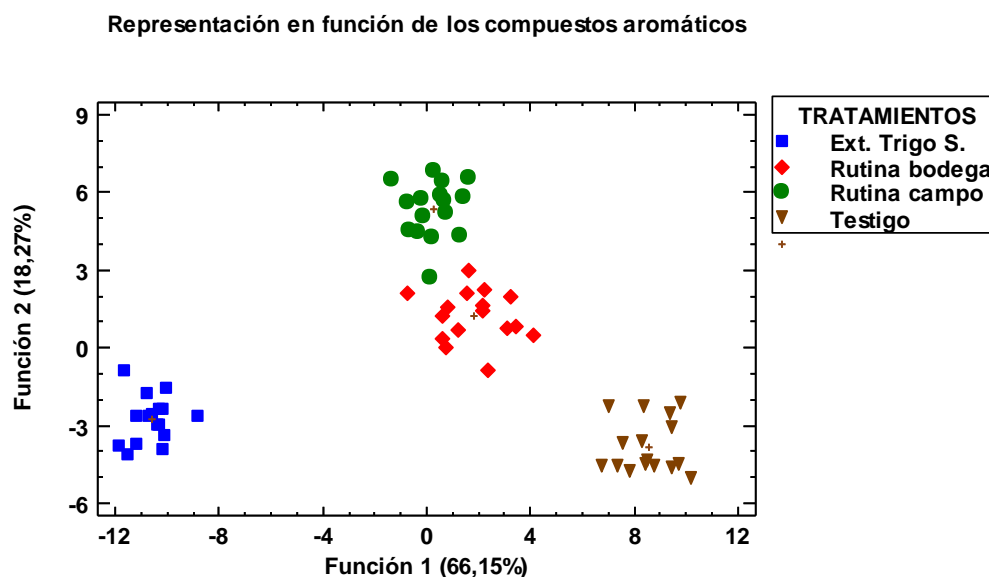


Gráfico 6.14. Representación de los vinos según los compuestos aplicados, en el espacio definido por la primera y segunda función discriminante en función de su composición polifenólica y aromática.

En la tabla 6.26 se observa que la primera función discriminante separa los vinos tratados con extracto de trigo sarraceno, los testigos y el conjunto de los vinos tratados con rutina en campo y bodega, diferencia los vinos de los 3 tratamientos, testigos, tratados con rutina (en campo y bodega) y los tratados con extracto de trigo, y está vinculada principalmente a la concentración de petunidina, al porcentaje de antocianos polimerizados, a la concentración de antocianos totales, al acetato de isoamilo, dietilsuccinato, 2 metoxifenol a la γ -octolactona. La segunda función discriminante (18,27% de la variabilidad) separa los vinos de los tratamientos con rutina, en campo y bodega, siendo el porcentaje de antocianos libres y polimerizados, la concentración de malvidina, el acetato de isoamilo, acetato de hexilo, el lactato de etilo y el linalol, los parámetros más implicados en su diferenciación.

Tabla 6.26. Coeficientes estandarizados de las 3 funciones discriminantes que permiten diferenciar los vinos según los tratamientos, en función de los compuestos polifenólicos y aromáticos.

Compuestos polifenólicos y aromáticos	Coeficientes estandarizados de las Funciones Discriminantes		
	1	2	3
Intensidad Colorante	-2,22326	-0,162647	-0,415475
Tono o matiz	0,239849	-1,109818	-0,50243
% Antocianos copigmentados	0,406179	-0,954917	-0,719806
% Antocianos libres	-0,518728	-2,219056	1,1208
% Antocianos polimerizados	2,6333	-2,05396	-0,238326
Antocianos totales	0,853559	-1,76147	-2,91609
Taninos condensados	-2,77101	-1,617465	1,38125
Polifenoles totales	1,35785	1,29836	-1,15664
Índice de Fólin	-1,19113	-0,348675	-0,467388
Índice de DMACH	-1,948	-0,426724	1,17267
Índice de Gelatina	-0,728539	-0,403202	-0,020633
Malvidina	1,14533	2,45247	4,83601
Peonidina	0,773853	-2,97324	-3,0863
Petunidina	-2,19568	0,967557	-1,46747

Tabla 6.26 (Continuación). Coeficientes estandarizados de las 3 funciones discriminantes que permiten diferenciar los vinos según los tratamientos, en función de los compuestos polifenólicos y aromáticos.

Compuestos polifenólicos y aromáticos	Coeficientes estandarizados de las Funciones Discriminantes		
	1	2	3
Cianidina	-0,336672	-1,26876	-1,09511
Delfinidina	0,570991	2,14868	1,18935
α -pineno	0,381773	-0,261645	-0,211785
Isovalerato de etilo	0,238925	-0,11292	0,751612
β -pineno	0,165706	-0,128862	-0,329584
Acetato de isoamilo	2,89851	-1,209178	-0,908344
Hexanoato de etilo	0,260913	0,844435	1,26791
n-amyl alcohol	1,27191	-0,50157	-1,22757
Acetato de hexilo	0,968653	2,11759	-0,682339
Lactato de etilo	0,61579	1,93366	-0,020716
Cis-3-hexenol	-0,24912	0,48162	1,2589
Octanoato de etilo	-0,870326	0,213914	0,478021
1,2 propilenglicol	0,892592	0,939069	1,23889
Etil-3-hidroxitirato	1,08842	-1,17241	0,305883
Linalol	-0,724702	-1,783108	0,676344
Decanoato de etilo	-0,375247	0,458104	0,348754
Dietilsuccinato	-2,33568	-0,19371	-2,18297
2- fenilacetato	-0,3328	0,228646	-0,071208
2-metoxifenol	2,39277	-1,31025	-2,22883
γ -octolactona	-2,11814	0,46006	0,54302
2 feniletanol	-0,860836	-0,26823	-1,36373
Eugenol	-0,249586	-0,377968	0,296784
Ácido decanoico	-0,408285	-0,351585	0,545312
Vainillina	-1,26138	0,358169	0,762857

6.1.2.2.2. EFECTO DE LAS TÉCNICAS DE VINIFICACIÓN EN LA COMPOSICIÓN DE LOS VINOS

En la tabla 6.27 se recogen las medias y desviaciones estándar junto con el ANOVA para los compuestos polifenólicos estudiados en los vinos de Monastrell tratados con trigo sarraceno y rutina, una vez acabado el proceso de conservación, en función de la técnica de vinificación aplicada.

Tabla 6.27. Media, desviación estándar y ANOVA en los compuestos polifenólicos de los vinos de Monastrell tratados con trigo sarraceno o rutina analizados a los 12 meses de conservación, en función de la técnica de vinificación aplicada.

Parámetros	Técnica vinificación	2016	2017	Media 2016-2017	Año (p-value)	Interacción Año x Téc (p)
Intensidad Colorante	T	9,89±1,67a	11,55±0,91a	10,72±1,57a	26,60***	ns
	MP	10,30±0,50a	11,22±0,72a	10,82±0,77a		
Tono (%)	T	78,28±2,95a	68,94±1,96a	73,61±5,35a	12,63***	ns
	MT	73,17±5,07a	67,68±3,40a	70,03±3,98a		
Antocianos Copigmentados (%)	T	10,97±1,45a	22,44±5,14a	16,70±6,91a	73,56***	ns
	MP	10,70±2,52a	22,77±9,40a	17,60±9,42a		
Antocianos Polimerizados (%)	T	48,77±3,32a	45,83±4,25a	47,30±4,04a	26,83***	ns
	MP	50,45±3,60a	44,36±2,36a	46,97±4,22a		

Tabla 6.27 (Continuación). Media, desviación estándar y ANOVA en los compuestos polifenólicos de los vinos de Monastrell tratados con trigo sarraceno o rutina analizados a los 12 meses de conservación, en función de la técnica de vinificación aplicada.

Parámetros	Técnica vinificación	2016	2017	Media 2016-2017	Año (p-value)	Interacción Año x Téc (p)
Antocianos libres (%)	T	40,26±3,51a	38,19±5,44a	39,23±4,62a	ns	ns
	MP	38,85±3,47a	38,87±2,33a	38,86±2,82a		
Malvidina (mg/L)	T	46,51±11,66a	58,59±11,29a	52,55±12,85a	4,76*	ns
	MP	39,97±11,18a	47,33±14,33a	44,03±13,12a		
Peonidina (mg/L)	T	3,27±0,84a	3,39±0,68a	3,33±0,76a	ns	ns
	MP	3,35±0,99a	3,11±1,19a	3,21±1,09a		
Petunidina (mg/L)	T	5,82±1,63a	6,08±1,27b	5,95±1,45b	ns	6,13*
	MP	5,68±1,59a	4,30±1,82a	4,89±1,83a		
Cianidina (mg/L)	T	2,38±0,60a	2,17±0,36a	2,28±0,50a	6,38*	ns
	MP	2,49±0,60a	2,01±0,67a	2,21±0,67a		
Delfinidina (mg/L)	T	4,73±1,41a	4,87±0,96a	4,80±1,19a	ns	ns
	MP	4,76±1,36a	3,93±1,09a	4,25±1,34a		
Antocianos Totales (mg/L)	T	237,36±17,76a	349,06±52,41a	293,21±68,57a	107,84***	ns
	MP	235,41±25,91a	342,03±56,85a	296,34±70,40a		
Taninos condensados (g/L)	T	1,96±0,41a	2,80±0,59a	2,38±0,69a	28,90***	ns
	MP	2,34±0,67a	2,82±0,57a	2,62±0,65a		
Polifenoles Totales (g/L)	T	1,97±0,12a	1,85±0,06a	1,91±0,11a	17,59***	ns
	MP	2,11±0,06b	1,96±0,09b	2,04±0,11b		
Índice de Folin	T	54,14±5,12a	52,23±6,95a	53,18±6,09a	17,44***	8,21**
	MP	61,05±5,51b	53,41±4,83a	57,25±7,73a		
Índice de DMACH (%)	T	52,26±9,49a	44,70±14,22a	48,48±12,49a	ns	ns
	MP	50,64±15,01a	49,34±11,48a	49,90±12,86a		
Índice de Gelatina (%)	T	41,06±15,20a	40,09±19,16a	40,57±17,02a	ns	ns
	MP	47,47±22,57a	45,90±17,44a	46,57±19,42a		

T: tradicional, MP: maceración prefermentativa; * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$. *** $p < 0.001$

En la mayor parte de los compuestos polifenólicos de los vinos procedentes de uvas tratadas con extracto de trigo sarraceno y rutina, no se observan diferencias significativas, salvo en la concentración de polifenoles totales e Índice de Folin de los vinos elaborados con maceración prefermentativa. En estos vinos los taninos condensados también tienen valor superior, pero la diferencia con los de maceración tradicional no es significativa. Esta diferencia en la concentración de taninos condensados no puede atribuirse a una mayor extracción, puesto que en el análisis postmaloláctica no se ha observado, por lo que sólo puede atribuirse a la mayor estabilidad polifenólica ocasionada por la maceración prefermentativa.

A la vista de los resultados obtenidos en los vinos suplementados con extracto de romero, trigo sarraceno, ácido cafeico y rutina, podemos decir que la técnica de maceración utilizada en la vinificación afecta poco a los compuestos polifenólicos, incrementando la maceración prefermentativa ligeramente la concentración de taninos condensados y polifenoles totales, no afectando a los parámetros relacionados con el color, la concentración de antocianos, la naturaleza de éstos, su estado de unión, ni a los parámetros de calidad de los taninos.

El Análisis Discriminante aplicado a los compuestos polifenólicos no ha permitido diferenciar claramente entre los vinos tratados con copigmentos y fermentados con vinificación tradicional, de los tratados con copigmentos y vinificados con maceración prefermentativa, y los testigos cuyas uvas no han sufrido tratamientos (gráfico 6.15).

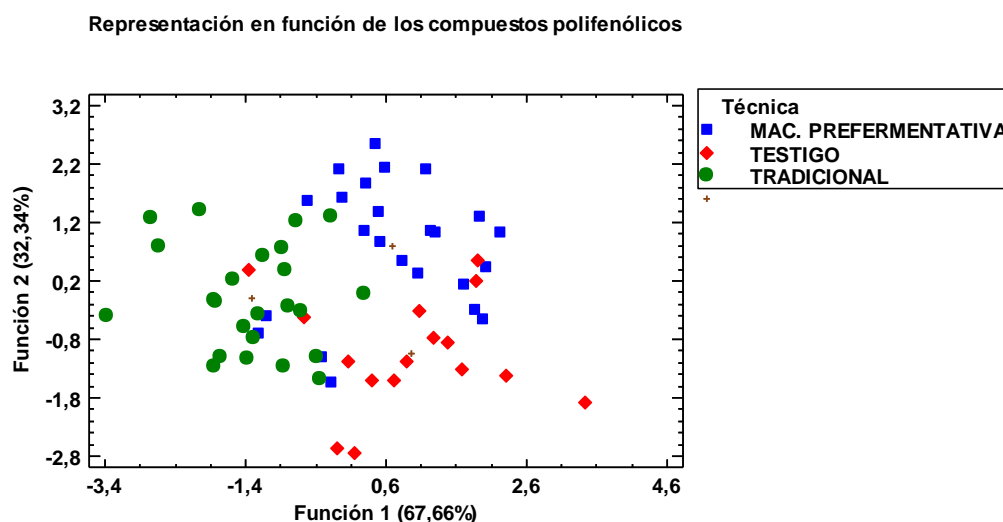


Gráfico 6.15. Representación de los vinos según la técnica de vinificación, en el espacio definido por la primera y segunda función discriminante en función de su composición polifenólica.

En la tabla 6.28 se recoge la composición aromática de los vinos tratados con trigo sarraceno y rutina, una vez concluido el proceso de conservación, a los 12 meses del embotellado.

Tabla 6.28. Media, desviación estándar y ANOVA en los compuestos aromáticos de los vinos de Monastrell tratados con trigo sarraceno o rutina analizados a los 12 meses de conservación, en función de la técnica de vinificación aplicada.

Parámetros (µg/L)	Técnica vinificación	2016	2017	Media 2016-2017	Año (p-value)	Interacción Año x Téc (p)
α-pineno	T	33,91±10,67a	36,70±11,91a	35,30±11,21a	ns	ns
	MP	33,12±8,43a	35,69±9,81a	34,41±9,09a		
β-pineno	T	17,99±5,90b	19,34±6,12b	18,67±5,96b	ns	ns
	MT	11,95±3,11a	12,95±3,58a	12,45±3,34a		
Isovalerato de etilo	T	16,77±5,67a	18,05±6,33a	17,41±5,95a	ns	ns
	MP	21,46±14,55a	23,77±15,70a	22,93±15,01a		
Acetato de isoamilo	T	329,55±76,50a	356,42±87,08a	342,98±81,78a	ns	ns
	MP	397,29±108,68a	430,04±123,5a4	413,66±115,66a		
Hexanoato de etilo	T	170,99±46,74a	184,98±52,44a	177,98±49,38a	ns	ns
	MP	171,23±39,24a	184,82±42,51a	178,03±40,83a		
n-amyl alcohol	T	41,90±11,42b	48,04±11,86b	44,97±11,87b	ns	ns
	MP	33,22±7,60a	35,95±8,84a	34,58±8,23a		
Acetato de hexilo	T	9,54±4,27a	12,51±6,09a	11,03±5,39a	ns	ns
	MP	13,61±4,41b	14,58±4,66a	14,09±4,49a		

Tabla 6.28 (Continuación). Media, desviación estándar y ANOVA en los compuestos aromáticos de los vinos de Monastrell tratados con trigo sarraceno o rutina analizados a los 12 meses de conservación, en función de la técnica de vinificación aplicada.

Parámetros (µg/L)	Técnica vinificación	2016	2017	Media 2016-2017	Año (p-value)	Interacción Año x Téc (p)
Lactato de etilo	T	8781,28±1832a	9489,57±2088a	9135,43±1965a	ns	ns
	MP	8680,79±2117a	9377,28±2335a	9029,04±2221a		
Cis 3-hexenol	T	10,85±1,75a	9,59±1,45a	10,22±1,71a	ns	ns
	MP	15,90±4,92b	15,63±5,77b	15,76±5,28b		
Octanoato de etilo	T	20,70±2,76a	19,51±2,62a	20,10±2,71a	ns	ns
	MP	37,14±17,49b	39,92±18,39b	38,53±17,71b		
1,2 propilenglicol	T	161,57±54,94a	148,60±104,9a8	155,09±82,68a	ns	ns
	MP	117,85±29,47a	105,06±45,29a	111,46±38,14a		
3-hidroxibutirato de etilo	T	50,44±9,36a	54,53±10,93a	52,48±10,23a	ns	ns
	MT	71,97±18,98b	77,77±21,00b	74,87±19,91b		
Linalol	T	39,63±9,31a	40,64±13,47a	40,14±11,40a	ns	ns
	MP	50,29±19,31a	52,89±17,79a	51,59±18,31a		
Decanoato de etilo	T	242,76±41,71a	262,05±46,32a	252,40±44,45a	ns	ns
	MP	274,09±106,56a	296,49±117,0a1	285,29±110,68a		
Dietil succinato	T	1056,54±240a	1138,35±252a	1097,45±245,73a	ns	ns
	MP	1455,35±318b	1672,37±490b	1563,86±421,46b		
2 fenilacetato	T	25,14±14,98a	26,74±15,93a	25,94±15,23a	ns	ns
	MP	35,59±11,44a	37,86±12,17a	36,73±11,67a		
2 metoxifenol	T	318,27±239,46a	349,04±272,96a	333,65±253,07a	ns	ns
	MP	454,92±288,08a	470,57±303,39a	463,00±291,23a		
γ-octolactona	T	345,79±120,71a	387,86±194,10a	373,08±183,48a	4,11*	ns
	MP	303,49±202,78a	250,04±272,74a	348,42±173,93a		
2 feniletanol	T	29515,09±548,67b	31880,68±6184,92a	30697,88±5872,22a	ns	ns
	MP	25125,90±4425,77a	27102,12±4760,45a	26114,01±4631,56a		
Eugenol	T	91,66±12,44a	100,10±14,82a	96,38±13,98a	ns	ns
	MP	94,24±20,38a	101,58±21,48a	97,91±20,93a		
Ácido decanoico	T	118,16±38,18b	126,79±39,27b	122,47±38,35b	20,46***	14,88***
	MP	35,62±14,03a	38,25±14,65a	36,94±14,17a		
Vainillina	T	58,36±19,57a	58,54±26,01a	58,45±22,64a	ns	ns
	MP	48,34±20,03a	59,69±23,91a	54,02±22,45 ^a		

T: tradicional, MP: maceración prefermentativa; * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$. *** $p < 0.001$

La técnica de maceración empleada en la vinificación de los vinos tratados con extracto de trigo sarraceno y rutina afecta significativamente 12 de los compuestos aromáticos estudiados. Los resultados muestran que la maceración tradicional incrementa la concentración de los compuestos β-pineno, n-amyl alcohol, 2 feniletanol y ácido decanoico. Este efecto también se ha encontrado en los vinos elaborados con extracto de romero en los que compuestos α-pineno, n-amyl alcohol, 2-feniletanol y el ácido decanoico, cuya concentración es menor en los vinos elaborados mediante maceración prefermentativa en frío.

Los esteres son un grupo de compuestos muy importantes para el aroma del vino, son generados por las levaduras durante la fermentación alcohólica y están relacionados con aromas afrutados (Etiévant, 1989). Los resultados muestran que la maceración

prefermentativa en frío incrementa la concentración de algunos esteres como acetato de hexilo (manzana, pera), octanoato de etilo (piña, pera, floral), 3-hidroxi-butirato de etilo y dietil succinato (caramelo), deben ser considerados como importantes contribuidores al aroma de los vinos Monastrell. También se produce un aumento de cis 3-hexenol. Mihnea et al. (2015) observaron una concentración más elevada de algunos alcoholes en vinos obtenidos por maceración prefermentativa en frío. González-Neves et al. (2015) hizo una observación similar y planteó la posibilidad de que este efecto resultara de la acción de las levaduras no *Saccharomyces* durante el período de enfriamiento. Álvarez et al. (2006), Moreno-Peréz et al. (2013) y Aleixandre-Tudó et al. (2016) estudiaron el efecto de la maceración prefermentativa en frío con diferentes condiciones en la composición volátil de los vinos. Observaron en general una mejora en la composición aromática y describieron un aumento en la concentración de los esteres y en los aromas frutales, florales y notas a caramelo.

Como ya se ha comentado en el apartado del estudio de la adición de romero y ácido cafeico, estos resultados podrían explicarse porque mediante la técnica de maceración en frío es posible el desarrollo de levaduras criófilas y su influencia en la liberación de ciertos aromas, especialmente ésteres volátiles, lo que supondría una de las ventajas de esta técnica, citadas por otros autores (Charpentier y Feuillat, 1998; Cai et al., 2014; Casassa y Sari 2015). También se ha publicado en otros estudios que a esta temperatura baja puede empezar una fermentación por levaduras autóctonas no *Saccharomyces*, posiblemente del género *Hanseniaspora*, que generan aromas varietales mientras que disminuyen las notas herbáceas.

En el gráfico 6.16 se puede ver que el Análisis Discriminante aplicado a los componentes aromáticos, que permite una perfecta diferenciación de los vinos testigo, los tratados con trigo sarraceno y rutina sometidos a maceración tradicional y los tratados con estos copigmentos vinificados con maceración prefermentativa. La primera función discriminante que separa los vinos sometidos a vinificación tradicional, está vinculada al linalol, el lactato de etilo, el etil 3 hidroxi-butirato y el dietilsuccinato, mientras que la segunda función discriminante permite diferenciar perfectamente los vinos sometidos a maceración prefermentativa y los testigos, siendo principalmente la concentración de acetato de hexilo, ácido decanoico y dietilsuccinato, los que más contribuyen a esta separación (tabla 6.29).

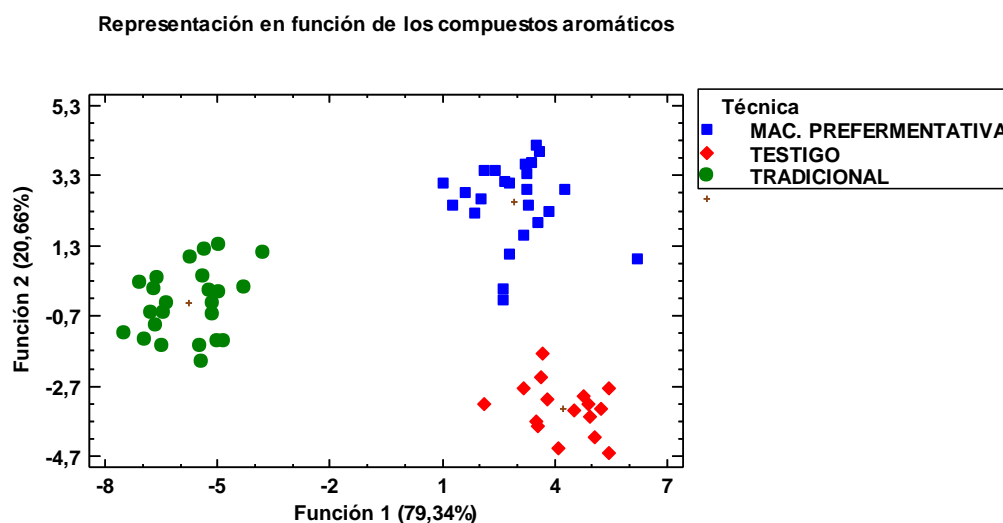


Gráfico 6.16. Representación de los vinos según la técnica de vinificación, en el espacio definido por la primera y segunda función discriminante en función de su composición aromática.

Tabla 6.29. Coeficientes estandarizados de las 3 funciones discriminantes que permiten diferenciar los vinos según las técnicas de vinificación, en función de los compuestos polifenólicos.

Compuestos aromáticos	Coeficientes estandarizados de las Funciones Discriminantes	
	1	2
α -pineno	0,215798	-0,091427
Isovalerato de etilo	0,682006	-0,477282
β -pineno	-0,650859	0,0192875
Acetato de isoamilo	-0,564358	-0,364265
Hexanoato de etilo	0,871474	0,0292167
n-amyl alcohol	-0,413987	-0,127746
Acetato de hexilo	-0,404435	0,974295
Lactato de etilo	-1,16862	-0,0422885
Cis-3-hexenol	-0,208588	0,756766
Octanoato de etilo	0,125983	0,572904
1,2 propilenglicol	0,380314	-0,115523
Etil-3-hidroxibutirato	1,33721	-0,787576
Linalol	1,67066	-0,208985
Decanoato de etilo	0,627145	-0,0994935
Dietilsuccinato	-1,08637	0,727859
2- fenilacetato	0,426131	0,252794
2-metoxifenol	0,114443	-0,0675851
γ -octolactona	-0,692827	0,451307
2 feniletanol	-0,288132	0,187499
Eugenol	0,251993	-0,15727
Ácido decanoico	-0,0499818	-0,250214
Vainillina	0,0514759	0,39565

Si el Análisis Discriminante se realiza con los parámetros polifenólicos y aromáticos (gráfico 6.17), la diferenciación de estos grupos de vinos aún es más evidente, aunque muy similar a la obtenida con los compuestos aromáticos, que son los causantes de esta diferenciación. La primera función discriminante, que separa los vinos sometidos a vinificación tradicional está vinculada al linalol, el lactato de etilo y dietilsuccinato, pero también a la concentración de antocianos totales, malvidina, polifenoles totales e Índice de Fólin; mientras que la segunda función discriminante permite diferenciar perfectamente los vinos sometidos a maceración prefermentativa y los testigos, siendo la concentración de acetato de hexilo, ácido decanoico, dietilsuccinato, etil 3 hidroxibutirato, 2 metoxifenol el porcentaje de antocianos polimerizados, polifenoles totales, la petunidina y la peonidina, los que más contribuyen a esta separación (tabla 6.30).

Representación en función de los compuestos polifenólicos y aromáticos

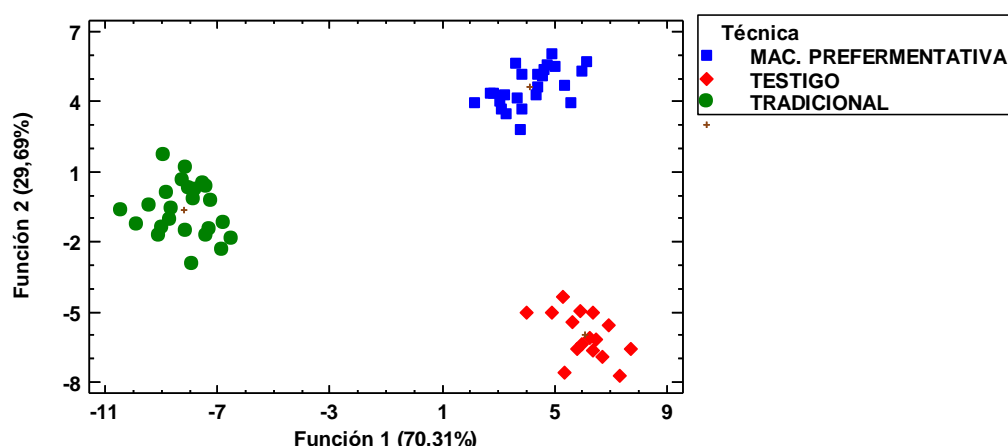


Gráfico 6.17. Representación de los vinos según las técnicas de vinificación, en el espacio definido por la primera y segunda función discriminante en función de su composición polifenólica y aromática.

Tabla 6.30. Coeficientes estandarizados de las 3 funciones discriminantes que permiten diferenciar los vinos según las técnicas de vinificación, en función de los compuestos polifenólicos y aromáticos.

Compuestos polifenólicos y aromáticos	Coeficientes estandarizados de las Funciones Discriminantes	
	1	2
Intensidad Colorante	-0,942629	0,849135
Tono o matiz	-2,3305	-1,00341
% Antocianos copigmentados	-0,174688	-0,729404
% Antocianos libres	1,05884	-0,466815
% Antocianos polimerizados	0,819635	-2,61671
Antocianos totales	-2,01909	-0,814016
Taninos condensados	-0,3795	-0,345002
Polifenoles totales	1,78864	1,78586
Índice de Fólin	-1,437	-0,0604845
Índice de DMACH	0,603131	0,387703
Índice de Gelatina	-0,0207393	0,0561278
Malvidina	2,59592	-0,0646778
Peonidina	-1,54555	-2,03787
Petunidina	-0,0868265	2,50716
Cianidina	-1,40838	-0,955937
Delfinidina	1,48188	1,50859
α -pineno	0,417081	-0,139739
Isovalerato de etilo	0,593917	-0,346108
β -pineno	-0,413571	-0,219402
Acetato de isoamilo	0,757581	-0,818173
Hexanoato de etilo	0,910015	0,355748
n-amyl alcohol	-0,229035	-0,600265
Acetato de hexilo	-0,0554009	1,56716
Lactato de etilo	-1,44466	0,507022
Cis-3-hexenol	-0,578606	0,453441
Octanoato de etilo	0,763968	0,601795
1,2 propilenglicol	0,599781	-0,0685048
Etil-3-hidroxibutirato	1,30027	-1,08919
Linalol	1,89176	0,404595
Decanoato de etilo	0,0741349	0,371866
Dietilsuccinato	-0,499463	1,14298

Tabla 6.30 (Continuación). Coeficientes estandarizados de las 3 funciones discriminantes que permiten diferenciar los vinos según las técnicas de vinificación, en función de los compuestos polifenólicos y aromáticos.

Compuestos polifenólicos y aromáticos	Coeficientes estandarizados de las Funciones Discriminantes	
	1	2
2- fenilacetato	0,466818	0,574363
2-metoxifenol	0,592779	-0,992301
γ -octolactona	-0,650897	1,77003
2 feniletanol	-0,104997	0,0150684
Eugenol	0,344294	-0,158934
Ácido decanoico	0,326074	-0,178978
Vainillina	-0,262286	0,456269

6.1.2.2.3. EFECTO DE LA APLICACIÓN DE ACETALDEHÍDO EN LA COMPOSICIÓN DE LOS VINOS

En la tabla 6.31 se recogen las medias, desviación estándar y ANOVA para los compuestos polifenólicos estudiados una vez acabada la conservación, en función de la aplicación o no de acetaldehído.

Tabla 6.31. Media, desviación estándar y ANOVA en los compuestos polifenólicos de los vinos de Monastrell tratados con trigo sarraceno o rutina analizados a los 12 meses de conservación, en función de la aplicación de acetaldehído.

Parámetros	Aplicación acetaldehído	2016	2017	Media 2016-2017	Año (p-value)	Interacción Año x Acet (p)
Intensidad Colorante	SIN	9,82±1,37a	11,51±0,86a	10,72±1,40a	26,90***	ns
	CON	10,32±1,24a	11,25±0,80a	10,82±1,11a		
Tono (%)	SIN	75,66±3,56a	68,76±2,10a	71,98±4,49a	102,82***	ns
	CON	76,52±3,80a	67,85±3,37a	71,90±5,63a		
Antocianos Copigmentados (%)	SIN	12,10±1,50b	23,96±7,99a	18,36±7,69a	75,50***	ns
	CON	9,61±1,50a	21,25±7,07a	15,88±8,65a		
Antocianos Polimerizados (%)	SIN	48,54±2,75a	43,32±1,75a	45,76±3,86a	31,25***	ns
	CON	50,44±3,03a	46,88±3,86b	48,54±3,89b		
Antocianos libres (%)	SIN	39,36±4,27a	32,72±1,79a	36,04±3,23a	ns	8,8**
	CON	39,95±2,66a	31,87±4,52a	35,91±4,17a		
Malvidina (mg/L)	SIN	37,95±10,76a	49,05±14,53a	43,87±13,89a	4,67*	ns
	CON	49,47±9,90b	54,87±14,05b	52,35±12,39b		
Peonidina (mg/L)	SIN	2,83±0,76a	3,13±1,04a	2,99±0,92a	ns	ns
	CON	3,77±0,78b	3,38±0,89a	3,56±0,85b		
Petunidina (mg/L)	SIN	4,94±1,18a	4,48±1,61a	4,69±1,42a	ns	ns
	CON	6,59±1,53b	5,90±1,72b	6,22±1,65b		
Cianidina (mg/L)	SIN	2,09±0,56a	2,00±0,65a	2,04±0,60a	7,85*	ns
	CON	2,76±0,41b	2,19±0,39a	2,45±0,49b		
Delfinidina (mg/L)	SIN	3,93±1,06a	3,69±0,84a	3,80±0,94a	4,51*	ns
	CON	5,55±1,15b	4,71±1,34b	5,10±1,30b		
Antocianos Totales (mg/L)	SIN	239,13±17,87a	320,76±50,53a	282,34±52,77a	91,62***	17,38
	CON	253,92±16,49b	370,33±46,29b	312,01±52,15b		
Taninos condensados (g/L)	SIN	1,87±0,57a	2,57±0,47a	2,22±0,53a	34,03***	ns
	CON	1,99±0,54a	3,15±0,51b	2,61±0,79a		

Tabla 6.31 (Continuación). Media, desviación estándar y ANOVA en los compuestos polifenólicos de los vinos de Monastrell tratados con trigo sarraceno o rutina analizados a los 12 meses de conservación, en función de la aplicación de acetaldehído.

Parámetros	Aplicación acetaldehído	2016	2017	Media 2016-2017	Año (p-value)	Interacción Año x Acet (p)
Polifenoles Totales (g/L)	SIN	2,05±0,13a	1,81±0,10a	1,92±0,14a	4,06*	ns
	CON	2,01±0,11a	1,90±0,09a	1,95±0,11a		
Índice de Folin	SIN	53,12±4,14a	48,04±5,13a	50,41±5,29a	23,25***	ns
	CON	61,08±5,48b	53,59±5,76b	57,09±6,71b		
Índice de DMACH (%)	SIN	49,82±11,31a	38,93±9,87a	44,01±11,76a	ns	ns
	CON	53,32±12,70a	55,11±10,41b	54,28±11,37b		
Índice de Gelatina (%)	SIN	49,71±19,43a	36,54±19,15a	42,69±20,09a	ns	8,27**
	CON	37,89±16,32a	49,45±15,29b	44,06±16,57a		

Sin: sin acetaldehído; Con: con acetaldehído; * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$. *** $p < 0.001$

La aplicación de acetaldehído durante el primer mes y medio de su proceso de conservación de 12 meses, en los vinos procedentes de uvas tratadas con trigo sarraceno y rutina, ha dado lugar al incremento de los antocianos polimerizados, a costa de los copigmentados, que son superiores en los vinos no tratados con acetaldehído.

También se observa que la aplicación de acetaldehído mantiene más elevada la concentración de malvidina y de las otras fracciones de antocianos pormenorizados, a la vez que la concentración de antocianos totales, pero estas diferencias no son suficientes para que se aprecien diferencias significativas en el color. Picariello et al. (2017) también encontraron ligeras diferencias en la intensidad colorante de los vinos después de 30 días de haber sido sometidos a microoxigenación. Tal y como se observó en los ensayos realizados con extracto de romero y ácido cafeico, las moléculas condensadas, gracias a la microoxigenación, son más estables, frente a reacciones de oxidación, modificaciones de pH, SO₂ (Forino et al., 2020), que explicaría el incremento de la concentración de malvidina, peonidina, petunidina, cianidina y petunidina, antocianos totales y polimerizados en ambas cosechas con respecto a los vinos sin microoxigenar, gracias a las polimerizaciones mediadas por el acetaldehído (Han et al., 2019).

El acetaldehído, también provoca un incremento de los taninos condensados y de los polifenoles totales significativo para el parámetro índice de Folin, y un incremento del grado de polimerización de los taninos (tabla 6.31), que en el caso de los vinos de 2017 dio lugar a una mayor astringencia, que indica la necesidad de mayor tiempo de conservación que permita continuar con la polimerización de sus taninos y de lugar a la reducción de su astringencia.

Estos resultados coinciden con los observados en los vinos tratados con extracto de romero y ácido cafeico cuando se administró acetaldehído, al cabo de los 12 meses de conservación, por lo que parece que la oxidación del etanol, produciendo moléculas unidas mediante el acetaldehído (antociano-tanino o tanino-tanino) es la causa de las diferencias encontradas en la composición polifenólica de los vinos (Silva et al., 2005; Aleixandre-Tudó et al., 2009), no pudiendo atribuirse estas diferencias a la presencia en la uva de unos copigmentos u otros.

Cuando se realiza un Análisis Discriminante con estos vinos, incorporando a ellos los vinos testigo que no proceden de tratamientos de copigmentación, encontramos que la primera función discriminante separa los vinos testigo de los copigmentados con y sin

acetaldehído, siendo los parámetros relacionados con el color, el porcentaje de antocianos polimerizados, la malvidina y los antocianos totales, los compuestos responsables de esta diferenciación; mientras que la segunda función discriminante la que permite separar con bastante eficiencia (91,67%) los vinos procedentes de tratamientos de copigmentación tratados con acetaldehído, de los no tratados con acetaldehído, y según establecen los coeficientes estandarizados de esta segunda función discriminante, esto es debido a las diferencias observadas en el porcentaje de antocianos polimerizados, concentración de malvidina, antocianos totales, taninos condensados, entre otros (gráfico 6.18 y tabla 6.32).

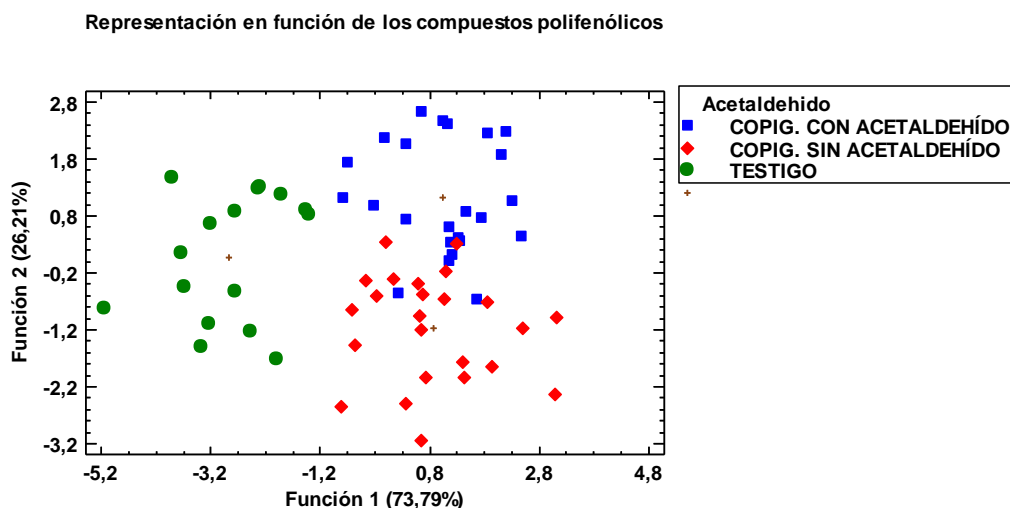


Gráfico 6.18. Representación de los vinos según la aplicación de acetaldehído, en el espacio definido por la primera y segunda función discriminante en función de su composición polifenólica.

Tabla 6.32. Coeficientes estandarizados de las 2 funciones discriminantes que permiten diferenciar los vinos según la aplicación de acetaldehído, en función de los compuestos polifenólicos.

Compuestos polifenólicos	Coeficientes estandarizados de las Funciones Discriminantes	
	1	2
Intensidad Colorante	1,3889	-0,22354
Tono o matiz	-0,634423	-0,180393
% Antocianos copigmentados	0,977116	0,147178
% Antocianos libres	-0,240266	0,763498
% Antocianos polimerizados	-1,32868	0,978704
Antocianos totales	1,03226	-0,45641
Taninos condensados	-0,0593402	0,691116
Polifenoles totales	0,132324	-0,00684015
Índice de Fólin	-0,103003	0,589539
Índice de DMACH	0,418138	0,870756
Índice de Gelatina	-0,0550668	0,222469
Malvidina	2,02178	0,513519
Peonidina	-0,828353	0,127295
Petunidina	0,259598	-0,461479
Cianidina	-0,434176	-0,28584
Delfinidina	0,541359	0,495741

En la tabla 6.33 se recoge la composición aromática de los vinos suplementados con trigo sarraceno y rutina tratados con acetaldehído durante mes y medio, una vez concluido el proceso de conservación.

Tabla 6.33. Media, desviación estándar y ANOVA en los compuestos aromáticos de los vinos de Monastrell tratados con trigo sarraceno o rutina analizados a los 12 meses de conservación, en función de la aplicación de acetaldehído.

Parámetros (µg/L)	Aplicación acetaldehído	2016	2017	Media 2016-2017	Año (p-value)	Interacción Año x Acet (p)
α-pineno	SIN	31,03±9,02a	33,49±10,14a	32,26±9,52a	ns	ns
	CON	36,01±9,52a	38,90±10,97a	37,45±10,21a		
β-pineno	SIN	15,59±7,51a	16,80±7,96a	16,20±7,64a	ns	ns
	CON	14,36±2,60a	15,49±2,80a	14,92±2,72a		
Isovalerato de etilo	SIN	18,13±9,13a	19,41±9,81a	18,77±9,34a	ns	ns
	CON	20,10±13,04a	22,41±14,24a	21,25±13,49a		
Acetato de isoamilo	SIN	385,74±113,01a	385,74±113,01a	371,19±106,49a	ns	ns
	CON	370,20±98,99a	400,72±113,13a	385,46±105,81a		
Hexanoato de etilo	SIN	166,14±44,29a	179,56±48,91a	172,85±46,40a	ns	ns
	CON	176,08±41,35a	190,23±45,87a	183,16±43,56a		
n-amyl alcohol	SIN	36,62±11,87a	41,07±14,75a	38,84±13,37a	ns	ns
	CON	38,50±9,25a	42,92±8,79a	40,71±9,15a		
Acetato de hexilo	SIN	11,59±4,86a	13,14±5,11a	12,37±4,97a	ns	ns
	CON	11,57±4,79a	13,94±5,88a	12,76±5,41a		
Lactato de etilo	SIN	8285,33±2278,56a	8950,74±2507,78a	8618,03±2360,98a	ns	ns
	CON	9176,75±1494,33a	9916,12±1742,12a	9546,43±1640,22a		
Cis 3-hexenol	SIN	13,27±3,87a	12,18±4,15a	12,73±3,96a	ns	ns
	CON	13,47±5,09a	13,04±6,10a	13,26±5,53a		
Octanoato de etilo	SIN	23,72±7,96a	24,50±8,86a	24,11±8,29a	ns	ns
	CON	34,12±18,35a	34,93±20,75a	34,52±19,27a		
1,2 propilenglicol	SIN	129,45±34,97a	110,99±79,36a	120,22±61,05a	ns	ns
	CON	149,97±58,81a	142,66±85,15a	146,32±72,08a		
3-hidroxibutirato de etilo	SIN	60,06±19,96a	64,95±22,23a	62,50±20,93a	ns	ns
	CON	62,35±17,15a	67,36±18,75a	64,85±17,85a		
Linalol	SIN	41,03±11,84a	42,69±15,19a	41,86±13,42a	ns	ns
	CON	48,89±18,63a	50,85±17,65a	49,87±17,88a		
Decanoato de etilo	SIN	252,78±85,81a	272,91±92,76a	262,85±88,49a	ns	ns
	CON	264,06±78,66a	285,63±88,20a	274,84±82,93a		
Dietil succinato	SIN	1250,82±424a	1678,14±1251a	1308,23±450,33a	ns	ns
	CON	1261,06±251a	1757,58±1286a	1353,07±382,69a		
2 fenilacetato	SIN	29,96±15,78a	31,87±16,79a	30,32±16,06a	ns	ns
	CON	30,77±12,81a	32,73±13,63a	31,75±13,05a		
2 metoxifenol	SIN	368,92±264a	383,91±284,86a	376,66±270,54a	ns	ns
	CON	398,89±280a	435,70±303,08a	417,30±288,01a		
γ-octolactona	SIN	313,12±136,49a	285,75±205,09a	358,47±133,88a	4,08*	ns
	CON	336,16±194,25a	352,15±278,89a	363,03±156,74a		
2 feniletanol	SIN	26501,26±6227,76a	28585,81±670,33a	27543,54±6454,09a	ns	ns
	CON	28139,73±4437,45a	30396,98±513,21a	29268,36±4857,45a		

Tabla 6.33 (Continuación). Media, desviación estándar y ANOVA en los compuestos aromáticos de los vinos de Monastrell tratados con trigo sarraceno o rutina analizados a los 12 meses de conservación, en función de la aplicación de acetaldehído.

Parámetros (µg/L)	Aplicación acetaldehído	2016	2017	Media 2016-2017	Año (p-value)	Interacción Año x Acet (p)
Eugenol	SIN	88,42±19,73a	95,39±21,29a	91,90±20,50a	ns	ns
	CON	98,48±11,32a	106,29±12,88a	102,38±12,57a		
Ácido decanoico	SIN	76,29±49,37a	81,90±52,30a	79,10±50,11a	5,85*	ns
	CON	77,50±53,38a	83,14±56,58a	80,32±54,18a		
Vainillina	SIN	53,28±20,98a	60,00±24,26a	56,64±22,57a	ns	ns
	CON	53,43±19,94a	58,23±25,66a	55,83±22,73a		

Sin: sin acetaldehído; Con: con acetaldehído; * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$. *** $p < 0.001$

Al igual que observamos en los vinos tratados con extracto de romero y ácido cafeico, al final del proceso de conservación no se observan diferencias significativas en los compuestos aromáticos de los vinos tratados con extracto de trigo sarraceno y rutina, en función de que hayan sido microoxigenados mediante adición de acetaldehído. Estos resultados se mantienen en los vinos de 2016 y 2017, y las medias de los dos años tampoco muestran diferencias significativas, ni interacción entre la adición o no de acetaldehído y la añada.

La concentración de los compuestos aromáticos no se ha visto modificada por la microoxigenación, aunque otros estudios la han puesto de manifiesto (Sáenz-Navajas et al., 2018), así como la modificación sensorial de la estructura de los taninos y el color de los vinos, así como su composición de volátiles (Schwarz et al., 2005). Estos resultados coinciden con los encontrados por Ortega-Heras et al. (2008) que no observaron cambios significativos en la concentración de compuestos volátiles, concluyendo que el efecto de la microoxigenación sobre los volátiles del vino depende de las principales características del vino, como cultivar, origen o añada. Se han encontrado resultados contradictorios en la literatura con respecto al efecto de la microoxigenación. Cejudo-Bastante et al. (2011a, b, c) informaron efectos variables según el grupo volátil o el compuesto individual investigado. Hernández-Orte et al. (2009), quien remarcó que el efecto de la microoxigenación depende en gran medida del cultivar de uva.

Hemos observado que no existían diferencias significativas en los compuestos aromáticos de estos vinos por el hecho de haber sido microoxigenados mediante adición de acetaldehído, y esto mismo se puede apreciar con el Análisis Discriminante (gráfico 6.19), observándose en él que solo se clasifican correctamente un 75% de los vinos elaborados con maceración prefermentativa y tradicional, lo que indica que la composición aromática no es suficiente para poder diferenciar estos vinos.

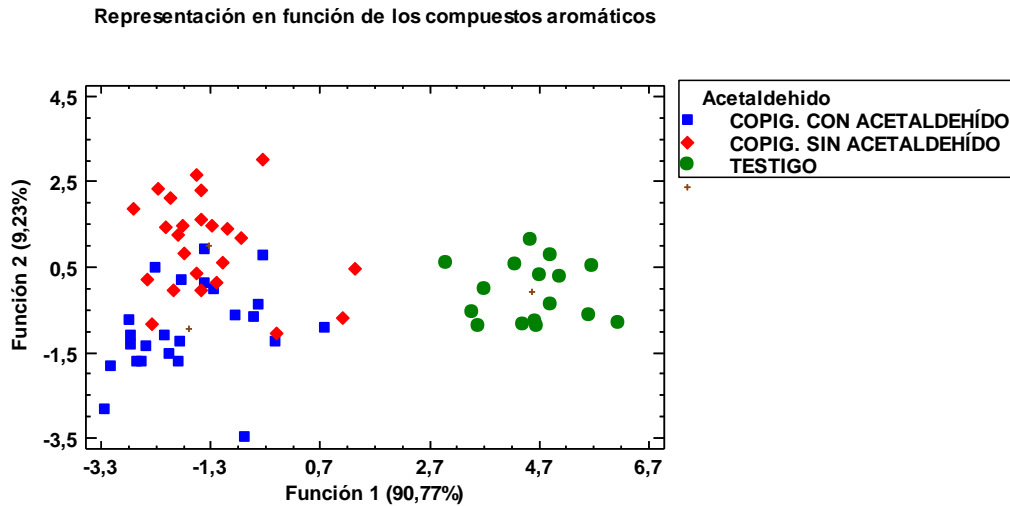


Gráfico 6.19. Representación de los vinos según la aplicación de acetaldehído, en el espacio definido por la primera y segunda función discriminante en función de su composición aromática.

Si el Análisis Discriminante se lleva a cabo con los parámetros polifenólicos y aromáticos conjuntamente (gráfico 6.20), se observan perfectamente diferenciados los vinos tratados en campo de los testigos, pero también los copigmentados conservados con y sin acetaldehído. El tratamiento conjunto de los compuestos polifenólicos y aromáticos permite una perfecta diferenciación de la totalidad de los vinos estudiados.

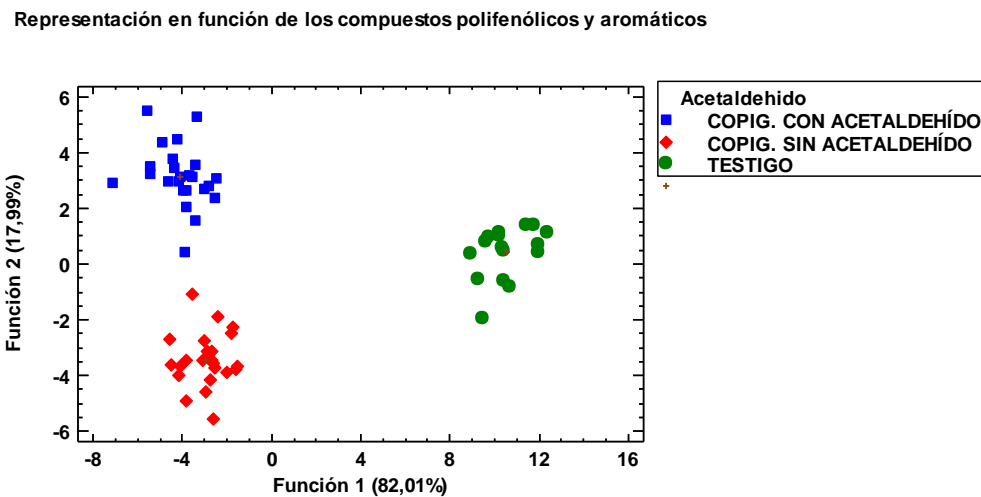


Gráfico 6.20. Representación de los vinos según la aplicación de acetaldehído, en el espacio definido por la primera y segunda función discriminante en función de su composición polifenólica y aromática.

La primera función discriminante, que separa a los vinos testigo de los tratados con copigmentos, está ligada principalmente a los taninos condensados, antocianos libres y polimerizados, concentración de malvidina y de antocianos totales, pero también al acetato de isoamilo, acetato de hexilo, etil 3-hidroxibutirato y γ -octolactona, principalmente; y la segunda función, que separa los vinos procedentes de uvas tratadas con copigmentos, en función de que hayan sido conservadas con o sin acetaldehído, está ligada principalmente al tono, al porcentaje de antocianos polimerizados y libres, a la

concentración de malvidina, de antocianos totales, pero también al dietilsuccinato y al 1,2-propilenglicol y al 2-metoxifenol, principalmente (tabla 6.34).

Tabla 6.34. Coeficientes estandarizados de las 2 funciones discriminantes que permiten diferenciar los vinos según la aplicación de acetaldehído, en función de los compuestos polifenólicos y aromáticos.

Compuestos polifenólicos y aromáticos	Coeficientes estandarizados de las Funciones Discriminantes	
	1	2
Intensidad Colorante	-1,88075	-0,414017
Tono o matiz	1,35072	2,63999
% Antocianos copigmentados	-0,487055	-0,128187
% Antocianos libres	1,16901	2,49957
% Antocianos polimerizados	3,49271	4,47594
Antocianos totales	-0,564897	1,66406
Taninos condensados	-0,959772	1,0394
Polifenoles totales	-0,621257	-0,799451
Índice de Fólin	-0,246344	1,37386
Índice de DMACH	-0,755681	1,20263
Índice de Gelatina	-0,464445	0,654072
Malvidina	-2,66096	2,79814
Peonidina	1,04173	-2,13819
Petunidina	-0,536971	0,540572
Cianidina	0,507769	1,32797
Delfinidina	-1,22865	-0,934648
α -pineno	-0,093633	-0,0734491
Isovalerato de etilo	0,599288	-0,456183
β -pineno	0,281561	0,854564
Acetato de isoamilo	1,41731	-0,540414
Hexanoato de etilo	-0,684989	-0,37822
n-amyl alcohol	0,129283	0,492175
Acetato de hexilo	-1,95056	0,402318
Lactato de etilo	-0,511145	-0,759914
Cis-3-hexenol	-0,913937	0,591995
Octanoato de etilo	-0,504425	0,306037
1,2 propilenglicol	0,566268	-2,57356
Etil-3-hidroxibutirato	1,69934	1,20797
Linalol	1,20256	0,933827
Decanoato de etilo	0,334061	-0,292154
Dietilsuccinato	-0,902087	-2,76353
2- fenilacetato	0,137941	-1,17672
2-metoxifenol	1,04132	1,68561
γ -octolactona	-1,72336	1,30587
2 feniletanol	-0,14397	-0,231528
Eugenol	0,284405	-1,02382
Ácido decanoico	0,000215734	-0,802558
Vainillina	-0,751188	0,609515

6.1.3. ESTUDIO DE LA APLICACIÓN DE EXTRACTO DE TÉ VERDE Y CATEQUINA

En los mostos tratados con extracto de té verde y catequina se comprobó si había diferencias significativas en cuanto a los parámetros convencionales analizados (°Brix, pH y acidez total), no observándose diferencias entre ellos, en ninguno de los años estudiados, lo que nos confirma que no se puede atribuir a los tratamientos en campo ningún efecto sobre dichos parámetros. Entre el año 2016 y 2017, si se han observado diferencias, ya que éste último fue un año más cálido y por lo tanto la madurez de la uva fue más elevada.

No se ha observado un efecto significativo de la aplicación de copigmentos ni de las técnicas de vinificación en los parámetros convencionales (grado alcohólico, pH, acidez total, azúcares residuales y acidez volátil), de los vinos elaborados. Por lo tanto, los resultados que se van a detallar a continuación, van a estudiar el efecto de estos tratamientos sobre la composición polifenólica y aromática, siendo en ellas, donde se han encontrado las diferencias significativas.

Se estudia en primer lugar el efecto, sobre los vinos de Monastrell, de los tratamientos con extracto de té verde en campo, catequina pura en el campo y catequina pura a la entrada en bodega, enfrentándolos a los vinos procedentes de uvas de Monastrell sin tratar. Este efecto se va a estudiar una vez concluida la fermentación maloláctica y al final del proceso de conservación (12 meses), independientemente de que los vinos hayan sido sometidos a maceración tradicional o prefermentativa, y a la aplicación o no de microoxigenación.

También se va a estudiar el efecto de las técnicas de vinificación aplicadas, maceración tradicional y maceración prefermentativa, después de la fermentación maloláctica y a los 12 meses del embotellado, independientemente del tipo de copigmento aplicado. Por último, se estudia el efecto simulado de la microoxigenación mediante adición de acetaldehído durante los 45 días posteriores a la terminación de la fermentación maloláctica, independientemente del tipo de copigmento aplicado y de la técnica de vinificación.

Finalmente, los resultados se han representado gráficamente mediante el análisis discriminante para comprobar si se podían diferenciar los vinos en distintos grupos en función de los copigmentos utilizados, de la técnica de vinificación y de la adición o no de acetaldehído.

6.1.3.1. ESTUDIO DE LA APLICACIÓN DE EXTRACTO DE TÉ VERDE Y CATEQUINA POSTERIORMENTE A LA FERMENTACION MALOLÁCTICA

En la tabla 6.35 aparecen los datos del Análisis simple y multifactorial de la varianza para los factores adición de copigmentos y técnicas de vinificación, así como para la interacción entre ambos, para el año 2016 y 2017, para los compuestos polifenólicos de los vinos analizados después de la fermentación maloláctica.

Tabla 6.35. Análisis simple y multifactorial de la varianza para los factores considerados y su interacción, en los compuestos polifenólicos de los vinos de Monastrell tratados con té verde o catequina analizados después de la fermentación maloláctica.

Compuesto	Copigmento		Técnica de vinificación		Interacción Copig x Técnica	
	2016	2017	2016	2017	2016	2017
Intensidad Colorante	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Tono (%)	13,18***	ns	ns	ns	ns	ns
Antocianos copigmentados (%)	23,77***	20,95***	ns	23,63***	8,65**	10,63**
Antocianos polimerizados (%)	ns	8,38**	ns	ns	ns	ns
Antocianos libres (%)	ns	ns	ns	6,83*	ns	ns
Malvidina (mg/L)	325,60***	15,00***	ns	168,56	17,90***	ns
Peonidina (mg/L)	544,00***	24,85***	380,05***	6,70	4,29*	ns
Petunidina (mg/L)	229,20***	14,04***	4,48*	97,61	11,78**	26,20***
Cianidina (mg/L)	53,34***	12,78***	27,34***	7,67	ns	ns
Delfinidina (mg/L)	85,00***	ns	ns	36,30	4,56*	ns
Antocianos Totales (mg/L)	54,30***	11,73**	ns	126,05	ns	24,42***
Taninos condensados (g/L)	9,50**	7,91**	5,14*	ns	ns	ns
Polifenoles Totales (g/L)	12,91**	15,43***	8,76**	ns	ns	ns
Índice de Folin	ns	6,47*	ns	ns	ns	ns
Índice de DMACH (%)	ns	ns	ns	20,26***	ns	4,56*
Índice de Gelatina (%)	12,19**	ns	12,19**	ns	ns	ns

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

La interacción entre la adición de copigmentos y las técnicas de vinificación se realizó para comprobar inicialmente que no existían interacciones entre los copigmentos adicionados y las técnicas de vinificación aplicadas y si no existe una importante interacción, tratar conjuntamente los datos en función del copigmento aplicado, extracto de té verde en campo, catequina pura en el campo y catequina pura a la entrada en bodega, sin tener en cuenta la técnica de vinificación (tradicional o maceración prefermentativa), y viceversa.

De acuerdo con estos resultados, los compuestos polifenólicos se encuentran bastante afectados por la adición de los distintos copigmentos y en menor medida por las técnicas de vinificación empleadas. La adición de copigmentos tipo catequina, afecta sobre todo a las fracciones polifenólicas determinadas, tal y como se encontró en los ensayos previos realizados con ácido cafeico y rutina; se ven afectados especialmente aquellos compuestos relacionados con el color, es decir, antocianos totales, pormenorizados y además los taninos condensados (Boulton, 2001; Karna et al., 2005; Gordillo et al., 2014; Liu et al., 2021).

Se observa una mínima interacción entre la adición de copigmentos y las técnicas de vinificación, por lo que los efectos de la adición de copigmentos se van a tratar sin tener en cuenta la técnica de vinificación, y las técnicas de vinificación sin considerar el tipo de copigmento aplicado.

6.1.3.1.1. EFECTO DE LOS COPIGMENTOS EN LA COMPOSICIÓN DE LOS VINOS

En la tabla 6.36 se recogen las medias y desviaciones estándar junto con el ANOVA para los compuestos polifenólicos estudiados una vez acabada la fermentación maloláctica, en función de los copigmentos aplicados.

Después de la fermentación maloláctica, los vinos testigo de 2016 presentan una intensidad colorante superior al resto, aunque esa diferencia no es significativa, mientras que los vinos de 2017 presentan un color algo más elevado en los tratados con copigmentos. En cambio, el tono de los vinos es superior cuando los vinos proceden de uvas tratadas con copigmentos; encontrándose este comportamiento tanto en los vinos analizados después de la fermentación maloláctica, como después de 12 meses de embotellado. Sin embargo, el tono en los vinos de la cosecha 2017 no muestra diferencias estadísticamente significativas, debido a que la madurez polifenólica fue superior.

El porcentaje de antocianos copigmentados se comporta de distinta forma en los vinos de 2016 y 2017, ya que en 2016 el menor porcentaje corresponde a los testigos, y en cambio en 2017 los testigos tienen mayor porcentaje de antocianos copigmentados y menor de antocianos polimerizados. Esta situación ha sido observada también en los vinos tratados con extracto de romero, ácido cafeico, extracto de trigo sarraceno y rutina, mostrando los testigos mayor porcentaje de antocianos copigmentados que los tratados, pero también un menor porcentaje de antocianos polimerizados inicialmente para transformarse en antocianos polimerizados durante la conservación (Álvarez et al., 2006; Alexandre-Tudó et al., 2013). La mejor madurez de las uvas de la cosecha de 2017 parece haber potenciado la rápida transformación de antocianos copigmentados en antocianos polimerizados; que, en cambio, con uvas menos maduras no se manifiesta postfermentativamente.

La catequina como copigmento, ha dado como resultado una estabilización de antocianos; la catequina fue el mejor de los copigmentos ensayados por Teixeira *et al.* (2013). La concentración de los distintos antocianos pormenorizados (malvidina, peonidina, petunidina, cianidina y delfinidina), así como de la totalidad de ellos, es superior en los vinos tratados con copigmentos en la cosecha de 2016, especialmente cuando las uvas se han tratado con extracto de té verde y catequina a la entrada en bodega. Anteriormente, ya fue comentado que cuando el copigmento se añade en forma de extracto como romero o trigo sarraceno se incrementa la acción del copigmento añadido en forma de compuesto puro. Cuando se emplea la catequina como copigmento, (González-Manzano et al., 2008; Gordillo et al., 2014; Liu et al., 2021) él podía prevenir la oxidación de la malvidina y del resto de antocianos pormenorizados. En los vinos de 2017, en cambio, no apreciamos diferencias en la concentración de antocianos totales y pormenorizados.

Tal como hemos observado en los vinos tratados con los otros extractos vegetales (romero y trigo sarraceno), la concentración de taninos es significativamente inferior en los vinos de 2016 tratados con extracto de té verde, en relación al testigo y a los vinos adicionados de catequina; mientras que en 2017 es algo inferior, aunque no significativamente. Y estas diferencias dan lugar a que la concentración de polifenoles totales sea inferior en los vinos cuyas uvas han sido tratadas con té verde, ya que la adición de catequina es un aporte real de taninos que contribuyen a incrementar la concentración de taninos en particular y de polifenoles en general. El hecho de que la adición de extracto de té verde incremente la concentración de antocianos mientras que disminuya la de taninos y como consecuencia la de los polifenoles totales, podría ser debido en parte a la

presencia de pequeñas cantidades de etanol en el extracto, que estimulan la formación de etileno en la planta, que puede contribuir a incrementar la síntesis de antocianos (Chervin et al., 2001; Gallegos et al., 2006), pero también puede atribuirse a la estabilidad antociánica ocasionada por la rápida polimerización de sus antocianos.

No se observan diferencias en el grado de polimerización de los taninos, determinados por el Índice DMACH, al contrario de lo encontrado por González-Manzano et al., (2008), que observaron un incremento del grado medio de polimerización de los taninos cuando se adicionaba catequina. Por otra parte, se ha obtenido que la astringencia de los taninos es superior en los vinos tratados con catequina a la entrada en bodega, siendo esa diferencia significativa en los vinos de 2016 y en la media de las dos añadas, atribuible a presencia de mayor cantidad de catequina libre sin haberse polimerizado con los taninos condensados (Kallithraka et al., 1997; Soares et al., 2019), coincidiendo con un menor grado de polimerización de los taninos (mayor valor de Índice DMACH aunque no significativo). Sin embargo, debido a la mayor madurez polifenólica, en la cosecha 2017, no se obtuvieron diferencias significativas en la astringencia entre los distintos ensayos, pero los valores son mayores en 2017 debido a la madurez polifenólica.

Tabla 6.36. Media, desviación estándar y ANOVA de los compuestos polifenólicos de los vinos de Monastrell después de la fermentación maloláctica, en función de los copigmentos aplicados.

Parámetros	Copigmento	2016	2017	Media 2016-2017	Año (p-value)	Interacción Cop x Año (p)
Intensidad Colorante	Testigo	8,95±1,36a	9,93±0,62a	9,34±1,21a	133,12***	7,56**
	Ext.Té verde	7,67±1,15a	10,37±0,29a	9,13±1,84a		
	Catequina campo	7,81±0,78a	10,16±0,18a	8,98±1,33a		
	Catequina bodega	7,63±1,70a	10,53±1,46a	9,08±1,86a		
Tono (%)	Testigo	66,29±6,63a	63,37±3,32a	65,12±5,63a	8,64**	7,07**
	Ext.Té verde	76,09±1,30b	62,68±1,52a	67,15±6,75a		
	Catequina campo	71,34±2,85b	64,67±1,05a	68,00±4,02a		
	Catequina bodega	72,87±1,09b	66,06±2,03a	69,47±3,85a		
Antocianos Copigmentados (%)	Testigo	25,72±3,96a	35,73±1,54b	29,72±5,94a	18,67***	14,01***
	Ext.Té verde	28,38±2,56ab	28,61±2,40a	28,53±2,34a		
	Catequina campo	29,93±6,48b	26,42±5,35a	28,18±6,02a		
	Catequina bodega	33,78±1,15c	27,03±5,84a	30,41±5,35a		
Antocianos Polimerizados (%)	Testigo	25,68±2,37a	21,13±0,30a	23,86±2,92a	ns	ns
	Ext.Té verde	24,83±0,63a	24,70±0,90b	24,74±0,64a		
	Catequina campo	24,39±3,39a	26,76±2,99b	25,58±3,32a		
	Catequina bodega	22,19±3,75a	26,23±4,51b	24,21±3,76a		
Antocianos libres (%)	Testigo	48,60±3,01a	43,14±1,52a	46,42±3,69a	ns	ns
	Ext.Té verde	46,79±1,95a	46,69±1,78a	46,72±1,82a		
	Catequina campo	45,68±3,13a	46,81±3,85a	46,25±3,44a		
	Catequina bodega	44,03±1,17a	46,74±3,07a	45,38±2,65a		
Malvidina (mg/L)	Testigo	118,98±17,82a	188,67±11,22a	153,82±35,43a	5,34**	5,34*
	Ext.Té verde	184,35±5,81c	192,87±20,91a	190,03±18,45b		
	Catequina campo	163,50±20,12b	192,01±12,35a	177,75±21,84b		
	Catequina bodega	170,41±7,67bc	178,78±19,27a	174,60±14,81b		

Tabla 6.36 (Continuación). Media, desviación estándar y ANOVA de los compuestos polifenólicos de los vinos de Monastrell después de la fermentación maloláctica, en función de los copigmentos aplicados.

Parámetros	Copigmento	2016	2017	Media 2016-2017	Año (p-value)	Interacción Cop x Año (p)
Peonidina (mg/L)	Testigo	7,61±0,13a	15,11±1,55b	10,61±3,82a	ns	ns
	Ext.Té verde	12,16±0,26c	9,39±2,25a	10,31±2,36a		
	Catequina campo	9,99±2,07b	9,57±0,62a	9,78±1,49 ^a		
	Catequina bodega	12,00±2,05c	9,26±1,08a	10,63±2,12a		
Petunidina (mg/L)	Testigo	12,21±1,81a	17,64±3,51b	14,38±3,73a	ns	ns
	Ext.Té verde	17,70±0,24b	15,48±1,43a	16,22±1,64a		
	Catequina campo	16,62±1,65b	15,92±0,71a	16,27±1,28a		
	Catequina bodega	16,56±0,74b	14,85±1,59a	15,70±1,49a		
Cianidina (mg/L)	Testigo	3,50±0,51a	3,99±1,03a	3,75±1,45 ^a	ns	ns
	Ext.Té verde	5,96±0,28b	3,54±1,37a	4,35±1,66 ^a		
	Catequina campo	3,93±1,20a	3,56±0,75a	3,75±0,99 ^a		
	Catequina bodega	5,31±0,94b	3,76±1,04a	4,54±1,25 ^a		
Delfinidina (mg/L)	Testigo	8,55±1,08a	12,17±2,77a	10,00±2,61a	ns	ns
	Ext.Té verde	11,97±0,13b	10,21±0,76a	10,79±1,07a		
	Catequina campo	11,78±1,25b	10,18±0,68a	10,98±1,27a		
	Catequina bodega	11,37±0,59b	9,50±1,42a	10,44±1,42a		
Antocianos Totales (mg/L)	Testigo	207,68±13,08a	289,91±1,28a	240,57±42,52a	6,47*	12,33**
	Ext.Té verde	262,28±11,94c	263,24±17,25a	269,59±22,03b		
	Catequina campo	218,16±24,71a	273,22±38,95a	249,19±45,68ab		
	Catequina bodega	277,24±16,28c	270,47±38,89a	273,85±29,01b		
Taninos condensados (g/L)	Testigo	2,02±0,16b	1,52±0,15a	1,77±0,35b	3,94*	ns
	Ext.Té verde	1,77±0,08a	1,43±0,25a	1,55±0,27 ^a		
	Catequina campo	2,07±0,11b	1,56±0,17a	1,81±0,30b		
	Catequina bodega	2,10±0,25b	1,74±0,24b	1,92±0,30b		
Polifenoles Totales (g/L)	Testigo	2,13±0,10b	2,00±0,03b	2,06±0,10b	18,16***	ns
	Ext.Té verde	1,93±0,03a	1,91±0,10a	1,92±0,06 ^a		
	Catequina campo	2,08±0,04b	2,04±0,12b	2,06±0,09b		
	Catequina bodega	2,13±0,14b	1,96±0,02b	2,05±0,13b		
Índice de Fólin	Testigo	53,91±2,99a	52,22±1,07b	53,23±2,52b	14,50***	ns
	Ext.Té verde	55,22±1,70a	45,74±4,26a	48,90±4,84a		
	Catequina campo	53,36±6,17a	52,20±6,57b	52,78±6,18b		
	Catequina bodega	56,32±3,60a	49,43±4,36ab	52,87±5,25b		
Índice de DMACH (%)	Testigo	69,77±5,27a	90,99±4,13a	77,26±16,39a	32,17***	10,93**
	Ext.Té verde	68,32±1,69a	85,12±11,34a	79,52±12,57a		
	Catequina campo	68,78±11,81a	82,80±14,58a	75,79±14,72a		
	Catequina bodega	71,16±5,43a	87,06±16,17a	79,11±12,22a		
Índice de Gelatina (%)	Testigo	49,47±6,62a	74,97±2,21a	59,67±13,84a	128,93***	ns
	Ext.Té verde	38,02±3,43a	72,91±7,49a	55,46±20,64a		
	Catequina campo	49,83±12,66a	70,10±5,46a	59,96±14,08a		
	Catequina bodega	64,31±10,23b	77,97±9,99a	71,14±9,80b		

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

6.1.3.1.2. EFECTO DE LAS TÉCNICAS DE VINIFICACIÓN EN LA COMPOSICIÓN DE LOS VINOS

En la tabla 6.37 se recogen las medias y desviación estándar junto con el ANOVA para los compuestos polifenólicos estudiados una vez acabada la fermentación maloláctica, en función de la técnica de vinificación aplicada, tradicional (T) o maceración prefermentativa (MP).

En los vinos de la cosecha de 2016 procedentes de uvas suplementadas con extracto de té verde y catequina, las técnicas de maceración ensayadas no afectan a los parámetros relacionados con el color, el tipo de antocianos y su estado, pero en cambio la concentración de taninos, de polifenoles totales y la astringencia de los taninos, es superior una vez concluida la fermentación maloláctica en los vinos en los que se ha realizado maceración prefermentativa, estos resultados coinciden con los hallados por diversos autores (Favre et al., 2013; Panprivech et al., 2015; Casassa et al., 2016).

En cambio, en la cosecha 2017 encontramos un mayor porcentaje de antocianos copigmentados y menor de antocianos libres, en los vinos sometidos a maceración prefermentativa, mientras que no hay diferencias en el porcentaje de antocianos polimerizados en función de las técnicas de vinificación. Sí se produce una menor concentración de antocianos totales y por ende de pormenorizados. Esta situación es similar a la observada en los vinos tratados con trigo sarraceno y rutina y coincide también con lo observado por (Soto-Vázquez et al. 2010; Nel et al. 2014; González-Neves et al., 2015).

La maceración prefermentativa en las uvas tratadas con extracto de té verde y catequina el año 2017 ocasionó una disminución de los antocianos, tanto de los totales como de los pormenorizados, situación similar a la observada en los vinos suplementados con extracto de romero y ácido cafeico en la añada 2016 y 2017, pero que no se observó en los vinos procedentes de uvas suplementadas con extracto de trigo sarraceno y rutina, que tampoco mostraron diferencias en sus antocianos en función de la técnica de vinificación. En ninguno de los vinos elaborados se encontraron diferencias significativas en la intensidad colorante.

En cambio, en 2017 no hay diferencias en la concentración de taninos y polifenoles totales, que sí observamos en 2016, y que encontramos en el grado de polimerización de los taninos, este mismo resultado obtuvieron Ortega-Heras et al. (2012).

Tabla 6.37. Media, desviación estándar y ANOVA en los compuestos polifenólicos de los vinos de Monastrell tratados con té verde o catequina analizados después de la fermentación maloláctica, en función de la técnica de vinificación aplicada.

Parámetros	Técnica vinificación	2016	2017	Media 2016-2017	Año (p-value)	Interacción Cop x Año (p)
Intensidad Colorante	T	7,82±1,04a	9,94±0,50a	8,82±1,35a	84,26***	ns
	MP	8,34±1,44a	10,55±0,94a	9,52±1,63a		
Tono (%)	T	72,63±3,69a	63,14±1,72a	68,17±5,61a	45,54***	6,72*
	MP	67,58±6,26a	65,25±2,64a	66,34±4,75a		
Antocianos Copigmentados (%)	T	28,81±3,81a	27,36±6,64a	28,13±5,30a	ns	ns
	MP	29,51±6,60a	31,53±3,00b	30,59±5,02a		
Antocianos Polimerizados (%)	T	24,98±1,77a	25,52±3,97a	25,23±2,98a	ns	ns
	MP	23,61±3,27a	23,89±2,65a	23,76±2,91a		

Tabla 6.37 (Continuación). Media, desviación estándar y ANOVA en los compuestos polifenólicos de los vinos de Monastrell tratados con té verde o catequina analizados después de la fermentación maloláctica, en función de la técnica de vinificación aplicada.

Parámetros	Técnica vinificación	2016	2017	Media 2016-2017	Año (p-value)	Interacción Cop x Año (p)
Antocianos libres (%)	T	46,21±2,23a	47,12±3,67b	46,64±2,98a	ns	ns
	MP	46,88±4,01a	44,57±1,52a	45,65±3,12a		
Malvidina (mg/L)	T	157,51±22,28a	207,47±11,68b	181,02±30,96b	34,62***	ns
	MP	142,95±36,95a	175,04±11,25a	160,07±30,70a		
Peonidina (mg/L)	T	9,37±1,79a	11,86±2,97b	10,54±2,69a	ns	ns
	MP	10,64±2,83a	9,80±2,55a	10,19±2,67a		
Petunidina (mg/L)	T	15,71±1,72a	17,48±2,11b	16,54±2,09b	ns	ns
	MP	14,29±3,46a	14,47±1,13a	14,39±2,46a		
Cianidina (mg/L)	T	4,18±1,17a	4,85±1,49b	4,50±1,35b	ns	ns
	MP	4,61±1,32a	3,57±1,18a	4,05±1,33a		
Delfinidina (mg/L)	T	10,74±1,21a	11,55±1,97b	11,12±1,64b	ns	ns
	MP	10,17±2,35a	9,48±0,97a	9,80±1,76a		
Antocianos Totales (mg/L)	T	223,44±39,01a	293,97±16,78b	256,63±46,78a	41,24***	ns
	MP	232,19±26,71a	254,45±23,09a	244,06±26,89a		
Taninos condensados (g/L)	T	1,98±0,16a	1,57±0,31a	1,79±0,32a	74,78***	ns
	MP	2,17±0,19b	1,55±0,12a	1,84±0,35a		
Polifenoles Totales (g/L)	T	2,03±0,07a	1,98±0,11a	2,01±0,10a	14,76**	ns
	MP	2,16±0,11b	1,97±0,05a	2,06±0,13a		
Índice de Folin	T	53,59±3,81a	51,53±4,94a	52,56±4,34a	25,27***	15,11**
	MP	55,74±4,16a	47,26±2,44a	51,22±5,42a		
Índice de DMACH (%)	T	66,43±9,84a	80,23±14,94a	72,93±14,15a	27,23***	ns
	MP	73,31±14,11a	88,26±9,11b	81,28±13,77b		
Índice de Gelatina (%)	T	46,70±9,91a	72,38±10,46a	58,78±16,42a	78,42***	ns
	MP	58,45±11,51b	72,67±5,62a	66,03±11,30b		

T: tradicional; MP: maceración prefermentativa; * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

6.1.3.2. ESTUDIO DE LA APLICACIÓN DE EXTRACTO DE TÉ VERDE Y CATEQUINA AL FINAL DEL PROCESO DE CONSERVACIÓN DE LOS VINOS

Para poder tratar conjuntamente los datos en función del copigmento aplicado (extracto de té verde y catequina en campo y a la entrada en bodega), hemos comprobado inicialmente la interacción entre los copigmentos, las técnicas de vinificación y el aporte de acetaldehído.

En la tabla 6.38 aparece el ANOVA para la adición de copigmentos, técnicas de vinificación y aplicación de acetaldehído, así como para la interacción entre ellos, en los años 2016 y 2017, para los compuestos polifenólicos y aromáticos de los vinos a los 12 meses de embotellados.

De acuerdo con los ANOVA realizados, los compuestos polifenólicos y aromáticos son afectados por la adición de los copigmentos té verde y catequina, mientras que las técnicas de vinificación prácticamente no afectan a los compuestos polifenólicos, pero sí afectan a los compuestos aromáticos. Con la adición de acetaldehído sucede lo contrario, la microoxigenación, tiene efecto sobre los compuestos polifenólicos, pero no afecta a la composición aromática de los vinos. Este comportamiento coincide con el

observado cuando los tratamientos de las uvas se realizaron con extracto de romero y ácido cafeico, y extracto de trigo sarraceno y rutina.

Por otra parte, se han observado escasas interacciones en los compuestos polifenólicos y aromáticos de los vinos en relación a la interacción entre la adición de copigmentos con las técnicas de vinificación y con la adición de acetaldehído, y de esta última con las técnicas de vinificación, por lo que se van a interpretar conjuntamente los datos en función del copigmento aplicado sin tener en cuenta la técnica de vinificación y la adición de acetaldehído, en función de la técnica de vinificación empleada sin tener en cuenta el tipo de copigmentos aplicados y la adición de acetaldehído, y de la adición de acetaldehído sin tener en cuenta los copigmentos aplicados y la técnica de vinificación.

Tabla 6.38. *Análisis simple y multifactorial de la varianza para los factores considerados y para su interacción, en los compuestos polifenólicos de los vinos de Monastrell tratados con té verde o catequina analizados a los 12 meses del embotellado.*

Compuesto	Copigmento		Técnica de vinificación		Aplicación acetaldehído		Interacción Copig x Téc		Interacción CopigxAcetal		Interacción TécxAcetal	
	2016	2017	2016	2017	2016	2017	2016	2017	2016	2017	2016	2017
Intensidad Colorante	ns	ns	ns	ns	ns	4,55*	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Tono (%)	4,16*	5,05*	3,76*	ns	ns	ns	85,28***	3,74*	ns	ns	ns	ns
Antocianos copigmentados (%)	9,97**	4,23*	ns	ns	22,19***	4,48*	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Antocianos polimerizados(%)	ns	ns	ns	ns	4,23*	28,43**	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Antocianos libres (%)	ns	ns	ns	ns	ns	20,61**	30,78***	ns	ns	ns	ns	15,46***
Malvidina (mg/L)	4,56*	7,28*	ns	ns	7,34**	5,63*	ns	ns	6,77*	ns	ns	ns
Peonidina (mg/L)	3,56*	5,07*	ns	ns	4,24*	ns	ns	ns	ns	ns	4,6*	ns
Petunidina (mg/L)	3,38*	ns	ns	ns	6,78*	10,06**	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Cianidina (mg/L)	3,49*	6,71*	ns	ns	ns	4,94*	ns	3,40*	ns	4,18*	ns	ns
Delfinidina (mg/L)	5,52*	ns	ns	ns	5,95*	31,18**	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Antocianos Totales (mg/L)	4,80*	ns	ns	ns	ns	3,60*	12,41***	ns	ns	3,27*	ns	14,98***
Taninos condensados (g/L)	ns	ns	11,94**	ns	12,11***	76,44	18,66***	ns	ns	ns	ns	ns
Polifenoles Totales (g/L)	ns	14,80**	23,86***	ns	4,80*	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Índice de Folin	ns	ns	4,26	ns	ns	7,74*	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Índice de DMACH (%)	ns	ns	ns	ns	ns	5,18*	14,89***	ns	ns	ns	ns	ns
Índice de Gelatina (%)	ns	ns	ns	ns	4,4*	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
α-pineno (µg/L)	6,93*	3,26*	ns	ns	ns	ns	ns	5,32*	ns	5,80*	ns	ns
β-pineno (µg/L)	ns	ns	ns	ns	ns	ns	5,17*	6,96*	ns	ns	ns	ns
Isovalerato de etilo (µg/L)	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Acetato de isoamilol (µg/L)	7,67*	ns	4,78*	11,76**	ns	ns	ns	6,57*	ns	9,14**	ns	7,16**
Hexanoato de etilo (µg/L)	ns	4,28	6,65*	9,68**	ns	ns	ns	9,97**	ns	ns	ns	ns
n-amyl alcohol (µg/L)	6,12*	ns	6,93*	ns	ns	ns	ns	ns	ns	3,14*	ns	ns
Acetato de hexilo (µg/L)	9,60**	46,35**	13,61**	ns	ns	ns	15,68***	ns	ns	ns	ns	ns
Lactato etilo (µg/L)	ns	3,38*	4,23*	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	7,44*
Cis 3-hexenol (µg/L)	6,57*	8,70**	ns	ns	ns	ns	ns	ns	3,66*	5,82*	ns	ns
Octanoato de etilo (µg/L)	5,42*	4,45*	14,65***	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
1,2 propilenglicol (µg/L)	8,93**	6,83*	ns	ns	ns	ns	ns	17,3***	ns	10,42**	ns	ns
Etil 3-hidroxi-butirato (µg/L)	ns	3,89*	13,76***	7,45**	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Linalol (µg/L)	9,61**	13,09**	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Decanoato de etilo (µg/L)	ns	ns	10,16**	39,11***	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Dietil succinato (µg/L)	ns	4,12*	27,41***	11,56**	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
2 fenilacetato (µg/L)	ns	4,05*	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
2 metoxifenol (µg/L)	6,11*	ns	ns	ns	ns	ns	21,38***	ns	ns	ns	ns	6,47*
γ-octolactona (µg/L)	ns	ns	9,57**	9,15**	ns	ns	ns	9,28**	ns	ns	ns	ns
2 feniletanol (µg/L)	ns	ns	34,01***	13,64**	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Eugenol (µg/L)	4,87*	6,10*	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Ácido decanoico (µg/L)	ns	ns	16,10**	79,92***	ns	ns	11,08***	21,15***	ns	18,79***	ns	10,20***
Vainillina (µg/L)	18,11**	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	3,20*	ns

* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$. *** $p < 0.001$

6.1.3.2.1. EFECTO DE LOS COPIGMENTOS EN LA COMPOSICIÓN DE LOS VINOS

En la tabla 6.39 se recogen la medias y desviación estándar junto con el ANOVA para los compuestos polifenólicos estudiados a los 12 de meses de conservación, en función de los copigmentos aplicados.

Tabla 6.39. Media, desviación estándar y ANOVA en los compuestos polifenólicos de los vinos de Monastrell analizados a los 12 meses de conservación, en función de los copigmentos aplicados.

Parámetros	Copigmento	2016	2017	Media 2016-2017	Año (p-value)	Interacción Cop x Año (p)
Intensidad Colorante	Testigo	9,13±1,01a	11,63±0,90a	10,38±1,31a	26,12***	ns
	Ext.Té verde	8,69±0,01a	10,53±0,94a	9,58±1,58a		
	Catequina campo	8,53±0,40a	11,35±0,78a	9,94±1,57a		
	Catequina bodega	8,23±0,25a	11,08±0,79a	9,65±1,57a		
Tono (%)	Testigo	75,68±3,95a	68,70±2,57ab	72,19±4,83a	27,42***	10,22**
	Ext.Té verde	82,92±0,21b	65,19±4,46a	71,10±9,43a		
	Catequina campo	80,34±1,89b	70,82±1,98b	75,58±5,26a		
	Catequina bodega	81,36±0,92b	66,93±2,56a	74,14±7,68a		
Antocianos Copigmentados (%)	Testigo	9,87±1,25a	16,55±5,59a	13,21±3,72a	39,35***	ns
	Ext.Té verde	13,60±1,64b	24,50±3,02b	20,87±5,94b		
	Catequina campo	12,21±2,07b	27,38±6,95b	19,79±4,35b		
	Catequina bodega	12,46±2,56b	34,75±11,77b	23,60±10,15b		
Antocianos Polimerizados (%)	Testigo	50,47±3,27a	47,64±4,85a	49,05±4,26a	ns	ns
	Ext.Té verde	48,51±0,54a	44,07±3,06a	46,55±2,57a		
	Catequina campo	44,76±1,74a	45,47±2,14a	45,12±2,00a		
	Catequina bodega	44,03±1,20a	45,86±4,62a	44,95±3,39a		
Antocianos libres (%)	Testigo	39,66±4,41a	35,82±6,04a	37,74±5,14a	ns	ns
	Ext.Té verde	43,88±1,36a	41,49±3,49a	42,29±3,11a		
	Catequina campo	43,03±1,52a	40,35±3,12a	41,69±2,75a		
	Catequina bodega	43,51±2,53a	37,66±5,23a	40,58±4,99a		
Malvidina (mg/L)	Testigo	44,99±7,35a	63,13±2,24b	49,06±15,45a	3,74*	ns
	Ext.Té verde	67,84±4,24c	62,05±24,02b	63,98±19,50b		
	Catequina campo	54,14±6,49b	56,56±13,96ab	55,35±10,59ab		
	Catequina bodega	49,76±10,59ab	42,17±18,41a	45,97±15,03a		
Peonidina (mg/L)	Testigo	2,53±0,56a	3,18±0,68a	2,85±1,04a	4,14*	ns
	Ext.Té verde	4,80±0,41c	3,53±1,39b	3,95±1,29a		
	Catequina campo	3,71±0,37b	3,08±0,68a	3,39±0,62a		
	Catequina bodega	3,99±1,19b	2,35±0,95a	3,17±1,34a		
Petunidina (mg/L)	Testigo	4,54±1,24a	4,38±0,56a	5,46±1,33a	5,83*	ns
	Ext.Té verde	7,97±0,85c	6,43±2,14a	6,95±1,92b		
	Catequina campo	6,65±0,94bc	5,45±1,77a	6,05±1,50ab		
	Catequina bodega	5,84±1,63b	4,71±1,90a	5,27±1,81a		
Cianidina (mg/L)	Testigo	2,04±0,33a	2,07±0,30b	2,05±0,38a	12,42**	6,76*
	Ext.Té verde	2,93±0,17b	2,15±0,57b	2,41±0,60a		
	Catequina campo	2,49±0,27b	1,84±0,25ab	2,17±0,42a		
	Catequina bodega	2,69±0,53b	1,53±0,55a	2,11±0,79a		

Tabla 6.39 (Continuación). Media, desviación estándar y ANOVA en los compuestos polifenólicos de los vinos de Monastrell analizados a los 12 meses de conservación, en función de los copigmentos aplicados.

Parámetros	Copigmento	2016	2017	Media 2016-2017	Año (p-value)	Interacción Cop x Año (p)
Delfinidina (mg/L)	Testigo	3,74±0,84a	4,87±0,78a	4,30±0,97a	ns	ns
	Ext.Té verde	5,83±1,40c	4,70±1,89a	5,07±1,77a		
	Catequina campo	5,44±0,77b	4,28±1,11a	4,86±1,10a		
	Catequina bodega	4,59±1,02ab	3,59±1,65a	4,09±1,42a		
Antocianos Totales (mg/L)	Testigo	223,59±17,39a	303,21±53,02a	263,40±56,07a	2,49*	ns
	Ext.Té verde	251,68±18,3b	298,27±57,41a	282,74±52,11ab		
	Catequina campo	253,27±16,05b	354,01±46,10b	303,64±41,79b		
	Catequina bodega	251,03±15,37b	316,24±35,92a	283,63±42,97ab		
Taninos condensados (g/L)	Testigo	2,01±0,08b	1,98±0,07b	1,95±0,11b	ns	ns
	Ext.Té verde	1,74±0,05a	1,59±0,16a	1,64±0,15a		
	Catequina campo	2,05±0,08b	1,92±0,10b	1,99±0,11b		
	Catequina bodega	2,13±0,13c	1,84±0,09b	1,98±0,18b		
Polifenoles Totales (g/L)	Testigo	2,06±0,92a	2,21±0,68a	2,14±0,86b	ns	ns
	Ext.Té verde	2,62±0,80a	2,45±0,30a	2,51±0,49a		
	Catequina campo	2,21±0,34a	2,78±0,70a	2,49±0,61a		
	Catequina bodega	2,49±0,78a	2,73±0,64a	2,61±0,70a		
Índice de Folin	Testigo	54,38±7,92a	48,43±1,95a	51,40±6,36a	6,71*	ns
	Ext.Té verde	52,66±5,97a	46,30±5,88a	48,42±6,44a		
	Catequina campo	59,87±5,98a	50,71±7,50a	55,29±8,08a		
	Catequina bodega	54,89±3,18a	53,20±8,47a	54,05±6,25a		
Índice de DMACH (%)	Testigo	47,71±17,06a	47,33±8,93a	47,52±14,21a	ns	3,39*
	Ext.Té verde	40,04±9,75a	60,89±16,79a	53,94±17,62a		
	Catequina campo	50,70±6,03a	48,00±11,62a	49,35±9,05a		
	Catequina bodega	50,99±13,26a	48,91±12,46a	49,95±12,48a		
Índice de Gelatina (%)	Testigo	24,16±3,74a	52,10±15,77a	38,00±17,90a	34,13***	ns
	Ext.Té verde	22,54±2,14a	52,44±15,40a	42,47±19,20a		
	Catequina campo	23,63±5,66a	47,78±16,99a	35,70±17,46a		
	Catequina bodega	22,06±1,49a	49,96±15,36a	36,01±17,86a		

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$

Al final del proceso de conservación no se observan diferencias en la intensidad colorante de los vinos, a diferencia de lo observado después de la fermentación; en cambio, el tono es superior en los vinos copigmentados, tal como sucedía una vez acabada la fermentación maloláctica.

El porcentaje de antocianos copigmentados es superior en los vinos tratados con copigmentos, y hay que destacar la caída del porcentaje de antocianos copigmentados en los vinos de 2016 y en los vinos testigo de 2017, mientras que el porcentaje de los tratados con copigmentos en 2017 prácticamente no sufrió cambios. Sí se ha observado un considerable incremento de los antocianos polimerizados, por efecto del copigmento (Bimpilas et al., 2016) que se habrá producido a costa de los copigmentados, ya que el porcentaje de antocianos libres prácticamente no ha variado. Pero, a diferencia de lo observado después de la fermentación maloláctica en los vinos de 2017, no hay diferencias significativas entre los testigos y los vinos adicionados de copigmentos, tal

como observamos cuando se adicionaron los otros copigmentos, es decir, ácido cafeico y rutina (Álvarez et al., 2006; Aleixandre-Tudó et al., 2013).

Al cabo de 12 meses de conservación se produce un importante descenso de la concentración de malvidina (Zhang et al., 2021) y de los otros antocianos pormenorizados, pero su concentración sigue siendo superior en los vinos tratados con copigmentos en la cosecha de 2016, gracias a la presencia de catequina porque ayuda a estabilizar la malvidina (González-Manzano et al., 2008; Gordillo et al., 2014; Zhao et al., 2020; Liu et al., 2021), especialmente cuando las uvas se han tratado con extracto de té verde y catequina a la entrada en bodega. La concentración de antocianos totales, en cambio, se mantiene durante la conservación de los vinos, siendo superior en los vinos tratados con extracto de té verde y catequina (Teixeira et al., 2013).

Al igual que se observó después de la fermentación maloláctica, y en los vinos tratados con los otros extractos vegetales, la concentración de taninos condensados es significativamente inferior en los vinos tratados con extracto de té verde, mientras que la concentración de polifenoles al cabo de 12 meses es similar para todos los vinos. No se obtienen tampoco diferencias en el grado de polimerización de los taninos, ni en la astringencia de los taninos de las dos añadas al cabo de 12 meses de acabada la fermentación. Sin embargo, el aporte de catequina como copigmento debería haber incrementado el grado de polimerización de taninos según González-Manzano et al., (2008), reduciendo la astringencia, pero sí se ha obtenido una reducción de la astringencia e incremento del grado de polimerización durante el tiempo de conservación.

Para visualizar las diferencias en la composición polifenólica de los vinos tratados con extracto de té verde y catequina (ya sea en campo o bodega), se recoge a continuación el Análisis Discriminante de los parámetros polifenólicos de los vinos analizados a los 12 meses de conservación, tratando conjuntamente los datos de las cosechas 2016 y 2017.

Como podemos observar en los gráficos 6.21 6.22 y en la tabla 6.40, con los parámetros polifenólicos estudiados, la primera función discriminante nos permite diferenciar los vinos procedentes de tratamientos con extracto de té verde en campo, siendo los taninos condensados y la malvidina y delfinidina, los compuestos que más peso tienen en esta diferenciación. La segunda función discriminante separa los vinos testigo de los tratados con catequina en campo de los testigos (principalmente debido a la cianidina, petunidina y malvidina), y la tercera los vinos de uvas tratadas con catequina en bodega, pero aún con el apoyo de las tres funciones discriminantes, no es posible la completa diferenciación de los vinos, ya que solo un 88,78 % de los vinos tratados con catequina en campo y a la entrada en bodega, se clasifican adecuadamente en su correspondiente grupo.

Representación en función de los compuestos polifenólicos

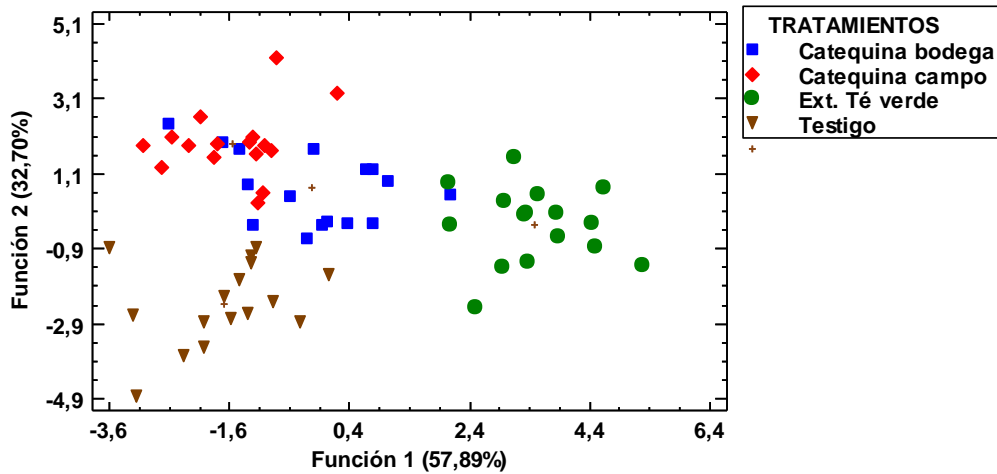


Gráfico 6.21. Representación de los vinos según los compuestos aplicados, en el espacio definido por la primera y segunda función discriminante en función de los parámetros polifenólicos.

Representación en función de los compuestos polifenólicos

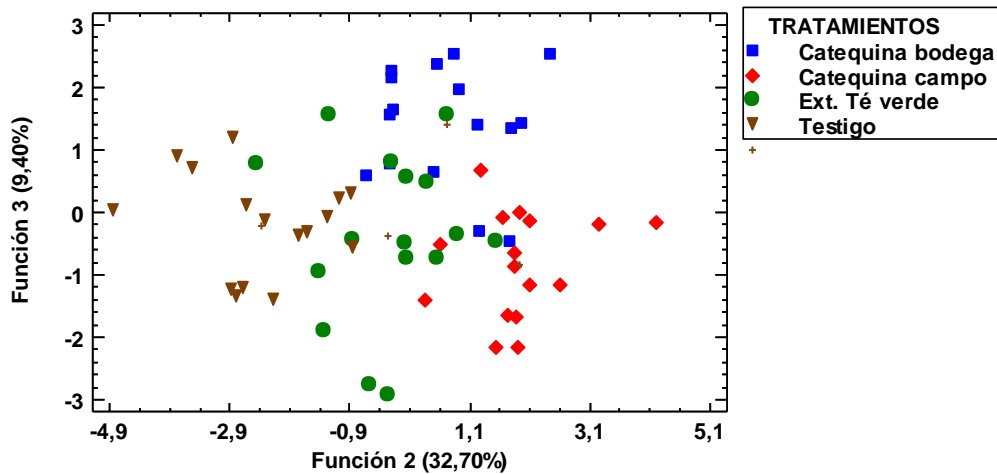


Gráfico 6.22. Representación de los vinos según los compuestos aplicados, en el espacio definido por la segunda y tercera función discriminante en función de los parámetros polifenólicos.

Los resultados obtenidos a través del Análisis Discriminante, coinciden con los obtenidos en la tabla 6.37, la concentración de malvidina es estadísticamente superior en los vinos tratados con extracto de té verde, sobre todo en la cosecha 2016, debido a que la presencia de catequina parece ayudar a estabilizar la malvidina (González-Manzano et al., 2008, Gordillo et al., 2014, Zhao et al., 2020; Liu et al., 2021). Por otra parte, la concentración de taninos condensados era significativamente inferior en los vinos tratados con extracto de té verde (tabla 6.37), este hecho permite separar muy bien gracias a la primera función discriminante, los vinos tratados con el extracto de té verde.

Tabla 6.40. Coeficientes estandarizados de las 3 funciones discriminantes que permiten diferenciar los vinos según los tratamientos, en función de los compuestos polifenólicos.

Compuestos polifenólicos	Coeficientes estandarizados de las Funciones Discriminantes		
	1	2	3
Intensidad Colorante	-0,958576	0,289129	-0,501789
Tono o matiz	-0,594851	0,53882	-0,45964
% Antocianos copigmentados	0,209964	0,983915	0,611638
% Antocianos libres	0,580131	-0,112228	-0,228932
% Antocianos polimerizados	-0,208053	-0,985174	-0,0405645
Antocianos totales	-0,546553	0,964566	-0,695794
Taninos condensados	1,03083	0,203883	-0,165987
Polifenoles totales	-1,42668	0,414674	0,077248
Índice de Fólin	-0,493441	1,10445	-0,118326
Índice de DMACH	0,602866	0,826555	-0,0982203
Índice de Gelatina	-0,402327	-0,486476	-0,402618
Malvidina	-1,19326	1,04886	-2,17698
Peonidina	0,099138	-2,11727	4,21584
Petunidina	0,51591	0,112873	-1,39576
Cianidina	-0,295265	2,14181	-3,66261
Delfinidina	1,10177	-1,01673	2,747

Por otra parte, se ha determinado también la composición aromática de los vinos una vez concluido el proceso de conservación (tabla 6.41), a los 12 meses del embotellado, con el objetivo de realizar un análisis comparativo de los resultados y establecer si las técnicas enológicas ensayadas dan lugar a diferencias significativas en los compuestos aromáticos.

En la tabla 6.41 se observa diferente comportamiento en los compuestos aromáticos analizados, dependiendo de la forma y del momento de la adición del copigmento. No se han encontrado diferencias significativas por la suplementación en las uvas de extracto de té verde y catequina en la concentración de 8 de los compuestos volátiles estudiados, tales como el β -pineno, isovalerato de etilo, hexanoato de etilo, el lactato de etilo, etil 3-hidroxi butirato, decanoato de etilo, dietilsuccinato, γ -octolactona, el 2 feniletanol y el ácido decanoico.

Estos copigmentos son los que menos efecto tienen en la composición aromática de los vinos, aunque muchos de estos compuestos, como el isovalerato de etilo, el decanoato de etilo, el 2 feniletanol y el ácido decanoico, tampoco fueron influidos por la adición de romero y ácido cafeico, y el β pineno, el lactato de etilo, el 2 feniletanol y γ -octolactona tampoco lo fueron por la adición de extracto de trigo sarraceno y rutina.

Solo el octanoato de etilo está en mayor concentración en todos los vinos procedentes de uvas tratadas con extracto de té verde y catequina, mientras que el linalol y el eugenol están en mayor concentración en los vinos de uvas tratadas con té verde y el acetato de hexilo, 2 feniletacetato y la vainillina en los vinos tratados con catequina en campo.

Estos resultados son importantes, ya que los ésteres presentes en los vinos son muy variados y contribuyen de modo significativo en el aroma, a pesar de no encontrarse en elevadas concentraciones. Los ésteres aportan a los vinos un aroma fresco y afrutado (Ivit et al., 2018). El acetato de hexilo y 2-feniletacetato aportan aromas florales y el octanoato de etilo aporta aromas frutales (Saerens et al., 2010; Holt et al., 2012; Alarcón, 2016; Belda, 2017). A nivel organoléptico, también son importantes linalol (aroma floral), vainillina (aroma a vainilla), eugenol (aroma especiado).

Otros compuestos volátiles están en menor concentración cuando las uvas se tratan con extracto de té verde, como el α -pineno y el acetato de isoamilo, tal como sucedía en los vinos tratados con extracto de romero y de trigo sarraceno.

Tabla 6.41. Media, desviación estándar y ANOVA en los compuestos aromáticos de los vinos de Monastrell analizados a los 12 meses de conservación, en función de los compuestos aplicados.

Parámetros ($\mu\text{g/L}$)	Copigmento	2016	2017	Media 2016-2017	Año (p-value)	Interacción Copig x Año (p)
α -pineno	Testigo	41,37 \pm 6,27b	46,48 \pm 7,05b	43,93 \pm 6,97b	4,52*	ns
	Ext.Té verde	29,47 \pm 5,29a	33,11 \pm 5,94a	31,29 \pm 5,75a		
	Catequina campo	32,22 \pm 7,58a	36,20 \pm 8,51ab	34,21 \pm 8,05a		
	Catequina bodega	30,62 \pm 3,32a	34,40 \pm 3,73ab	32,51 \pm 3,93a		
β -pineno	Testigo	14,37 \pm 1,24a	16,15 \pm 1,40a	15,26 \pm 1,57a	ns	ns
	Ext.Té verde	16,78 \pm 8,79a	18,68 \pm 10,00a	17,73 \pm 9,15a		
	Catequina campo	18,47 \pm 6,79a	20,76 \pm 7,63a	19,61 \pm 7,08a		
	Catequina bodega	16,92 \pm 7,14a	19,01 \pm 8,02a	17,97 \pm 7,41a		
Isovalerato de etilo	Testigo	18,60 \pm 5,97a	20,90 \pm 6,71a	19,75 \pm 6,25a	ns	ns
	Ext.Té verde	17,84 \pm 3,59a	20,42 \pm 3,90a	19,13 \pm 3,86a		
	Catequina campo	22,50 \pm 10,02a	16,86 \pm 4,57a	19,68 \pm 14,33a		
	Catequina bodega	15,09 \pm 2,82a	16,95 \pm 3,17a	16,02 \pm 3,05a		
Acetato de isoamilo	Testigo	442,84 \pm 71,14b	497,57 \pm 79,93b	470,21 \pm 78,37b	5,22*	ns
	Ext.Té verde	307,31 \pm 66,42a	345,29 \pm 74,63a	326,30 \pm 71,01a		
	Catequina campo	352,43 \pm 30,39a	395,99 \pm 34,15a	374,21 \pm 38,49a		
	Catequina bodega	356,38 \pm 54,68a	400,43 \pm 61,44a	378,41 \pm 60,61a		
Hexanoato de etilo	Testigo	191,84 \pm 17,88a	215,55 \pm 20,09b	203,70 \pm 22,08a	4,61*	ns
	Ext.Té verde	182,32 \pm 65,55a	204,86 \pm 73,66a	193,59 \pm 68,36a		
	Catequina campo	158,93 \pm 24,06a	178,57 \pm 27,03a	168,75 \pm 26,72a		
	Catequina bodega	161,55 \pm 13,63a	181,52 \pm 15,31a	171,53 \pm 17,39a		
n-amyl alcohol	Testigo	43,52 \pm 7,33b	45,74 \pm 14,04a	44,63 \pm 10,88b	ns	ns
	Ext.Té verde	27,30 \pm 4,96a	29,48 \pm 6,73a	28,39 \pm 5,82a		
	Catequina campo	40,08 \pm 10,17b	45,04 \pm 11,43a	42,56 \pm 10,76b		
	Catequina bodega	39,51 \pm 9,00b	44,39 \pm 10,11a	41,95 \pm 9,59b		
Acetato de hexilo	Testigo	8,56 \pm 0,80a	10,30 \pm 5,43a	9,43 \pm 3,86a	ns	ns
	Ext.Té verde	13,68 \pm 5,32b	9,53 \pm 2,57a	11,60 \pm 4,57a		
	Catequina campo	15,44 \pm 2,88b	17,19 \pm 3,39b	16,32 \pm 3,17b		
	Catequina bodega	8,98 \pm 1,35a	9,68 \pm 1,92a	9,33 \pm 1,64a		
Lactato de etilo	Testigo	9710,64 \pm 1630,45a	10910,83 \pm 1832,67a	10310,74 \pm 1786,34a	4,32	ns
	Ext.Té verde	11517,11 \pm 3642,98a	12940,62 \pm 4093,89a	12228,88 \pm 3814,55a		
	Catequina campo	9609,38 \pm 1559,12a	10797,06 \pm 1751,88a	10203,22 \pm 1715,11a		
	Catequina bodega	10115,65 \pm 1485,33a	11365,90 \pm 1668,43a	10740,78 \pm 1657,76a		
Cis 3-hexenol	Testigo	11,81 \pm 2,24b	17,48 \pm 5,14b	14,65 \pm 4,82b	6,05*	ns
	Ext.Té verde	9,14 \pm 4,31ab	11,01 \pm 3,29ab	10,07 \pm 3,83ab		
	Catequina campo	7,90 \pm 1,52a	6,96 \pm 1,40a	7,43 \pm 1,49a		
	Catequina bodega	14,13 \pm 3,45c	15,88 \pm 3,87b	15,00 \pm 3,66b		
Octanoato de etilo	Testigo	20,62 \pm 7,83a	25,32 \pm 6,73a	22,97 \pm 7,46a	ns	ns
	Ext.Té verde	25,69 \pm 6,81ab	27,51 \pm 8,69a	26,60 \pm 7,60a		
	Catequina campo	38,99 \pm 12,59c	44,59 \pm 13,43c	41,79 \pm 12,30b		
	Catequina bodega	32,23 \pm 10,44bc	33,19 \pm 17,34b	32,71 \pm 13,84ab		

Tabla 6.41 (Continuación). Media, desviación estándar y ANOVA en los compuestos aromáticos de los vinos de Monastrell analizados a los 12 meses de conservación, en función de los compuestos aplicados.

Parámetros (µg/L)	Copigmento	2016	2017	Media 2016-2017	Año (p-value)	Interacción Copig x Año (p)
1,2 propilenglicol	Testigo	170,82±64,27c	188,84±73,91c	179,83±67,55c	ns	ns
	Ext.Té verde	82,94±12,58a	79,75±14,99a	81,34±13,47a		
	Catequina campo	131,10±35,71b	147,30±40,13bc	139,20±37,64b		
	Catequina bodega	90,34±18,79a	101,51±21,11b	95,92±20,15a		
Etil 3-hidroxitirato	Testigo	69,52±16,21a	78,11±18,21b	73,82±17,24a	4,29*	ns
	Ext.Té verde	56,68±20,44a	67,48±19,89a	62,08±20,26a		
	Catequina campo	54,98±9,83a	59,97±13,57a	57,48±11,74a		
	Catequina bodega	60,66±5,74a	68,15±6,45a	64,40±7,05a		
Linalol	Testigo	48,94±7,87b	54,99±8,84ab	51,97±8,67ab	3,56*	ns
	Ext.Té verde	58,43±11,49c	65,65±12,91b	62,04±12,38b		
	Catequina campo	39,59±7,11a	41,92±9,38a	40,76±8,13a		
	Catequina bodega	39,55±5,14a	43,73±6,70a	41,64±6,16a		
Decanoato de etilo	Testigo	291,37±68,23a	327,38±76,67a	309,38±72,53a	ns	ns
	Ext.Té verde	273,52±122,76a	307,32±137,93a	290,42±127,34a		
	Catequina campo	318,75±55,51a	358,15±62,37a	338,45±60,56a		
	Catequina bodega	271,21±39,42a	304,73±44,29a	287,97±44,05a		
Dietilsuccinato	Testigo	1074,88±182,33a	1207,73±205,12a	1141,31±199,11a	6,76*	5,29*
	Ext.Té verde	1284,17±411,65a	1682,07±689,44ab	1483,12±585,23a		
	Catequina campo	1144,56±197,23a	1286,03±221,32ab	1215,30±215,98a		
	Catequina bodega	1499,20±373,50a	1684,50±419,78b	1591,85±395,57a		
2 fenilacetato	Testigo	23,58±5,17a	0,60±0,05a	11,20±12,64a	18,95***	23,17***
	Ext.Té verde	23,68±5,91a	16,32±7,46c	20,00±13,15a		
	Catequina campo	43,48±2,04b	6,13±2,32b	24,80±22,67a		
	Catequina bodega	31,51±5,77a	4,06±0,01b	17,78±16,74a		
2 metoxifenol	Testigo	525,48±201,87b	590,42±226,83b	557,95±210,13b	ns	ns
	Ext.Té verde	518,39±105,40b	582,46±118,43b	550,42±113,24b		
	Catequina campo	306,29±78,86a	281,78±141,40a	294,04±111,33a		
	Catequina bodega	532,11±68,35b	597,88±76,80b	564,99±78,02b		
γ-octolactona	Testigo	409,24±106,78a	541,28±117,50a	475,26±128,11a	ns	ns
	Ext.Té verde	390,95±250,81a	439,27±281,81a	415,11±258,92a		
	Catequina campo	560,23±87,13b	596,96±70,19a	578,60±78,75b		
	Catequina bodega	408,26±61,22a	520,20±94,33a	464,23±36,15a		
2 feniletanol	Testigo	28581,14±52467,34a	32113,64±5894,67a	30347,39±5691,44a	3,17*	ns
	Ext.Té verde	29509,15±10500,42a	33156,31±11797,89a	31332,75±10952,80a		
	Catequina campo	25514,60±3431,68a	28668,09±3855,11a	27091,34±3883,32a		
	Catequina bodega	29181,39±5705,33a	32788,08±6410,90a	30984,74±6151,44a		
Eugenol	Testigo	95,14±13,78a	106,90±15,49a	101,02±15,41a	ns	ns
	Ext.Té verde	146,60±61,01b	164,72±68,56b	155,66±63,39b		
	Catequina campo	90,31±10,45a	101,47±11,74a	95,89±12,19a		
	Catequina bodega	108,18±16,01b	121,55±17,99b	114,86±17,84b		

Tabla 6.41 (Continuación). Media, desviación estándar y ANOVA en los compuestos aromáticos de los vinos de Monastrell analizados a los 12 meses de conservación, en función de los compuestos aplicados.

Parámetros (µg/L)	Copigmento	2016	2017	Media 2016-2017	Año (p-value)	Interacción Copig x Año (p)
Ácido decanoico	Testigo	48,28±26,65a	54,24±29,95a	51,26±27,56a	ns	ns
	Ext.Té verde	39,46±15,03a	42,05±13,32a	40,75±13,78a		
	Catequina campo	51,75±20,27a	58,14±22,78a	54,95±21,09a		
	Catequina bodega	45,73±20,51a	68,86±13,58a	57,29±20,61a		
Vainillina	Testigo	38,53±16,63a	43,29±18,69a	40,91±17,27a	ns	ns
	Ext.Té verde	53,08±16,55b	59,64±18,60a	56,36±17,34a		
	Catequina campo	131,72±47,44d	148,00±65,66c	139,86±51,73b		
	Catequina bodega	77,60±37,11c	87,19±41,70b	82,40±38,45ab		

* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$. *** $p < 0.001$

En los gráficos 6.23 y 6.24 observamos la diferenciación de los vinos mediante Análisis Discriminante, en función de su composición aromática. Con la primera función se separan muy bien los vinos procedentes de los tratamientos con té verde, y está ligada a los compuestos, con mayores valores absolutos de los coeficientes, estos son β -pineno, isovaleriato y hexanoato de etilo y dietilsuccinato (tabla 6.42). Por otra parte, la segunda función discriminante nos permite separar los vinos testigo de los tratados en campo con catequina, mientras que la tercera función discriminante separa los tratados catequina a la entrada de la bodega. Mediante las tres funciones discriminantes obtenidas con los compuestos aromáticos, se consigue una perfecta diferenciación de los vinos, clasificándose el 100 % de los vinos en su correspondiente grupo.

Representación en función de los compuestos aromáticos

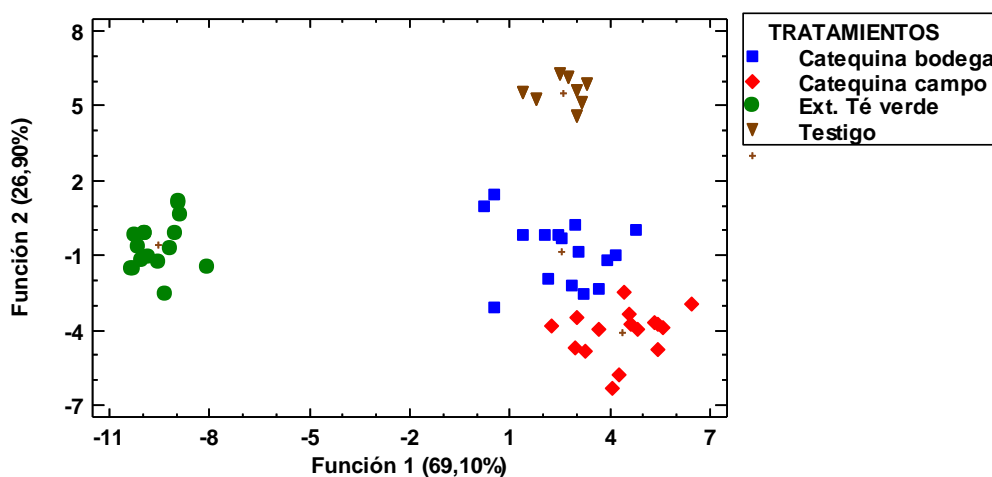


Gráfico 6.23. Representación de los vinos según los compuestos aplicados, en el espacio definido por la primera y segunda función discriminante en función de su composición aromática.

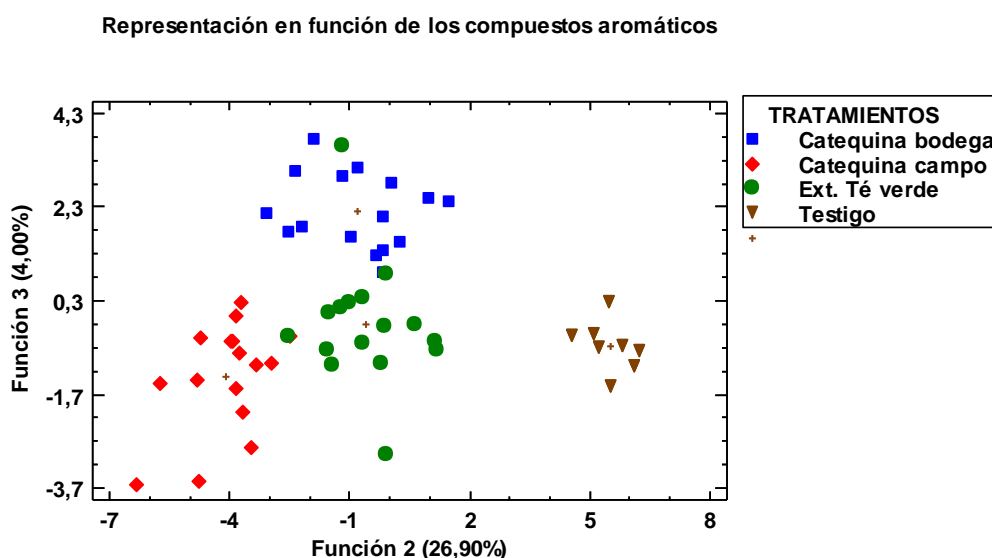


Gráfico 6.24. Representación de los vinos según los compuestos aplicados, en el espacio definido por la segunda y tercera función discriminante en función de su composición aromática.

Tabla 6.42. Coeficientes estandarizados de las 3 funciones discriminantes que permiten diferenciar los vinos según los compuestos aplicados, en función de los compuestos aromáticos.

Compuestos aromáticos	Coeficientes estandarizados de las Funciones Discriminantes		
	1	2	3
α -pineno	0,014672	0,578015	-0,395922
Isovalerato de etilo	-0,825343	-0,131851	0,390547
β -pineno	0,993308	0,679788	-0,00501825
Acetato de isoamilo	0,353824	0,563571	-0,382349
Hexanoato de etilo	-0,944045	0,119815	0,224592
n-amyl alcohol	-0,91196	-0,0634534	0,372814
Acetato de hexilo	0,49415	1,52691	0,404391
Lactato de etilo	0,285974	-0,494844	-1,44928
Cis-3-hexenol	0,2850416	0,683347	1,3604
Octanoato de etilo	-1,356428	-1,05453	-0,806438
1,2 propilenglicol	-0,71404	-0,0775903	0,590773
Etil-3-hidroxibutirato	1,346401	0,394986	0,577852
Linalol	1,83267	-1,4623	-0,658961
Decanoato de etilo	-0,884025	0,198084	0,110528
Dietilsuccinato	1,715675	0,656215	0,735069
2- fenilacetato	0,325653	-1,17279	0,396725
2-metoxifenol	-0,635458	-1,54247	0,52411
γ -octolactona	1,06255	-0,917921	-2,19321
2 feniletanol	0,437852	0,298929	1,58984
Eugenol	-1,91897	1,20107	0,127392
Ácido decanoico	-0,606065	-0,133924	1,21004
Vainillina	-0,14527	-0,0482356	0,22787

Si el Análisis Discriminante se realiza conjuntamente con los parámetros polifenólicos y aromáticos (gráfico 6.25) se observan perfectamente diferenciados el 100 % de los vinos en los cuatro grupos, ya que la primera función discriminante separa ya

los cuatro grupos de vinos, y la segunda separa a los testigos del resto de los vinos tratados con copigmentos.

Representación en función de los compuestos polifenólicos y aromáticos

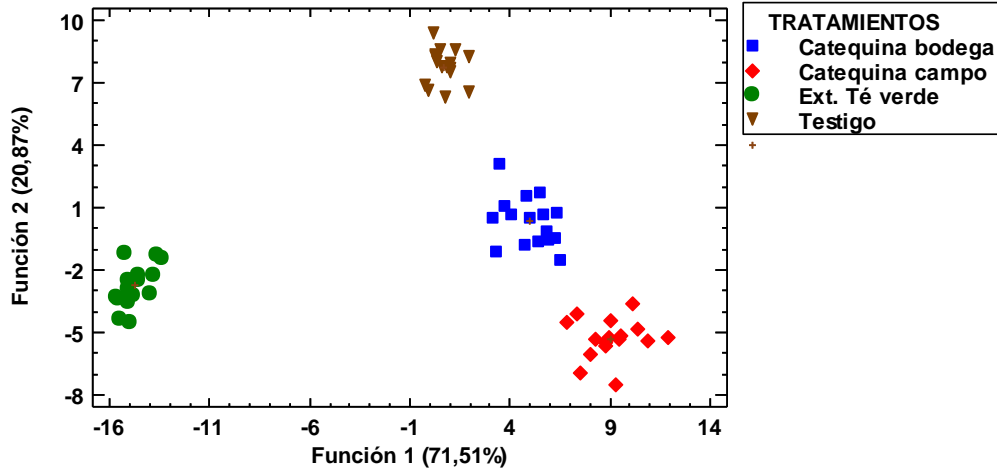


Gráfico 6.25. Representación de los vinos según los tratamientos aplicados, en el espacio definido por la primera y segunda función discriminante en función de su composición polifenólica y aromática.

En la tabla 6.43 podemos observar que la primera función discriminante, que separa los vinos tratados con extracto de té verde, de los testigos y de los tratados con catequina en campo, y en bodega, está vinculada principalmente a los antocianos pormenorizados (malvidina, peonidina, cianidina y delfinidina) y octanoato de etilo, eugenol y linalol. La segunda función discriminante diferencia bien los vinos testigos de los copigmentados, gracias a la contribución del tono y del acetato de isoamilo, compuestos que también dieron lugar a diferencias significativas en el ANOVA (tabla 6.39).

Tabla 6.43. Coeficientes estandarizados de las 3 funciones discriminantes que permiten diferenciar los vinos según los compuestos aplicados, en función de los compuestos polifenólicos y aromáticos.

Compuestos polifenólicos y aromáticos	Coeficientes estandarizados de las Funciones Discriminantes		
	1	2	3
Intensidad Colorante	2,30421	-1,47492	-3,35249
Tono o matiz	3,64779	-1,70118	-1,28567
% Antocianos copigmentados	1,34297	0,268835	0,589434
% Antocianos libres	0,374047	0,458149	-1,11656
% Antocianos polimerizados	-0,427494	1,3471	0,445199
Antocianos totales	0,455862	-0,197862	1,20898
Taninos condensados	0,335698	0,10919	-1,0134
Polifenoles totales	1,69909	0,830019	-0,18883
Índice de Fólin	0,212799	-0,662831	0,0698901
Índice de DMACH	1,38134	-0,23619	0,718984
Índice de Gelatina	-0,440168	0,260619	-1,15609
Malvidina	4,1392	-0,306941	0,58921
Peonidina	7,99422	3,47971	4,820879

Tabla 6.43 (Continuación). Coeficientes estandarizados de las 3 funciones discriminantes que permiten diferenciar los vinos según los compuestos aplicados, en función de los compuestos polifenólicos y aromáticos.

Compuestos polifenólicos y aromáticos	Coeficientes estandarizados de las Funciones Discriminantes		
	1	2	3
Petunidina	0,509197	-0,375065	-2,63625
Cianidina	-6,83235	-1,83726	-4,332454
Delfinidina	2,77603	-0,244447	3,45906
α -pineno	-0,323356	-0,213145	-0,884064
Isovalerato de etilo	-1,28834	0,570952	-0,394413
β -pineno	1,25996	-0,284364	-0,076893
Acetato de isoamilo	-0,73122	2,219358	0,506302
Hexanoato de etilo	0,944043	0,223467	0,0108595
n-amyl alcohol	-3,08207	0,666032	-0,0261111
Acetato de hexilo	-2,244697	-1,65018	0,843553
Lactato de etilo	0,79055	-1,63463	1,48048
Cis-3-hexenol	-0,936573	-0,145017	-0,621395
Octanoato de etilo	-1,251315	0,771716	2,75622
1,2 propilenglicol	1,69082	-0,292305	-1,34075
Etil-3-hidroxibutirato	0,092962	1,942643	-0,469041
Linalol	2,3293	0,675178	0,993385
Decanoato de etilo	-1,184375	0,680379	-0,855744
Dietilsuccinato	3,750042	-2,04398	0,308206
2- fenilacetato	-0,696721	1,62677	-0,722479
2-metoxifenol	-0,591049	2,123088	1,399105
γ -octolactona	1,10166	1,66466	-1,23927
2 feniletanol	-0,451244	-1,59493	-0,33674
Eugenol	-1,252075	1,24179	-1,507067
Ácido decanoico	-0,470076	-0,71218	2,19398
Vainillina	0,488739	0,773457	0,441516

6.1.3.2.2. EFECTO DE LAS TÉCNICAS DE VINIFICACIÓN EN LA COMPOSICIÓN DE LOS VINOS

En la tabla 6.44 se recogen las medias y desviaciones estándar junto con el ANOVA para los compuestos polifenólicos estudiados una vez acabada la conservación, en función de la técnica de vinificación aplicada.

Tabla 6.44. Media, desviación estándar y ANOVA en los compuestos polifenólicos de los vinos de Monastrell tratados con té verde o catequina al final del proceso de conservación, en función de la técnica de vinificación aplicada.

Parámetros	Técnica Vinificación	2016	2017	Media 2016-2017	Año (p-value)	Interacción Téc x Año (p)
Intensidad Colorante	T	8,36±0,59a	11,14±0,84a	9,75±1,58a	10,28**	ns
	MP	9,15±1,18b	11,15±1,00a	10,29±1,47a		
Tono (%)	T	81,30±1,40b	69,08±3,11a	75,19±6,64a	18,43***	ns
	MT	77,49±4,35a	66,74±3,74a	71,35±6,70a		
Antocianos Copigmentados (%)	T	12,51±2,57a	30,50±6,89a	21,51±10,47a	44,19***	ns
	MP	10,88±2,11a	23,88±9,12a	18,30±9,54a		
Antocianos Polimerizados (%)	T	44,98±2,38a	46,16±5,18a	45,57±4,01a	ns	ns
	MP	47,04±4,71a	44,36±2,12a	45,51±3,66a		

Tabla 6.44 (Continuación). Media, desviación estándar y ANOVA en los compuestos polifenólicos de los vinos de Monastrell tratados con té verde o catequina al final del proceso de conservación, en función de la técnica de vinificación aplicada.

Parámetros	Técnica Vinificación	2016	2017	Media 2016-2017	Año (p-value)	Interacción Téc x Año (p)
Antocianos libres (%)	T	42,51±1,46a	38,49±6,62a	40,50±5,14a	ns	ns
	MP	42,08±4,23a	39,17±2,56a	40,42±3,61a		
Malvidina (mg/L)	T	50,42±14,58a	60,64±16,42a	55,53±16,14a	ns	ns
	MP	47,98±11,61a	51,31±18,80a	49,88±15,94a		
Peonidina (mg/L)	T	3,45±1,02a	3,50±0,92a	3,48±0,96a	ns	ns
	MP	3,81±1,11a	3,07±1,32a	3,39±1,27a		
Petunidina (mg/L)	T	5,94±1,92a	6,21±1,53a	6,07±1,71a	ns	ns
	MP	6,09±1,29a	5,28±1,93a	5,63±1,71a		
Cianidina (mg/L)	T	2,36±0,42a	2,07±0,41a	2,22±0,43a	ns	ns
	MP	2,64±0,52a	1,92±0,66a	2,23±0,70a		
Delfinidina (mg/L)	T	4,67±1,33a	4,76±1,19a	4,71±1,24a	ns	ns
	MP	4,89±1,06a	3,96±1,60a	4,36±1,45a		
Antocianos Totales (mg/L)	T	248,28±16,37a	315,86±48,46a	282,07±49,44a	6,17*	ns
	MP	238,10±24,32a	320,00±55,71a	284,90±60,57a		
Taninos condensados (g/L)	T	2,05±0,61a	2,81±0,52a	2,43±0,68a	3,70*	8,73*
	MP	2,85±0,56b	2,69±0,70a	2,76±0,64b		
Polifenoles Totales (g/L)	T	1,94±0,14a	1,74±0,20a	1,84±0,20a	8,19**	ns
	MP	2,12±0,11b	1,87±0,11a	1,98±0,16a		
Índice de Folin	T	53,00±5,41a	50,91±7,58a	51,95±6,56a	4,71*	8,28*
	MP	59,65±5,40b	48,41±5,56a	53,23±7,82a		
Índice de DMACH (%)	T	53,56±12,48a	45,57±14,87a	49,56±14,10a	ns	ns
	MP	41,54±8,85a	52,00±14,48a	47,52±13,27a		
Índice de Gelatina (%)	T	31,75±17,41a	53,63±14,95a	42,69±19,45a	28,12***	ns
	MP	26,91±12,92a	47,51±15,35a	38,68±17,51a		

T: tradicional, MP: maceración prefermentativa; * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$. *** $p < 0.001$

En los vinos de la cosecha de 2016 la conservación de los vinos modificó el efecto de las técnicas de vinificación, ya que una vez concluida la fermentación maloláctica, las técnicas de maceración ensayadas no afectan a los parámetros relacionados con el color, mientras que a los 12 meses el color de los vinos macerados prefermentativamente es más elevado, y su tono inferior, estos resultados coinciden con los encontrados por Puertas et al. (2008); Gil-Muñoz et al. (2009) y González-Neves et al. (2015). En cambio, el comportamiento observado de taninos y polifenoles totales se mantiene, ya que es superior en los vinos macerados prefermentativamente, tanto al final de la fermentación maloláctica, como después de la conservación (Ortega-Heras et al., 2012; Aleixandre-Tudó, et al., 2013; Favre et al., 2013; González-Neves, et al., 2015; Panprivech et al., 2015; Casassa et al., 2016).

En cambio, en los vinos de 2017 no hay diferencias en función de las técnicas de vinificación, excepto en la concentración de taninos condensados. La mayor madurez de la uva de esta añada minimizó el efecto de la maceración prefermentativa, que otros autores también observaron (Álvarez et al., 2006; Llaudy et al., 2005).

El Análisis Discriminante aplicado a los compuestos polifenólicos nos ha permitido diferenciar claramente entre los vinos tratados con copigmentos y los testigos cuyas uvas no han sufrido ningún tratamiento, pero no permite diferenciar los vinos de vinificación tradicional de los fermentados con maceración prefermentativa, a pesar de que existen diferencias en la concentración de algunos de sus compuestos polifenólicos en 2016 (gráfico 6.26). El color aparecía más elevado y el tono más bajo en aquellos vinos que habían sido sometidos a maceración prefermentativa, pero estas diferencias no han sido suficientes para su diferenciación.

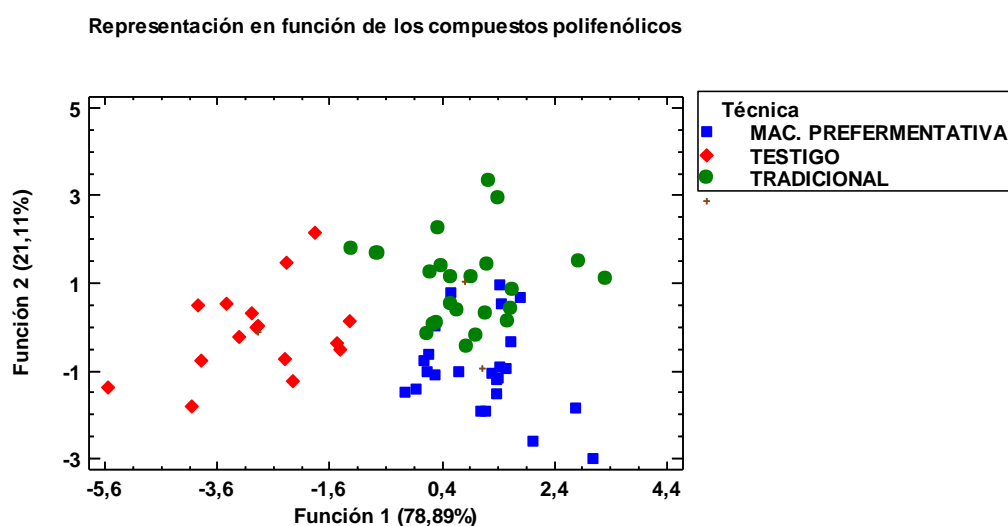


Gráfico 6.26. Representación de los vinos según la técnica de vinificación, en el espacio definido por la primera y segunda función discriminante en función de su composición polifenólica.

En la Tabla 6.45 se recoge la composición aromática de los vinos una vez concluido el proceso de conservación, a los 12 meses del embotellado.

Tabla 6.45. Media, desviación estándar y ANOVA en los compuestos aromáticos de los vinos de Monastrell tratados con té verde o catequina analizados a los 12 meses de conservación, en función de la técnica de vinificación aplicada.

Parámetros (µg/L)	Técnica vinificación	2016	2017	Media 2016-2017	Año (p-value)	Interacción Téc x Año (p)
α-pineno	T	32,47±8,16a	36,48±9,17a	34,47±8,70a	ns	ns
	MP	34,37±6,46a	38,62±7,26a	36,50±7,10a		
β-pineno	T	17,32±7,00a	19,38±7,95a	18,35±7,35a	ns	ns
	MT	15,95±6,05a	17,92±6,80a	16,94±6,41a		
Isovalerato de etilo	T	16,08±3,01a	18,25±3,43a	17,17±3,38a	ns	ns
	MP	20,94±14,38a	19,32±8,90a	20,13±10,91a		
Acetato de isoamilo	T	328,53±60,72a	369,13±68,22a	348,83±66,79a	3,18*	ns
	MP	400,95±69,95b	450,51±78,60b	425,73±77,40b		
Hexanoato de etilo	T	157,90±31,27a	177,41±35,13a	167,65±34,18a	6,34*	ns
	MP	189,43±37,60b	212,84±42,25b	201,13±41,10b		
n-amyl alcohol	T	41,83±11,08b	46,40±13,52a	44,12±12,11a	ns	ns
	MP	33,38±6,50a	35,92±8,83a	34,65±7,74a		

Tabla 6.45 (Continuación). Media, desviación estándar y ANOVA en los compuestos aromáticos de los vinos de Monastrell tratados con té verde o catequina analizados a los 12 meses de conservación, en función de la técnica de vinificación aplicada.

Parámetros (µg/L)	Técnica vinificación	2016	2017	Media 2016-2017	Año (p-value)	Interacción Téc x Año (p)
Acetato de hexilo	T	9,34±2,20a	9,60±2,87a	9,47±2,48a	ns	ns
	MP	13,99±4,54b	13,75±5,32a	13,87±4,87b		
Lactato de etilo	T	11030,80±2738,44b	12394,16±3076,37a	11712,48±2947,67a	5,11*	ns
	MP	9445,61±1413,90a	10613,05±1588,11a	10029,33±1593,43a		
Cis 3-hexenol	T	11,52±3,71a	15,01±6,26a	13,27±5,28a	ns	ns
	MP	9,97±3,87a	10,66±3,56a	10,31±3,67a		
Octanoato de etilo	T	22,86±6,28a	25,66±6,04a	24,26±6,13a	ns	ns
	MP	35,91±12,11b	39,64±16,09a	37,78±14,14a		
1,2 propilenglicol	T	123,04±64,48a	131,52±77,16a	127,28±69,06a	ns	ns
	MP	114,56±34,75a	127,17±37,87a	120,86±36,32a		
3-hidroxibutirato de etilo	T	52,36±9,43a	59,82±10,10a	56,09±12,48a	5,97*	ns
	MT	68,56±14,71b	77,04±16,53b	72,80±15,99b		
Linalol	T	44,84±11,42a	48,74±14,24a	46,79±12,85a	ns	ns
	MP	48,42±10,93a	54,40±12,28a	51,41±11,84a		
Decanoato de etilo	T	250,76±46,42a	281,76±52,15a	266,26±51,05a	ns	ns
	MP	326,66±83,15b	367,04±93,42b	346,85±89,38b		
Dietil succinato	T	1021,79±178,43a	1148,08±200,90a	1084,93±197,21a	4,87*	ns
	MP	1479,62±300,22b	1782,09±441,56b	1630,85±402,78b		
2 fenilacetato	T	27,00±10,52a	13,06±12,25a	19,65±11,40a	11,87* **	ns
	MP	34,33±7,12a	18,16±14,60a	26,25±17,45a		
2 metoxifenol	T	429,50±250,37a	507,58±242,67a	493,54±208,81a	6,82*	ns
	MP	461,63±131,43a	518,69±147,67a	490,16±140,53a		
γ-octolactona	T	366,88±154,63a	433,29±185,49a	400,08±168,90a	9,72**	ns
	MP	517,46±118,28b	615,57±68,27b	566,51±107,28a		
2 feniletanol	T	32939,80±5790,09b	37011,01±6505,26b	34975,40±6401,66b	3,11*	ns
	MP	23453,34±2968,87a	26352,07±3335,38a	24902,71±3437,80a		
Eugenol	T	121,76±50,23a	136,81±56,44a	129,29±53,11a	ns	ns
	MP	98,35±14,90a	110,50±16,74a	104,43±16,77a		
Ácido decanoico	T	58,22±20,53b	73,52±37,25b	65,62±20,30b	5,98*	ns
	MP	34,38±11,98a	38,63±13,46a	36,51±12,72a		
Vainillina	T	42,95±14,67a	48,26±16,48a	45,60±15,58a	ns	ns
	MP	107,52±96,26a	120,81±99,39a	114,17±91,38a		

T: tradicional, MP: maceración prefermentativa; * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$. *** $p < 0.001$

En la tabla 6.45 se muestra la composición aromática de los vinos tratados con extracto de té verde o una vez concluido el proceso de conservación, a los 12 meses del embotellado. Se han estudiado 22 compuestos volátiles, en algunos de ellos (10) no hay un efecto significativo de la técnica de maceración utilizada sobre la composición volátil del vino: α y β pineno, isovalerato de etilo, cis 3 hexenol, 1,2 propilenglicol, linalol, 2 fenilacetato, 2 metoxifenol (guayacol) eugenol, y vainillina.

Sin embargo, se observa un efecto significativo de la maceración prefermentativa sobre la concentración de algunos de los compuestos estudiados, tales como el acetato de isoamilo, el hexanoato de etilo, n-amyl alcohol, el acetato de hexilo, lactato de etilo,

octanoato de etilo, 3 etil hidroxibutirato, decanoato de etilo, dietil succinato, 2-feniletanol, γ -octolactona y vainillina.

Los resultados de este estudio, muestran que la maceración prefermentativa en frío provocó un aumento significativo de la concentración de 7 ésteres (acetato de isoamilo, hexanoato de etilo, acetato de hexilo, octanoato de etilo, 3 hidroxibutirato de etilo, decanoato de etilo, dietilsuccinato) y de la γ -octolactona.

Estudios realizados por otros autores (Álvarez et al., 2005; Selli et al., 2006; De Santis y Frangipane, 2010) demuestran que los vinos elaborados mediante la técnica de maceración prefermentativa en frío presentaban mayores concentraciones de acetatos y ésteres totales. Este efecto podría explicarse porque mediante esta técnica de maceración en frío es posible el desarrollo de levaduras criófilas que influyen en la liberación de ciertos aromas, especialmente ésteres volátiles, lo que supondría una de las ventajas de esta técnica, citadas por otros autores (Charpentier y Feuillat, 1998, Cai et al., 2014; Casassa y Sari 2015).

También se ha publicado en otros estudios que a esta temperatura baja puede empezar una fermentación por levaduras autóctonas no *Saccharomyces*, posiblemente del género *Hansenia*, que generan aromas varietales mientras que disminuyen las notas herbáceas.

Sin embargo, los compuestos n-amyl alcohol, 2 feniletanol, acetato de hexilo y ácido decanoico están en menor concentración en los vinos en los que se realizó maceración prefermentativa en frío.

Estos resultados coinciden con los obtenidos por Mihnea et al. (2015) que observaron una concentración más elevada de algunos alcoholes en vinos obtenidos por maceración prefermentativa en frío. González-Neves et al. (2015) hizo una observación similar y planteó la posibilidad de que este efecto resultara de la acción de las levaduras no *Saccharomyces* durante el período de enfriamiento.

Como ya se ha comentado anteriormente, la maceración prefermentativa en frío podría ser una buena técnica de aplicación en la elaboración del vino Monastrell ya que ha permitido un aumento de ésteres responsables de aromas positivos en el vino (acetato de isoamilo, hexanoato de etilo, acetato de hexilo, octanoato de etilo, 3 hidroxibutirato de etilo, decanoato de etilo, dietilsuccinato) con respecto a la elaboración del vino tradicional.

El Análisis Discriminante realizado con los compuestos aromáticos (gráfico 6.27) nos permite clasificar correctamente el 100% de los vinos en su grupo respectivo.

La primera función discriminante permite separar con bastante exactitud los vinos de maceración prefermentativa, maceración tradicional y los testigos (tabla 6.46), y está vinculada al acetato de hexilo, dietilsuccinato y 2-feniletanol, compuestos que dieron lugar a diferencias significativas en el ANOVA realizado (tabla 6.44) y que confirman que los vinos elaborados mediante maceración prefermentativa presentan mayores concentraciones de acetatos y ésteres totales (Álvarez et al. 2005; Selli et al., 2006; De Santis y Frangipane, 2010). Por otra parte, la segunda función discriminante permite diferenciar los vinos testigos de los sometidos a tratamientos copigmentantes, siendo principalmente las concentraciones de acetato de hexilo, dietilsuccinato y linalol, las causantes de esta diferenciación (tabla 6.46).

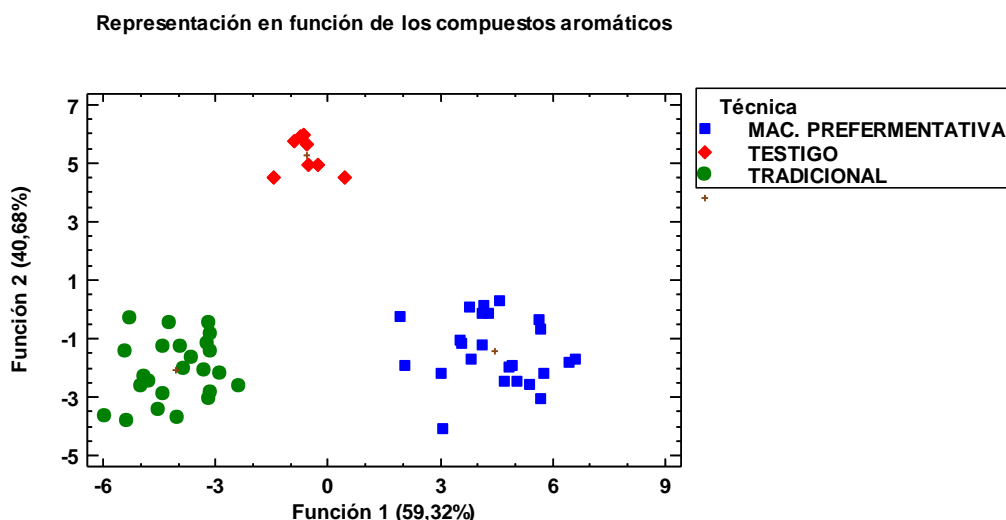


Gráfico 6.27. Representación de los vinos según la técnica de vinificación, en el espacio definido por la primera y segunda función discriminante en función de su composición aromática.

Tabla 6.46. Coeficientes estandarizados de las 2 funciones discriminantes que permiten diferenciar los vinos según las técnicas de vinificación, en función de los compuestos aromáticos.

Compuestos aromáticos	Coeficientes estandarizados de las Funciones Discriminantes	
	1	2
α -pineno	-0,341041	0,718329
Isovalerato de etilo	0,505635	-0,183284
β -pineno	-1,12884	0,317798
Acetato de isoamilo	0,461364	0,741201
Hexanoato de etilo	-0,0983774	0,052593
n-amyl alcohol	0,668433	0,15614
Acetato de hexilo	1,10306	-1,14318
Lactato de etilo	-0,153398	0,331384
Cis-3-hexenol	0,0452755	-0,0572679
Octanoato de etilo	0,599262	-0,192003
1,2 propilenglicol	0,415977	-0,28969
Etil-3-hidroxiacetato	-0,439871	-0,148587
Linalol	0,618639	1,50344
Decanoato de etilo	-0,108234	0,197332
Dietilsuccinato	1,22578	-1,91857
2- fenilacetato	-1,50148	0,677383
2-metoxifenol	0,121466	0,11624
γ -octolactona	0,350535	0,314507
2 feniletanol	-1,1843	-0,636127
Eugenol	1,69127	-0,829884
Ácido decanoico	-0,551686	-0,720989
Vainillina	0,171356	-0,12119

Si el Análisis Discriminante lo realizamos con los parámetros polifenólicos y aromáticos conjuntamente (gráfico 6.28), la diferenciación de estos grupos de vinos aún es más evidente, ya que con la primera función discriminante conseguimos diferenciar los vinos tratados con té verde y catequina sometidos a maceración prefermentativa, de los testigos y tratados con estos copigmentos vinificados con maceración tradicional y con la segunda separamos perfectamente los testigos de los otros.

Representación en función de los compuestos polifenólicos y aromáticos

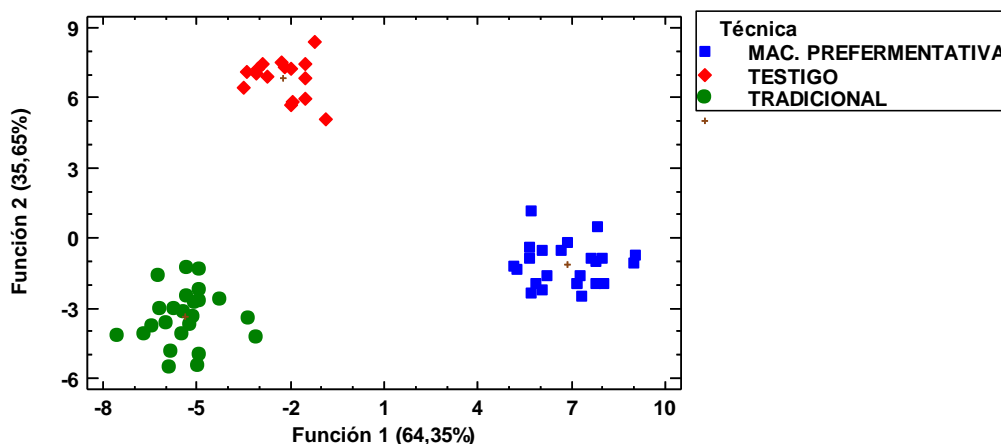


Gráfico 6.28. Representación de los vinos según las técnicas de vinificación, en el espacio definido por la primera y segunda función discriminante en función de su composición polifenólica y aromática.

La primera función discriminante se encuentra principalmente correlacionada con el tono, taninos condensados e Índice de Fólin (tabla 6.47), resultados que coinciden con los encontrados por otros autores (Puertas et al., 2008; Gil-Muñoz et al., 2009; González-Neves et al., 2015). En cuanto a los compuestos aromáticos que permiten diferenciar los tres grupos de vinos, son en la primera función discriminante el acetato de isoamilo, hexanoato de etilo, lactato de etilo y dietilsuccinato, mientras que la segunda función discriminante se vincula especialmente a la concentración de polifenoles totales, concentración de antocianos pormenorizados, acetato de hexilo, 3 etilhidroxibutirato y γ -octolactona (tabla 6.45).

Tabla 6.47. Coeficientes estandarizados de las 2 funciones discriminantes que permiten diferenciar los vinos según las técnicas de vinificación, en función de los compuestos polifenólicos y aromáticos.

Compuestos polifenólicos y aromáticos	Coeficientes estandarizados de las Funciones Discriminantes	
	1	2
Intensidad Colorante	-0,946679	0,845456
Tono o matiz	-1,334344	-1,00177
% Antocianos copigmentados	0,1771	0,702623
% Antocianos libres	-1,061323	0,466636
% Antocianos polimerizados	0,951498	1,630442
Antocianos totales	0,54863	-0,81332
Taninos condensados	2,573828	0,342765
Polifenoles totales	2,21112	1,93906
Índice de Fólin	1,473743	-0,724285
Índice de DMACH	0,868364	-0,115466
Índice de Gelatina	0,194662	0,676897
Malvidina	2,89613	0,938357
Peonidina	-1,4321	-1,76819
Petunidina	0,31708	2,31763
Cianidina	1,408341	0,956584
Delfinidina	-1,64666	-1,06548
α -pineno	-0,323026	0,58616

Tabla 6.47 (Continuación). Coeficientes estandarizados de las 2 funciones discriminantes que permiten diferenciar los vinos según las técnicas de vinificación, en función de los compuestos polifenólicos y aromáticos.

Compuestos polifenólicos y aromáticos	Coeficientes estandarizados de las Funciones Discriminantes	
	1	2
Isovalerato de etilo	0,621196	-0,080756
B-pineno	-1,45506	0,0185574
Acetato de isoamilo	0,744257	0,0606682
Hexanoato de etilo	-0,919012	0,432791
n-amylalcohol	0,403575	-0,709207
Acetato de hexilo	0,055929	-1,57882
Lactato de etilo	-1,962339	-0,519391
Cis-3-hexenol	-0,214138	-0,453181
Octanoato de etilo	0,983454	0,132699
1,2 propilenglicol	-0,136265	-0,379229
Etil-3-hidroxibutirato	0,301916	0,889203
Linalol	0,897241	0,952983
Decanoato de etilo	0,614355	0,697105
Dietilsuccinato	2,423419	-1,95318
2- fenilacetato	-0,51202	0,587357
2-metoxifenol	0,508048	1,16895
γ-octolactona	-0,658385	-1,77709
2 feniletanol	-0,187747	0,546047
Eugenol	0,338572	0,163928
Ácido decanoico	0,348542	-0,628801
Vainillina	0,261545	-0,238484

6.1.3.2.3. EFECTO DE LA APLICACIÓN DE ACETALDEHÍDO EN LA COMPOSICIÓN DE LOS VINOS

En la tabla 6.48 se recogen las medias y desviaciones estándar junto con el ANOVA para los compuestos polifenólicos estudiados una vez acabada la conservación, en función de la aplicación o no de acetaldehído.

Tabla 6.48. Media, desviación estándar y ANOVA en los compuestos polifenólicos de los vinos de Monastrell tratados con té verde o catequina al final del proceso de conservación, en función de la aplicación de acetaldehído.

Parámetros	Aplicación acetaldehído	2016	2017	Media 2016-2017	Año (p-value)	Interacción Acet x Año (p)
Intensidad Colorante	SIN	8,44±0,92a	10,82±1,05a	9,71±1,55a	31,27***	ns
	CON	8,95±0,97a	11,47±0,63b	10,29±1,50a		
Tono (%)	SIN	80,00±3,70a	68,00±4,14a	73,60±7,21a	38,05***	ns
	CON	79,33±3,46a	67,82±3,07a	73,19±6,66a		
Antocianos Copigmentados (%)	SIN	13,54±2,02b	30,25±8,86b	22,45±10,69b	43,66***	ns
	CON	10,09±1,52a	24,13±7,46a	17,58±8,97a		
Antocianos Polimerizados (%)	SIN	44,80±3,60a	42,51±1,45a	43,58±2,87a	ns	ns
	CON	46,93±2,48b	48,01±3,86b	47,50±3,67b		
Antocianos libres (%)	SIN	41,66±2,89a	41,94±2,96b	41,81±2,88b	5,98*	7,78*
	CON	42,98±2,89a	35,72±4,61a	39,11±5,32a		
Malvidina (mg/L)	SIN	48,04±12,46a	48,92±19,59a	48,51±16,38a	4,69*	ns
	CON	50,70±14,26a	63,03±13,41b	57,28±14,95b		

Tabla 6.48 (Continuación). Media, desviación estándar y ANOVA en los compuestos polifenólicos de los vinos de Monastrell tratados con té verde o catequina al final del proceso de conservación, en función de la aplicación de acetaldehído.

Parámetros	Aplicación acetaldehído	2016	2017	Media 2016-2017	Año (p-value)	Interacción Acet x Año (p)
Peonidina (mg/L)	SIN	3,49±1,08a	2,93±1,31a	3,19±1,22a	ns	ns
	CON	3,72±1,05a	3,64±0,84a	3,68±0,93a		
Petunidina (mg/L)	SIN	5,73±1,13a	4,87±1,55a	5,27±1,42a	8,13**	ns
	CON	6,28±2,06a	6,62±1,58b	6,46±1,79b		
Cianidina (mg/L)	SIN	2,39±0,54a	1,79±0,65a	2,07±0,66a	4,70*	ns
	CON	2,58±0,39a	2,20±0,34b	2,38±0,41b		
Delfinidina (mg/L)	SIN	4,16±0,64a	3,34±1,04a	3,72±0,96a	ns	ns
	CON	5,37±1,35b	5,38±1,00b	5,37±1,16b		
Antocianos Totales (mg/L)	SIN	245,73±18,05a	303,65±56,13a	276,29±48,65a	15,38***	6,89*
	CON	232,11±15,42a	332,21±43,30b	285,50±60,47a		
Taninos condensados (g/L)	SIN	2,74±0,65a	2,39±0,45a	2,56±0,57a	6,22*	ns
	CON	2,84±0,59a	3,11±0,54b	2,91±0,77a		
Polifenoles Totales (g/L)	SIN	2,06±0,18a	1,83±0,21a	1,94±0,23a	8,97**	ns
	CON	2,08±0,12a	1,98±0,11a	2,03±0,15a		
Índice de Folin	SIN	52,28±4,22a	46,69±3,84a	49,30±4,87a	15,45***	ns
	CON	59,42±6,04b	52,63±7,63a	55,80±7,64b		
Índice de DMACH (%)	SIN	52,60±8,88a	53,19±16,96a	52,89±12,92a	ns	ns
	CON	54,21±13,07a	44,37±9,92a	49,29±11,49a		
Índice de Gelatina (%)	SIN	29,72±15,21a	46,06±16,10a	38,43±17,51a	27,71***	ns
	CON	29,63±16,49a	55,07±13,28a	43,20±19,49a		

Sin: sin acetaldehído; Con: con acetaldehído; * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$. *** $p < 0.001$

La aplicación de acetaldehído ha sido significativa en algunos parámetros analizados a los doce meses de su embotellado. En ambas cosechas, se comprueba una disminución del porcentaje de antocianos copigmentados que incrementó el porcentaje de polimerizados teniendo el acetaldehído un efecto de unión en la formación de puentes de etilo necesarios para su polimerización (Han et al., 2019).

Tal y como se observó en los ensayos realizados con ácido cafeico y rutina, las moléculas condensadas, gracias a la microoxigenación, son más estables, frente a reacciones de oxidación, modificaciones de pH, SO₂ (Forino et al., 2020), que explicaría el menor descenso de la concentración de malvidina, peonidina, petunidina, cianidina y petunidina, antocianos totales y polimerizados sólo en la cosecha 2017 porque presentaba una mejor madurez polifenólica, con respecto a los vinos sin microoxigenar. Este resultado, obedece a las polimerizaciones mediadas por el acetaldehído (Han et al., 2019), influyendo directamente en los valores de intensidad colorante en los vinos de 2017. Picariello et al, 2017, también encontraron ligeras diferencias en la intensidad colorante de los vinos después de 30 días de haber sido sometidos a microoxigenación.

Las reacciones entre los taninos mediadas por acetaldehído (Han et al., 2019), permiten explicar el incremento de la concentración de los taninos condensados y de los polifenoles totales, aunque ese incremento sólo es significativo para los polifenoles expresados por el Índice de Folin y para el porcentaje de polimerización de los taninos, en los vinos de la cosecha de 2017, no traduciéndose en una modificación de la astringencia.

Cuando realizamos un Análisis Discriminante con estos vinos, incorporando a ellos los vinos testigo que no proceden de tratamientos de adición de copigmentos, podemos observar que la primera función discriminante separa los vinos copigmentados con y sin acetaldehído de los testigos, siendo el porcentaje de antocianos polimerizados y la concentración de peonidina y cianidina, los compuestos responsables de esta diferenciación. La segunda función discriminante, en cambio, permite separar los vinos procedentes de tratamientos con copigmentos tratados con acetaldehído de los no tratados, siendo la Intensidad Colorante, la concentración de polifenoles totales y el Índice de Folin, los compuestos que más peso tienen en esta diferenciación (gráfico 6.29 y tabla 6.49). Aunque no es posible con los compuestos polifenólicos separar correctamente los vinos, se consigue clasificar adecuadamente un porcentaje importante de ellos, el 100 % de los testigos, el 95,83 % de los tratados con acetaldehído y el 91,67 % de los no tratados.

Representación en función de los compuestos polifenólicos

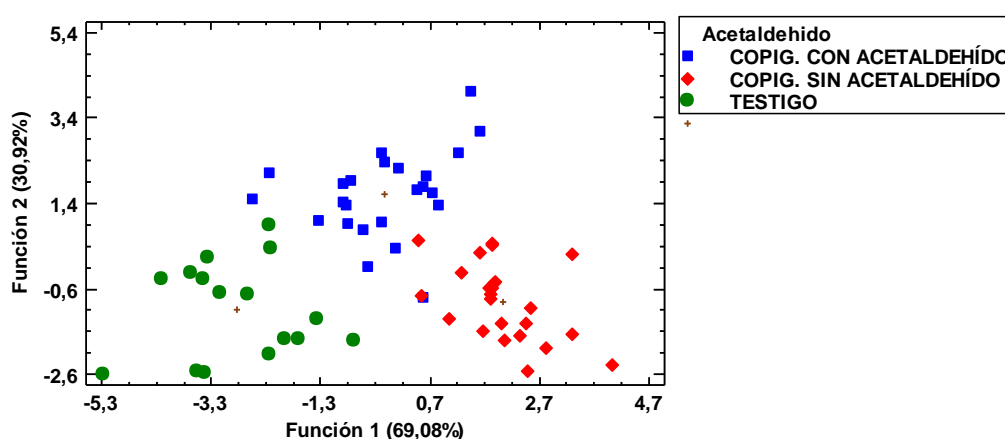


Gráfico 6.29. Representación de los vinos según la aplicación de acetaldehído, en el espacio definido por la primera y segunda función discriminante en función de su composición polifenólica.

Tabla 6.49. Coeficientes estandarizados de las 2 funciones discriminantes que permiten diferenciar los vinos según la aplicación de acetaldehído, en función de los compuestos polifenólicos.

Compuestos polifenólicos	Coeficientes estandarizados de las Funciones Discriminantes	
	1	2
Intensidad Colorante	-0,700839	1,0979393
Tono o matiz	0,140635	0,623572
% Antocianos copigmentados	0,705891	0,161163
% Antocianos libres	-0,534883	0,577294
% Antocianos polimerizados	-0,935306	0,201248
Antocianos totales	0,416945	0,44078
Taninos condensados	0,966125	0,0499316
Polifenoles totales	-0,375998	-0,259373
Índice de Fólin	0,32151	0,953001
Índice de DMACH	0,522486	0,758801
Índice de Gelatina	-0,661348	-0,150147
Malvidina	0,20605	-0,834291
Peonidina	-1,21913	-0,341157
Petunidina	0,372409	-0,788756
Cianidina	0,946616	0,746076
Delfinidina	-0,553519	0,811839

En la tabla 6.50 se recoge la composición aromática de los vinos una vez concluido el proceso de conservación, a los 12 meses del embotellado. Los resultados muestran que, en los vinos tratados con extracto de té y catequina en campo y bodega, no se observan diferencias significativas en los compuestos aromáticos en función de que, en los seis meses de crianza en botella, hayan sido microoxigenados mediante adición de acetaldehído, tal como se observó en los vinos procedentes de uvas tratadas con extracto de romero, ácido cafeico, extracto de trigo sarraceno. Estos resultados son similares durante los dos años estudiados, y las medias de los dos años tampoco muestran diferencias significativas, ni interacción entre la adición o no de acetaldehído y la añada.

Al igual que en este estudio, Ortega-Heras et al. (2008) no observaron cambios significativos en la concentración de los compuestos volátiles, concluyendo que el efecto de la microoxigenación sobre los volátiles del vino depende de las principales características del vino, como cultivar, origen o añada.

Sin embargo, estudios realizados por Aleixandre et al. (2016) demostraron que la adición de acetaldehído puede afectar la composición de las sustancias volátiles de los vinos Tempranillo después de 12 meses de crianza. Además, también se observaron cambios en la fracción volátil, siendo los ésteres y ácidos grasos los más afectados.

Respecto al efecto de la microoxigenación sobre la composición volátil del vino, se han encontrado resultados contradictorios en la literatura. Cejudo-Bastante et al. (2011a, b, c) informaron sobre efectos variables según el grupo volátil o el compuesto individual investigado. Hernández-Orte et al. (2009), remarcaron que el efecto de la microoxigenación depende en gran medida del cultivar de uva.

Tabla 6.50. Media, desviación estándar y ANOVA en los compuestos aromáticos de los vinos de Monastrell tratados con té verde o catequina analizados a los 12 meses de conservación, en función de la aplicación de acetaldehído.

Parámetros (µg/L)	Aplicación acetaldehído	2016	2017	Media 2016-2017	Año (p-value)	Interacción Acet x Año (p)
α-pineno	SIN	33,06±5,59a	37,15±6,28a	35,10±6,20a	4,52*	ns
	CON	33,78±8,88a	37,96±9,97a	35,87±9,53a		
β-pineno	SIN	17,60±6,65a	19,78±7,47a	18,69±7,04a	ns	ns
	CON	15,67±6,37a	17,52±7,21a	16,80±6,76a		
Isovalerato de etilo	SIN	15,81±4,07a	17,74±4,61a	16,77±4,39a	ns	ns
	CON	21,21±14,01a	19,83±5,15a	20,52±10,41a		
Acetato de isoamilo	SIN	364,14±66,76a	409,15±75,01a	386,65±73,50a	5,22*	ns
	CON	365,34±83,18a	410,49±93,46a	387,91±90,00a		
Hexanoato de etilo	SIN	175,12±46,97a	196,76±52,78a	185,94±50,36a	ns	ns
	CON	172,20±26,66a	193,48±29,95a	182,84±29,91a		
n-amyl alcohol	SIN	37,80±9,82a	41,75±12,16a	39,78±11,05a	ns	ns
	CON	37,40±10,33a	40,58±13,07a	38,99±11,70a		
Acetato de hexilo	SIN	11,52±4,42a	11,80±4,43a	11,66±4,36a	ns	ns
	CON	11,81±4,16a	11,55±5,11a	11,68±4,58a		
Lactato de etilo	SIN	10645,66±2876,66a	11961,42±3232,43a	11303,54±3083,23a	4,32*	ns
	CON	9830,75±1486,90a	11045,78±1669,66a	10438,27±1672,45a		
Cis 3-hexenol	SIN	10,70±3,96a	13,05±5,68a	11,87±4,96a	ns	ns
	CON	10,80±3,79a	12,62±5,44a	11,71±4,70a		

Tabla 6.50 (Continuación). Media, desviación estándar y ANOVA en los compuestos aromáticos de los vinos de Monastrell tratados con té verde o catequina analizados a los 12 meses de conservación, en función de la aplicación de acetaldehído.

Parámetros (µg/L)	Aplicación acetaldehído	2016	2017	Media 2016-2017	Año (p-value)	Interacción Acet x Año (p)
Octanoato de etilo	SIN	27,08±11,04a	30,83±12,15a	28,96±11,58a	ns	ns
	CON	31,68±11,99a	34,47±15,66a	33,07±13,79a		
1,2 propilenglicol	SIN	118,89±39,13a	128,70±46,66a	123,80±42,65a	ns	ns
	CON	118,70±62,22a	130,00±72,25a	124,35±66,58a		
3-hidroxibutirato de etilo	SIN	59,61±15,89a	67,19±17,72a	63,40±17,00a	4,29*	ns
	CON	61,31±13,84a	69,66±14,70a	65,49±14,67a		
Linalol	SIN	48,25±10,31a	52,92±13,32a	50,59±11,95a	ns	ns
	CON	45,00±12,03a	50,23±13,77a	47,62±13,00a		
Decanoato de etilo	SIN	303,33±85,98a	340,82±96,60a	322,07±91,95a	ns	ns
	CON	274,10±65,52a	307,97±73,61a	291,03±70,68a		
Dietil succinato	SIN	1205,98±366,44a	1397,38±471,21a	1301,68±426,78a	4,45*	ns
	CON	1295,43±309,80a	1532,79±466,67a	1414,11±407,54a		
2 fenilacetato	SIN	29,48±10,10a	7,03±15,55a	18,26±17,22a	25,32***	ns
	CON	32,18±9,03a	4,19±11,44a	17,73±17,48a		
2 metoxifenol	SIN	437,32±200,29a	503,87±200,92a	483,09±178,30a	3,76*	ns
	CON	453,81±200,63a	522,40±200,53a	500,61±177,61a		
γ-octolactona	SIN	424,48±142,48a	498,86±157,72a	461,67±152,60a	4,19*	ns
	CON	459,86±170,37a	549,99±174,69a	504,92±175,81a		
2 feniletanol	SIN	27907,35±7909,44a	31356,57±8886,23a	29631,96±8458,11a	Ns	ns
	CON	28485,80±5253,90a	32006,51±5902,47a	30246,15±5780,70a		
Eugenol	SIN	107,20±33,53a	120,45±37,68a	113,83±35,73a	Ns	ns
	CON	112,91±43,54a	126,87±48,92a	119,89±46,10a		
Ácido decanoico	SIN	42,40±20,30a	122,08±75,52a	50,05±22,33a	57,44***	ns
	CON	50,21±20,58a	84,51±83,41a	52,08±21,50a		
Vainillina	SIN	90,65±46,37a	101,86±59,52a	96,25±58,44a	Ns	ns
	CON	59,82±43,67a	67,21±49,07a	63,51±45,85a		

Sin: sin acetaldehído; Con: con acetaldehído; * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$. *** $p < 0.001$

Tal como hemos visto en la tabla anterior, no existen diferencias significativas en los compuestos aromáticos de estos vinos por el hecho de haber sido microoxigenados mediante adición de acetaldehído, y esto mismo lo podemos apreciar con el Análisis Discriminante (gráfico 6.30), observándose en él que muchos de estos vinos aparecen mezclados, y en cambio se observan grandes diferencias entre estos vinos y los testigos.

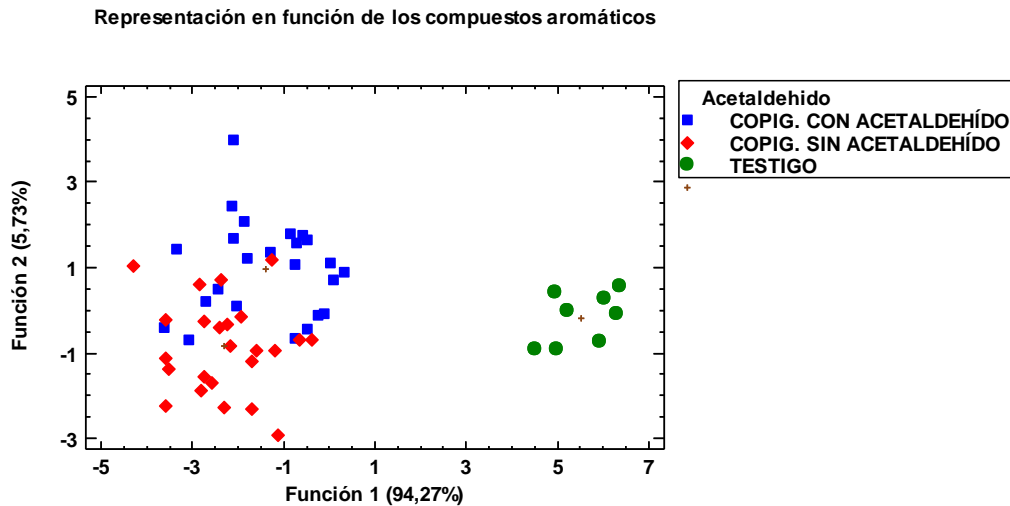


Gráfico 6.30. Representación de los vinos según la aplicación de acetaldehído, en el espacio definido por la primera y segunda función discriminante en función de su composición aromática.

A continuación, se muestran los resultados del Análisis Discriminante llevado a cabo conjuntamente con los parámetros polifenólicos y aromáticos (gráfico 6.31). Los grupos de vinos estudiados se separan perfectamente tanto los vinos tratados en campo de los testigos como los copigmentados conservados con y sin acetaldehído.

Representación en función de los compuestos polifenólicos y aromáticos

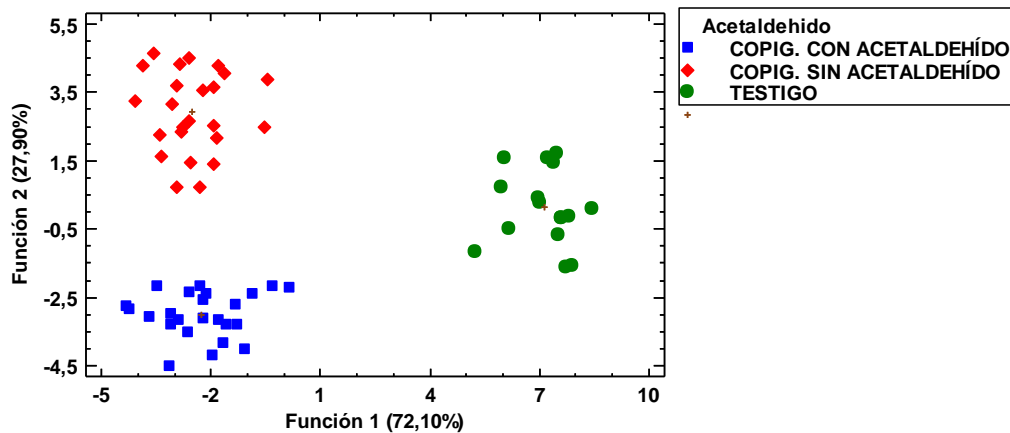


Gráfico 6.31. Representación de los vinos según la aplicación de acetaldehído, en el espacio definido por la primera y segunda función discriminante en función de su composición polifenólica y aromática.

La primera función discriminante, que separa a los vinos testigo de los tratados con copigmentos, está ligada principalmente al porcentaje de antocianos polimerizados y copigmentados, la concentración de polifenoles totales y de taninos condensados, la concentración de acetato de hexilo, de dietilsuccinato y de linalol. La segunda función discriminante, que separa principalmente los vinos procedentes de uvas suplementadas con copigmentos, en función de que hayan sido o no tratadas con acetaldehído (tabla 6.51) está ligada en mayor medida al porcentaje de antocianos copigmentados y polimerizados, al Índice de Folin, a la concentración de malvidina, peonidina y petunidina, compuestos que tienen un valor más elevado en los vinos tratados con acetaldehído, tal como se reflejó

en el ANOVA (tabla 6.48) y que ha sido manifestado también por otros autores (Han et al., 2019); además, también tienen peso en la diferenciación otros compuestos aromáticos como el acetato de hexilo, dietilsuccinato, eugenol y ácido decanoico. Los compuestos aromáticos, aunque por si solos no pudieron diferenciar estos vinos, su aporte en el tratamiento conjunto con los polifenoles contribuyó a una mejor diferenciación.

Tabla 6.51. *Coefficientes estandarizados de las 2 funciones discriminantes que permiten diferenciar los vinos según la aplicación de acetaldehído en función de los compuestos polifenólicos y aromáticos.*

Compuestos polifenólicos y aromáticos	Coeficientes estandarizados de las Funciones Discriminantes	
	1	2
Intensidad Colorante	0,854601	-3,21611
Tono o matiz	-0,229998	0,00474862
% Antocianos copigmentados	0,177441	1,1696
% Antocianos libres	0,455301	-0,114933
% Antocianos polimerizados	1,07592	0,886079
Antocianos totales	-0,364513	0,0102746
Taninos condensados	0,671034	0,852338
Polifenoles totales	1,4536	2,40394
Índice de Fólin	-0,669333	-0,977186
Índice de DMACH	-0,234348	-0,496461
Índice de Gelatina	0,620289	0,00796648
Malvidina	-0,0290915	1,83911
Peonidina	0,204209	-2,33163
Petunidina	1,08971	-2,05561
Cianidina	1,18961	1,47055
Delfinidina	-0,04906	-2,74405
α -pineno	0,650251	-0,446439
Isovalerato de etilo	-0,210312	0,46365
β -pineno	0,271198	1,02915
Acetato de isoamilo	0,0291754	0,15752
Hexanoato de etilo	0,509222	-0,936975
n-amyl alcohol	-0,734072	-0,94296
Acetato de hexilo	-1,62216	-1,59731
Lactato de etilo	-0,845178	0,13064
Cis-3-hexenol	-0,36849	-0,357761
Octanoato de etilo	-0,068524	-0,357771
1,2 propilenglicol	-0,416844	0,69566
Etil-3-hidroxibutirato	0,280876	0,836568
Linalol	1,10564	-1,28065
Decanoato de etilo	0,554061	0,784497
Dietilsuccinato	-1,73493	1,92733
2- fenilacetato	0,810884	0,19211
2-metoxifenol	0,971041	0,27502
γ -octolactona	-0,141375	-0,38418
2 feniletanol	0,81274	0,30656
Eugenol	-0,271039	-1,58205
Ácido decanoico	-0,804121	1,51135
Vainillina	-0,342659	0,909472

6.1.4. ESTUDIO COMPARATIVO DEL EFECTO EN LOS VINOS DE LA APLICACIÓN DE COPIGMENTOS, DE LAS TÉCNICAS DE VINIFICACIÓN Y DE LA ADICIÓN DE ACETALDEHÍDO

Como se ha podido ver en los apartados anteriores, existe una similitud en el comportamiento de los distintos extractos y copigmentos aplicados en campo y a la entrada en bodega, así como del efecto de las técnicas de vinificación y de la adición de acetaldehído, en los vinos estudiados. Para poder simplificar la interpretación de los resultados obtenidos, se han relacionado los encontrados a los 12 meses de conservación, representándose éstos mediante Análisis Discriminante, para visualizar si existen diferencias entre los vinos.

6.1.4.1. ESTUDIO CONJUNTO DEL EFECTO DE LA APLICACIÓN DE EXTRACTOS Y COPIGMENTOS EN LOS VINOS

Tal como se ha mostrado en los apartados anteriores, al cabo de 12 meses de conservación se han encontrado diferencias en los vinos en función de que las uvas hayan sido tratadas con extractos vegetales, con copigmentos puros en campo o con copigmentos puros a la entrada en bodega.

La aplicación de los extractos vegetales de romero, trigo sarraceno y té verde, y de los copigmentos puros ácido cafeico, rutina y catequina, ocasionó modificaciones en la composición polifenólica de los vinos (tablas 6.1, 6.23 y 6.39). En todos los casos se observó un incremento de la malvidina, peonidina, petunidina, cianidina y delphinidina y de los antocianos totales, superior con la aplicación de extractos que con la aplicación de copigmentos puros. El extracto de romero y el ácido cafeico incrementaron el color de los vinos, mientras que los otros tratamientos incrementaron la concentración de antocianos, pero esto no se reflejó de forma significativa en el color de los vinos. También se apreciaron diferencias en el porcentaje de antocianos copigmentados y polimerizados, ya que con extracto de romero y ácido cafeico se encontró un incremento de los antocianos polimerizados a los 12 meses, mientras que con extracto de té verde y catequina mostraron mayor porcentaje de antocianos copigmentados, y el trigo sarraceno y la rutina, en cambio, no afectaron al porcentaje de antocianos copigmentados ni polimerizados. También se observaron diferencias en el comportamiento de los taninos condensados, ya que los vinos tratados con extracto de trigo sarraceno en 2016 mostraron menor concentración de este compuesto, al igual que los tratados con extracto de té verde en 2016 y 2017.

También la aplicación de extractos vegetales y copigmentos puros modificó la composición aromática de los vinos, tal como se observa en las tablas 6.6, 6.24 y 6.41 de los apartados anteriores, mostrando diferencias más significativas que las observadas para los compuestos polifenólicos. La aplicación de extractos vegetales y copigmentos puros incrementó la concentración de dietilsuccinato, 2-fenilacetato y vainillina con relación a los testigos. Además, los vinos tratados con extracto de romero y ácido cafeico mostraron la mayor concentración de acetato de hexilo y γ -octolactona, los tratados con extracto de romero la menor de lactato de etilo y 1-2 propilenglicol, y los tratados con ácido cafeico la mayor concentración de eugenol y linalol. Los vinos procedentes de uvas tratadas con extracto de trigo sarraceno y rutina muestran un mayor incremento del acetato de hexilo, octanoato de etilo y ácido decanoico, mientras que los tratados con extracto de trigo sarraceno mostraron valores inferiores de α -pineno y β -pineno, isovalerato de etilo, acetato de isoamilo y hexanoato de etilo, y los tratados con rutina menor concentración de linalol, etil 3-hidroxibutirato y 2-metoxifenol. Los vinos tratados con extracto de té

verde y catequina pura incrementaron la concentración de octanoato de etilo y vainillina y disminuyeron la de α -pineno y acetato de isoamilo; la aplicación de extracto té verde dio lugar a los vinos con la mayor concentración de linalol y el eugenol y la menor de 1,2-propilenglicol y decanoato de etilo, y la aplicación de catequina en campo dio lugar a vinos con la mayor concentración de vainillina y la menor concentración de 2-metoxifenol.

Estas diferencias encontradas en los ANOVA nos permiten establecer las diferencias entre los vinos tratados con un extracto y su correspondiente copigmento en campo y bodega, pero es interesante poder establecer si hay diferencias entre los vinos en función de que los copigmentos se apliquen en forma de extractos en el campo, como copigmentos puros en el campo, y como copigmentos puros a la entrada en bodega, y a su vez si estos vinos se diferencian de los testigos. Para ello vamos a utilizar una herramienta sencilla como es el Análisis Discriminante, que además nos permite comprobar si las funciones discriminantes, que tratan conjuntamente todos los datos, están más o menos influenciadas por los compuestos que aportan diferencias significativas en los ANOVA.

Otro objetivo de estos análisis es definir si las diferencias encontradas contribuyen en mayor o menor medida a la calidad de los vinos, y por tanto establecer que tratamientos son los más aconsejables para mejorar la calidad de los vinos de Monastrell.

En el Análisis Discriminante recogido en la gráfica 6.32 realizado con los compuestos polifenólicos de los vinos, considerando conjuntamente los vinos tratados con los tres extractos, los tratados con los copigmentos ácido cafeico, rutina y catequina en campo, los tratados con estos mismos copigmentos a la entrada en bodega, y los testigos, podemos observar que solo se diferencian correctamente el 60,94 % de los vinos, situándose en la parte positiva de la primera función discriminante los vinos tratados con copigmentos en campo, mientras que los vinos tratados con extractos vegetales se sitúan en la parte positiva de la segunda función discriminante. La tercera función, por su poco peso en la diferenciación, no es significativa. (81,25 %).

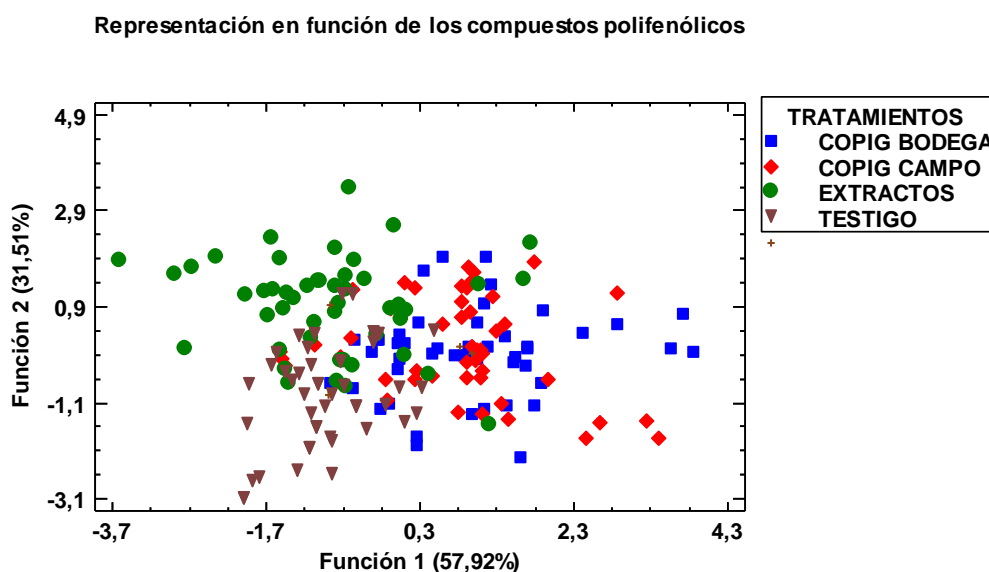


Gráfico 6.32. Representación conjunta de los vinos procedentes de todos los tratamientos de copigmentación en el espacio definido por la primera y segunda función discriminante en función de su composición polifenólica.

El Análisis Discriminante realizado con los compuestos aromáticos (gráfico 6.33, 6.34 y tabla 6.52) permitió diferenciar los vinos suplementados con extractos vegetales (primera función discriminante) del 100 % de los testigos (segunda función discriminante). Los vinos tratados con copigmentos puros en campo y bodega, con ayuda de la segunda y tercera función discriminante pueden llegar a clasificarse correctamente en un 85,5 % de los vinos.

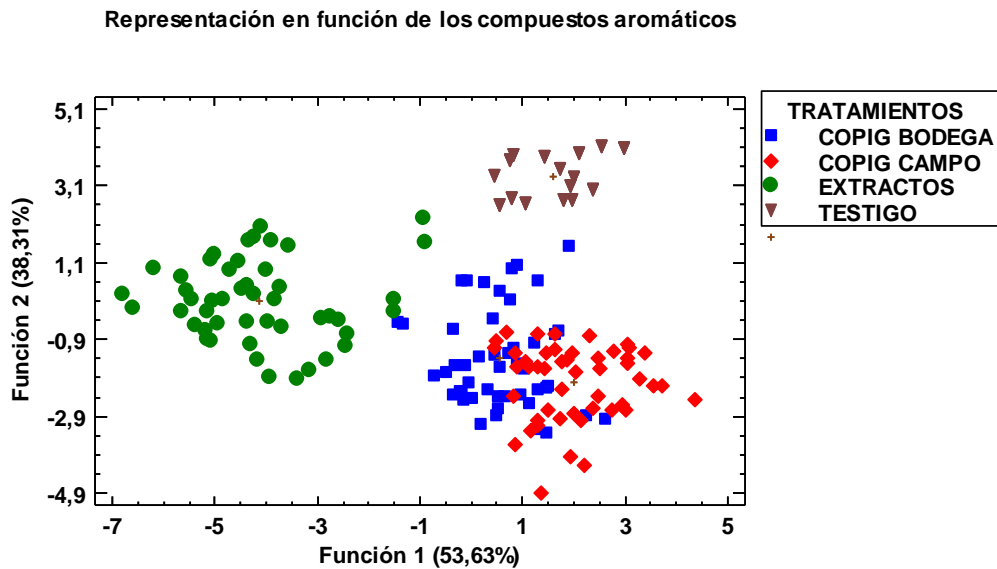


Gráfico 6.33. Representación conjunta de los vinos procedentes de todos los tratamientos de copigmentación en el espacio definido por la primera y segunda función discriminante en función de su composición aromática.

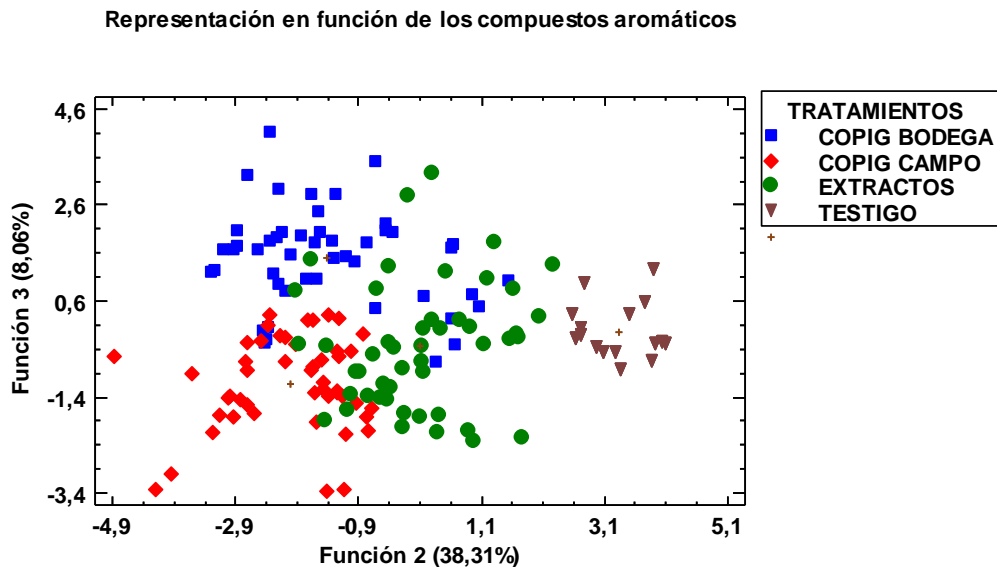


Gráfico 6.34. Representación conjunta de los vinos procedentes de todos los tratamientos de copigmentación en el espacio definido por la segunda y tercera función discriminante en función de su composición aromática.

El Análisis Discriminante llevado a cabo conjuntamente con los parámetros polifenólicos y aromáticos (gráfico 6.35, gráfico 6.36 y tabla 6.52) nos muestra un aspecto muy similar al observado con los compuestos aromáticos, pero permite clasificar correctamente los vinos suplementados con extractos vegetales (primera función discriminante), y los testigos (segunda función discriminante), y mejora la clasificación de los copigmentados en campo y bodega, ya que estos últimos con apoyo de la segunda y tercera función discriminante pueden diferenciarse en un 91,83 %.

La primera función discriminante, que es la que diferencia los vinos tratados con extractos vegetales, está ligada principalmente al dietilsuccinato, al 2-feniletanol y a los antocianos totales y pormenorizados, mientras que la segunda, que diferencia a los testigos, está ligada en mayor medida al linalol, acetato de isoamilo y acetato de hexilo y en la tercera, responsable de la diferenciación de los vinos tratados con copigmentos puros en campo y bodega, la mayor influencia es del lactato de etilo, la γ -octolactona y el tono. El aporte conjunto de los compuestos polifenólicos y aromáticos permitió mejorar la clasificación de estos vinos, aunque en las condiciones del análisis, estudiando los vinos testigo, los tratados con extractos y los tratados conjuntamente con los copigmentos puros según su momento de aplicación, no es posible diferenciar el 100% los vinos procedentes de tratamientos con copigmentos puros en campo y bodega.

El hecho de que los vinos tratados con extractos vegetales a los 12 meses de conservación se diferencien del resto en su mayor concentración de antocianos totales y de la mayor parte de los pormenorizados, pone de manifiesto la mayor estabilidad de sus antocianos y por tanto del color de los vinos y constituye un factor de calidad a favor de la utilización de estos extractos en el campo. También la mayor concentración de compuestos aromáticos favorables para la calidad olfativa de los vinos, como al dietilsuccinato y el 2-feniletanol, contribuyen a recomendar la aplicación de extractos en lugar de copigmentos puros.

La aplicación de distintos extractos vegetales en el viñedo es una práctica que ha suscitado un gran interés en los últimos años, ya que, aunque es necesaria su aprobación previa para poder aplicarlos, en la medida en que se consideran productos naturales, pueden fácilmente ser autorizados tanto en agricultura convencional como ecológica, ya que son productos de baja toxicidad para el campo. En cambio, sería mucho más complicado conseguir la autorización para aplicar los copigmentos puros en campo y bodega.

Representación en función de los compuestos polifenólicos y aromáticos

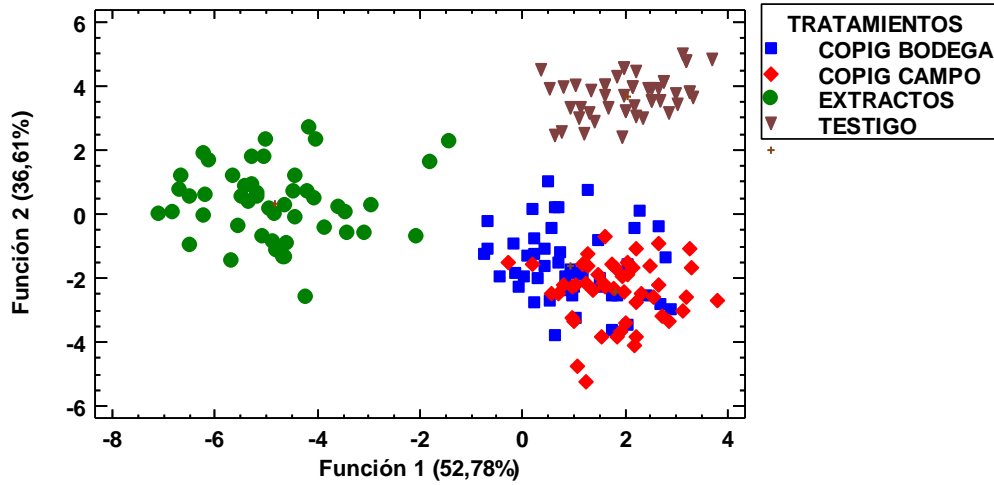


Gráfico 6.35. Representación conjunta de los vinos procedentes de todos los tratamientos de copigmentación en el espacio definido por la primera y segunda función discriminante en función de su composición polifenólica y aromática

Representación en función de los compuestos polifenólicos y aromáticos

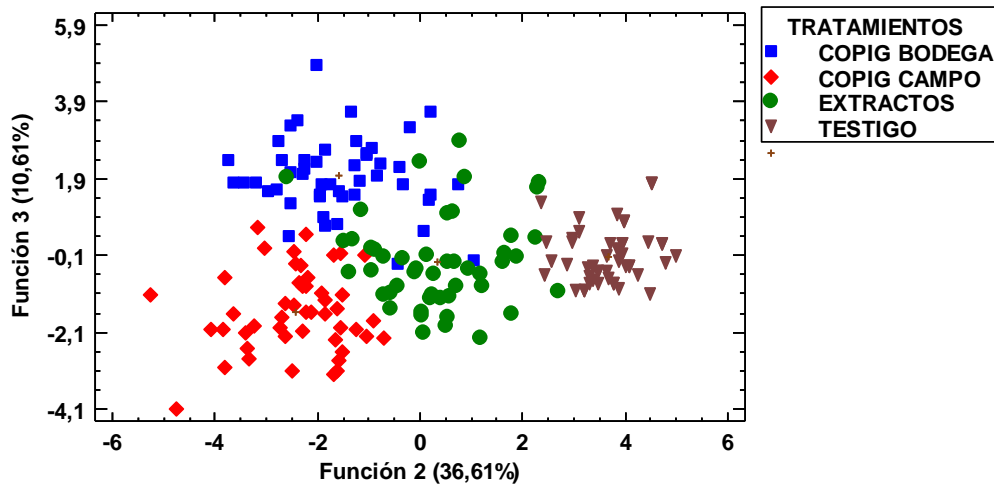


Gráfico 6.36. Representación conjunta de los vinos procedentes de todos los tratamientos de copigmentación en el espacio definido por la segunda y tercera función discriminante en función de su composición polifenólica y aromática.

Tabla 6.52. Coeficientes estandarizados de las 3 funciones discriminantes que permiten diferenciar los vinos procedentes de todos los tratamientos de copigmentación en función de los compuestos polifenólicos y aromáticos.

Compuestos polifenólicos y aromáticos	Coeficientes estandarizados de las Funciones Discriminantes		
	1	2	3
Intensidad Colorante	-0,581217	0,426951	-0,685282
Tono o matiz	-0,628097	-0,0218493	-0,97165
% Antocianos copigmentados	0,104223	-0,148244	0,399954
% Antocianos libres	0,0817458	0,949021	0,237908

Tabla 6.52 (Continuación). *Coefficientes estandarizados de las 3 funciones discriminantes que permiten diferenciar los vinos procedentes de todos los tratamientos de copigmentación en función de los compuestos polifenólicos y aromáticos.*

Compuestos polifenólicos y aromáticos	Coefficientes estandarizados de las Funciones Discriminantes		
	1	2	3
% Antocianos polimerizados	0,158727	0,746467	0,577564
Antocianos totales	-0,95688	-0,269535	0,243698
Taninos condensados	0,0483351	0,36189	-0,237195
Polifenoles totales	0,0476569	-0,00373493	0,36065
Índice de Fólin	-0,183494	-0,184409	-0,0702498
Índice de DMACH	-0,0754292	0,0347826	-0,0329181
Índice de Gelatina	-0,0560002	0,236174	-0,0316965
Malvidina	-0,898111	-0,121288	0,0153412
Peonidina	-0,98884	0,199588	0,752777
Petunidina	-0,825744	-0,11069	-0,755671
Cianidina	0,743293	0,44086	0,183407
Delfinidina	0,42535	-0,507739	0,246794
α -pineno	-0,18974	0,181133	0,0697505
Isovalerato de etilo	0,408578	0,210797	0,250148
β -pineno	-0,458761	0,0802124	0,0205628
Acetato de isoamilo	-0,0261805	0,998808	-0,0163216
Hexanoato de etilo	0,730458	-0,104619	0,244683
n-amyl alcohol	0,565564	-0,0831994	-0,056945
Acetato de hexilo	0,0972651	-0,896239	0,115673
Lactato de etilo	0,219052	-0,433082	-1,29578
Cis-3-hexenol	0,455626	-0,897402	0,247961
Octanoato de etilo	-0,149981	-0,417956	-0,3266
1,2 propilenglicol	0,70989	-0,108564	0,0249917
Etil-3-hidroxitbutirato	0,525859	0,82582	0,795429
Linalol	-0,605924	0,949775	-0,751193
Decanoato de etilo	0,500708	-0,136986	-0,492288
Dietilsuccinato	-1,69269	-0,0181279	0,0283794
2- fenilacetato	0,162028	-0,268406	0,569127
2-metoxifenol	-0,100591	0,640481	1,11577
γ -octolactona	-0,224145	-0,504656	-1,2487
2 feniletanol	-1,31081	0,30217	0,7798
Eugenol	0,611165	-0,174544	0,169774
Ácido decanoico	0,0352111	-0,0104278	0,914633
Vainillina	-0,176297	-0,209831	0,103638

Para intentar mejorar la diferenciación anterior en los vinos tratados con copigmentos puros en campo de los tratados con copigmentos puros a la entrada en bodega, se ha realizado un Análisis Discriminante conjuntamente con los compuestos polifenólicos y aromáticos de los vinos suplementados con copigmentos puros en campo y bodega, sin incluir en el análisis los vinos que han sido suplementados con extractos vegetales (gráfico 6.37 y tabla 6.53).

En los ANOVA realizados en los apartados anteriores también se encontraron pocas diferencias en la composición polifenólica de los vinos procedentes de uvas tratadas en campo y a la entrada en bodega, siendo esas diferencias más evidentes en los compuestos aromáticos. Como podemos observar, la primera función discriminante, que separa los testigos de los vinos tratados con copigmentos puros, está ligada principalmente al acetato de isoamilo, acetato de hexilo, linalol, porcentaje de antocianos

polimerizados y concentración de malvidina, y la segunda, que diferencia los vinos suplementados con copigmento puro en bodega, se relaciona con el lactato de etilo, 2-feniletanol y γ -octolactona, no teniendo un peso importante los compuestos polifenólicos. El aporte de los compuestos polifenólicos y aromáticos permitió diferenciar el 91,81 % de los vinos tratados con copigmentos puros en campo y bodega.

Ante los resultados obtenidos, resulta complejo determinar si la aplicación de copigmentos puros en campo es más o menos favorable para la calidad de los vinos, ya que a pesar de que hemos conseguido diferenciar un porcentaje importante de ellos, su comportamiento es poco uniforme con los distintos copigmentos y en los dos años estudiados. En los compuestos polifenólicos las diferencias son mínimas, y no permiten diferenciar los vinos, y en relación a los compuestos aromáticos, la γ -octolactona, compuesto favorable para la calidad, y el lactato de etilo, interesante en vinos cuando su concentración no es excesiva, se encuentran en mayor medida en los vinos copigmentados en campo, mientras que el 2-feniletanol, compuesto con aroma floral muy interesante en los vinos, se encuentra más elevado en los vinos copigmentados en bodega.

Representación en función de los compuestos polifenólicos y aromáticos

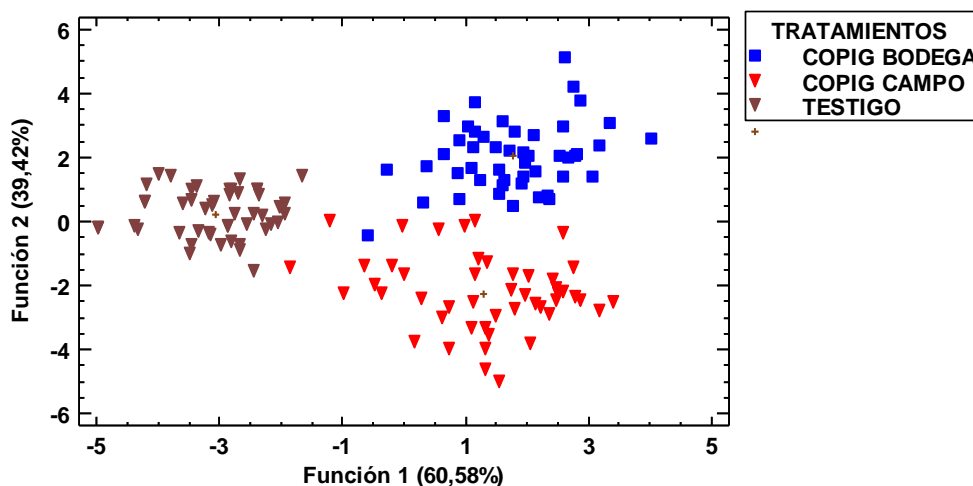


Gráfico 6.37. Representación conjunta de los vinos procedentes de los tratamientos con copigmentos puros en campo y bodega, en el espacio definido por la primera y segunda función discriminante, en función de su composición polifenólica y aromática.

Tabla 6.53. Coeficientes estandarizados de las 2 funciones discriminantes que permiten diferenciar los vinos procedentes de los tratamientos con copigmentos puros en campo y bodega en función de los compuestos polifenólicos y aromáticos.

Compuestos polifenólicos y aromáticos	Coeficientes estandarizados de las Funciones Discriminantes	
	1	2
Intensidad Colorante	-0,380705	0,441701
Tono o matiz	-0,469732	0,0558869
% Antocianos copigmentados	0,140027	0,152051
% Antocianos libres	-0,548991	0,29118
% Antocianos polimerizados	-0,502694	0,414173

Tabla 6.53 (Continuación). *Coefficientes estandarizados de las 2 funciones discriminantes que permiten diferenciar los vinos procedentes de los tratamientos con copigmentos puros en campo y bodega en función de los compuestos polifenólicos y aromáticos.*

Compuestos polifenólicos y aromáticos	Coeficientes estandarizados de las Funciones Discriminantes	
	1	2
Antocianos totales	-0,102638	0,323877
Taninos condensados	-0,142632	-0,009352
Polifenoles totales	0,407022	0,233879
Índice de Fólin	0,178016	0,208799
Índice de DMACH	0,234668	0,0875624
Índice de Gelatina	0,0143833	0,148495
Malvidina	0,54634	-0,278832
Peonidina	-0,498743	0,125581
Petunidina	0,312554	-0,124617
Cianidina	0,0729226	0,993076
Delfinidina	0,00365091	-0,995347
α -pineno	-0,352154	-0,505589
Isovalerato de etilo	-0,0428587	0,457156
β -pineno	0,066913	0,156157
Acetato de isoamilo	-1,05576	-0,0387898
Hexanoato de etilo	-0,105039	-0,232903
n-amyl alcohol	-0,176959	0,36819
Acetato de hexilo	0,912234	-0,0816236
Lactato de etilo	0,0692124	-2,83689
Cis-3-hexenol	0,630171	0,0556969
Octanoato de etilo	0,419011	-0,0890762
1,2 propilenglicol	0,221561	0,552919
Etil-3-hidroxitirato	-0,423808	1,28525
Linalol	-1,20537	-0,64011
Decanoato de etilo	-0,0163373	-0,498725
Dietilsuccinato	0,803813	0,557281
2- fenilacetato	-0,0396036	0,638061
2-metoxifenol	-0,851306	1,02665
γ -octolactona	0,490792	-1,64852
2 feniletanol	-0,438736	1,45036
Eugenol	0,785435	0,822973
Ácido decanoico	0,482894	0,432465
Vainillina	0,266466	-0,0781014

Para completar la información anteriormente expuesta, se han sometido a Análisis Discriminante los vinos tratados con ácido cafeico, rutina y catequina primeramente considerando conjuntamente los vinos procedentes de uvas tratadas en campo y bodega con estos copigmentos, puros, y en segundo lugar contemplando de forma separada los vinos procedentes de uvas tratadas en campo y los tratados en bodega.

El gráfico 6.38 muestra la representación conjunta de los vinos tratados en campo y bodega, con ácido cafeico, rutina y catequina, en función de su composición polifenólica. Podemos ver que los polifenoles por si solos no nos permiten clasificar correctamente estos vinos, ya que solo un 89,58 % de los vinos aparecen correctamente clasificados.

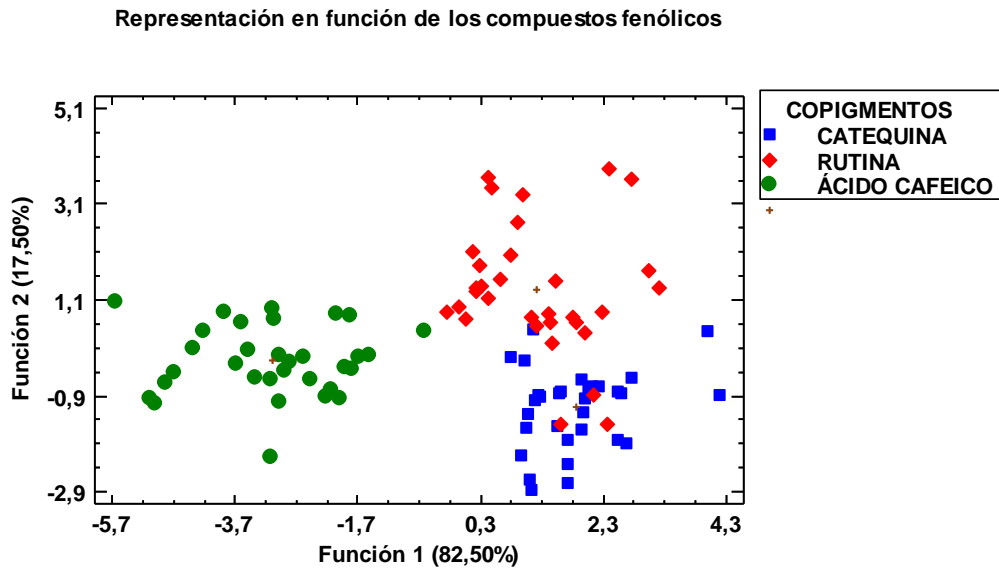


Gráfico 6.38. Representación conjunta de los vinos tratados en campo y bodega con ácido cafeico, rutina y catequina, en el espacio definido por la primera y segunda función discriminante, en función de su composición polifenólica.

El gráfico 6.39 muestra la representación conjunta de los vinos tratados en campo y bodega, con ácido cafeico, rutina y catequina, en función de su composición aromática. Mediante este análisis solo es posible diferenciar el 90 % de los vinos suplementados con rutina de los suplementados con catequina.

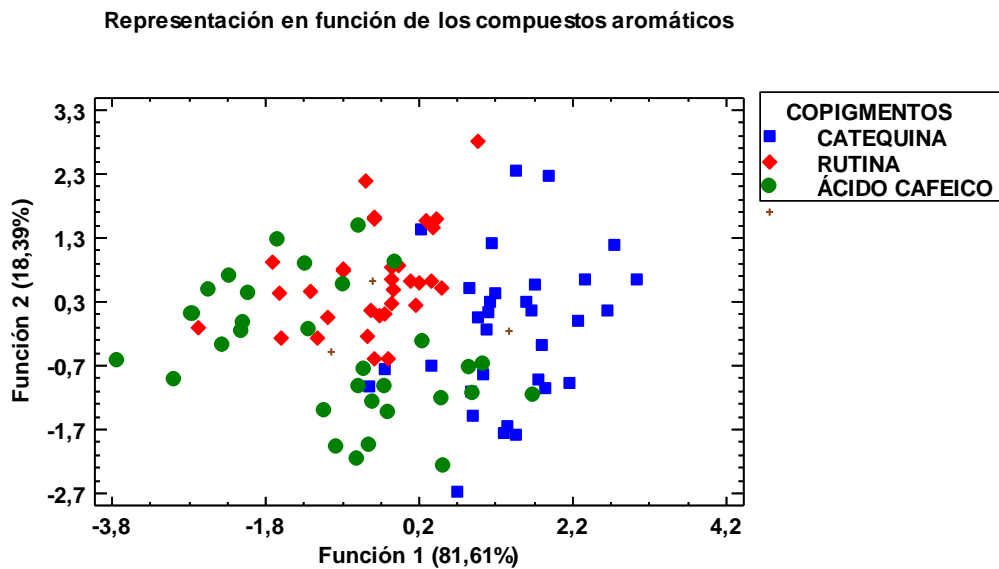


Gráfico 6.39. Representación conjunta de los vinos tratados en campo y bodega con ácido cafeico, rutina y catequina, en el espacio definido por la primera y segunda función discriminante, en función de su composición aromática.

En cambio, si realizamos el Análisis Discriminante de los vinos tratados en campo y bodega, con ácido cafeico, rutina y catequina, con todos los compuestos, polifenólicos y aromáticos (gráfico 6.40 y tabla 6.54), es posible diferenciar la totalidad de los vinos en función del copigmento puro aplicado. La primera función discriminante nos permite separar los vinos tratados con catequina, los tratados con rutina y los tratados con ácido cafeico, y está influenciada principalmente por el porcentaje de antocianos polimerizados, antocianos totales, malvidina, 2-feniletanol y γ -octolactona; y la segunda, que diferencia los vinos tratados con rutina, lo hace principalmente por el porcentaje de antocianos polimerizados, peonidina, 2-metoxifenol y γ -octolactona.

Los vinos tratados con catequina presentan mayor concentración de antocianos copigmentados, antocianos totales, malvidina, 2-feniletanol y eugenol, mientras que los tratados con ácido cafeico presentan mayor porcentaje de antocianos polimerizados, una intensidad colorante ligeramente superior, y mayor concentración de γ -octolactona, y los vinos tratados con rutina presentan menor concentración de 2-metoxifenol y γ -octolactona. Ante estas diferencias, que permiten diferenciar los vinos tratando conjuntamente todos los datos, es difícil establecer que copigmento es más favorable para la calidad de los vinos; es más fácil establecer cuál es el menos recomendable, ya que la rutina no se caracteriza ni por una mejor composición polifenólica ni aromática.

Representación en función de los compuestos polifenólicos y aromáticos

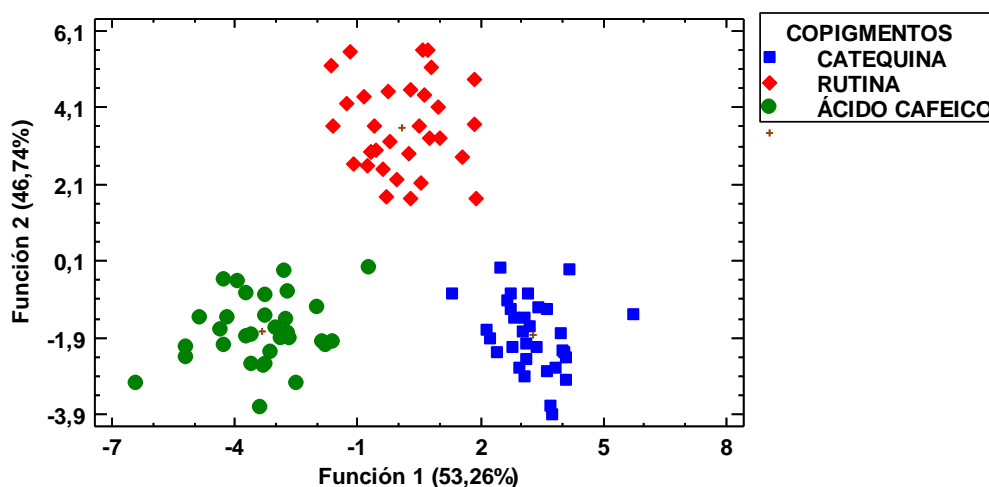


Gráfico 6.40. Representación conjunta de los vinos tratados en campo y bodega con ácido cafeico, rutina y catequina, en el espacio definido por la primera y segunda función discriminante, en función de su composición polifenólica y aromática.

Tabla 6.54. Coeficientes estandarizados de las 2 funciones discriminantes que permiten diferenciar los vinos tratados en campo y bodega con ácido cafeico, rutina y catequina, en función de los compuestos polifenólicos y aromáticos.

Compuestos polifenólicos y aromáticos	Coeficientes estandarizados de las Funciones Discriminantes	
	1	2
Intensidad Colorante	-0,994302	0,894796
Tono o matiz	-0,211191	-0,0985944
% Antocianos copigmentados	0,756642	-0,167209
% Antocianos libres	0,398323	-0,736959
% Antocianos polimerizados	0,911885	-1,40333

Tabla 6.54 (Continuación). *Coefficientes estandarizados de las 2 funciones discriminantes que permiten diferenciar los vinos tratados en campo y bodega con ácido cafeico, rutina y catequina, en función de los compuestos polifenólicos y aromáticos.*

Compuestos polifenólicos y aromáticos	Coeficientes estandarizados de las Funciones Discriminantes	
	1	2
Antocianos totales	-1,03273	0,795511
Taninos condensados	0,135658	0,234213
Polifenoles totales	0,316341	-0,244843
Índice de Fólin	0,440937	0,274015
Índice de DMACH	0,176911	0,19387
Índice de Gelatina	-0,0815216	-0,120373
Malvidina	-1,10114	-0,0951508
Peonidina	0,875575	1,37426
Petunidina	0,173592	0,892033
Cianidina	-0,208059	-0,807723
Delfinidina	-0,329319	0,560657
α -pineno	0,00688257	-0,125052
Isovalerato de etilo	0,204065	-0,198316
β -pineno	0,160193	-0,914493
Acetato de isoamilo	0,191637	-0,295826
Hexanoato de etilo	0,281357	0,197314
n-amyl alcohol	0,735841	0,10869
Acetato de hexilo	0,333265	0,279941
Lactato de etilo	-0,0046509	0,663161
Cis-3-hexenol	-0,268966	-0,371684
Octanoato de etilo	0,557011	-0,390846
1,2 propilenglicol	-0,559586	0,0672585
Etil-3-hidroxitirato	0,0653439	-0,684222
Linalol	-0,261564	-0,241599
Decanoato de etilo	0,341111	0,380377
Dietilsuccinato	0,0451665	-0,376897
2- fenilacetato	0,00725844	0,149478
2-metoxifenol	0,0204116	1,44512
γ -octolactona	1,09712	1,48555
2 feniletanol	-1,50301	-0,915803
Eugenol	-0,8647	0,136855
Ácido decanoico	-0,122204	0,239529
Vainillina	-0,29014	0,621362

Una vez comprobado que es posible diferenciar en su conjunto casi el 100% de los vinos tratados con copigmentos puros en campo de los tratados con copigmentos puros a la entrada en bodega (gráfico 6.37), y también de forma individual en función de que el tratamiento fuese con ácido cafeico, rutina y catequina (gráfico 6.40), en ambos casos precisando de la consideración conjunta de los compuestos polifenólicos y aromáticos de los vinos, se han realizado Análisis Discriminantes para ver si es posible diferenciarlos en función del copigmento puro aplicado y del hecho de que éste se haya adicionado en campo o en bodega.

Como hemos visto en ANOVA anteriores, es posible establecer diferencias entre los vinos tratados en campo y bodega con un determinado copigmento. Con respecto a la composición polifenólica, entre los vinos tratados con ácido cafeico y catequina en campo y bodega, las diferencias no han sido muy significativas, pero, en cambio, la rutina da lugar a vinos con mayor concentración de antocianos totales cuando la adición se produjo

a la entrada en bodega. Con respecto a los compuestos aromáticos, los vinos tratados con rutina a la entrada en bodega mostraron mayor concentración de 2-metoxifenol, acetato de hexilo, 2-fenilacetato y vainillina y menor de lactato de etilo, la aplicación de catequina en campo dio lugar a vinos con la mayor concentración de vainillina, acetato de hexilo y γ -octolactona, y la menor de 2-metoxifenol, y la aplicación de ácido cafeico en campo dio lugar a vinos con mayor concentración aromática que cuando esta aplicación se realizó en bodega, especialmente de γ -octolactona, 2-metoxifenol y 1,2-propilenglicol.

Para establecer si existen diferencias entre los vinos tratados con los tres copigmentos puros en campo e independientemente en bodega, se ha realizado el Análisis Discriminante inicialmente con los compuestos polifenólicos, con el que solo podemos identificar adecuadamente en su correspondiente grupo el 75 % de los vinos. Y ese porcentaje de clasificación no mejora cuando el Análisis Discriminante se lleva a cabo solo con los compuestos aromáticos. En cambio, considerando conjuntamente los compuestos polifenólicos y aromáticos (gráfico 6.41, gráfico 6.42 y tabla 6.55), es posible diferenciar el 100 % de los vinos en su correspondiente grupo, mediante el aporte prácticamente de las 3 primeras funciones discriminantes, ya que la cuarta y la quinta solo representan el 7,91 % de la diferenciación.

La primera función discriminante, que diferencia los vinos tratados con rutina en bodega del resto de los vinos, está ligada principalmente a los antocianos totales, lactato de etilo y 2-metoxifenol. La segunda, que separa los vinos tratados con cafeico en bodega, lo hace principalmente con el porcentaje de antocianos polimerizados, antocianos totales, concentración de malvidina y 2-metoxifenol. Y la tercera, que contribuye a separar los vinos tratados con catequina en bodega, lo hace principalmente con el porcentaje de antocianos polimerizados, petunidina, lactato de etilo, γ -octolactona y 2-feniletanol.

Los resultados obtenidos resultan difíciles de interpretar, al tratarse de un número elevado de tratamientos, de la necesidad de recurrir a varias funciones discriminantes para su diferenciación, y al encontrarse todos los grupos muy próximos en el espacio determinado por las funciones discriminantes. El tratamiento de rutina en bodega es el que se diferencia más claramente, por ser el que da lugar a los vinos con la mayor concentración de antocianos totales, la mayor astringencia y la menor concentración de lactato de etilo. Los vinos tratados con catequina en campo dan lugar a los vinos con mayor concentración de malvidina y petunidina, la catequina aplicada en bodega da lugar a vinos con mayor concentración de lactato de etilo, los vinos tratados con cafeico en bodega tienen la mayor concentración de antocianos polimerizados mientras que los tratados con ácido cafeico en campo tienen la mayor concentración de metoxifenol. Ante estos resultados tan diversos no se puede establecer que tratamientos dan lugar a los vinos de más calidad, sería necesario haber realizado un análisis sensorial de estos vinos, que no se ha hecho debido al gran número de vinos elaborados.

Representación en función de los compuestos polifenólicos y aromáticos

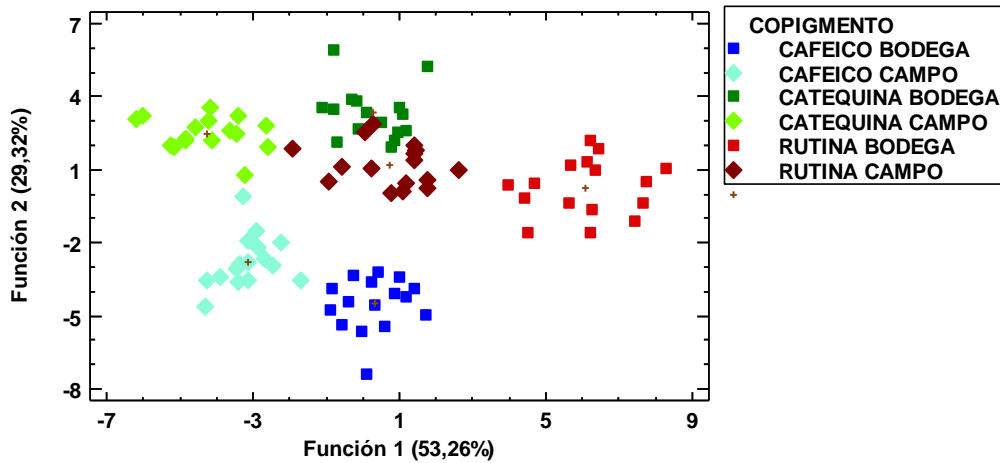


Gráfico 6.41. Representación de los vinos tratados en campo y bodega con ácido cafeico, rutina y catequina, en el espacio definido por la primera y segunda función discriminante, en función de su composición polifenólica y aromática.

Representación en función de los compuestos polifenólicos y aromáticos

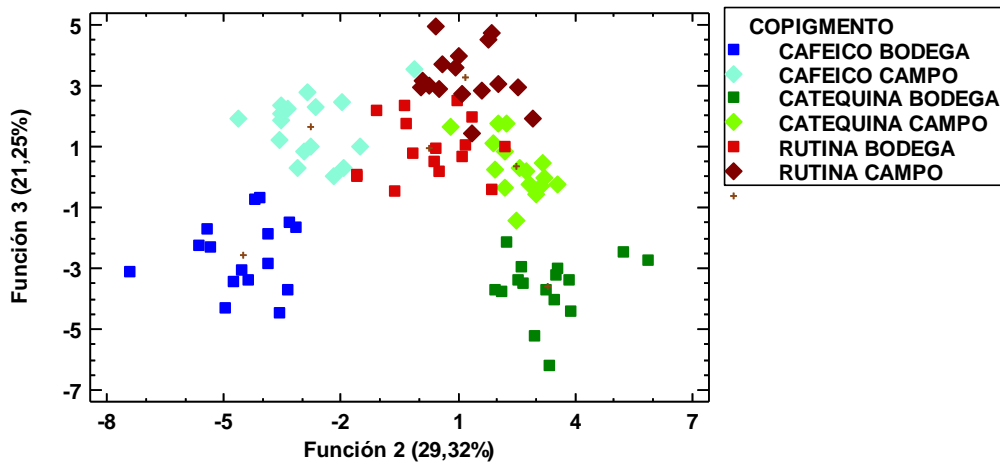


Gráfico 6.41. Representación de los vinos tratados en campo y bodega con ácido cafeico, rutina y catequina, en el espacio definido por la segunda y tercera función discriminante, en función de su composición polifenólica y aromática.

Tabla 6.55. Coeficientes estandarizados de las funciones discriminantes que permiten diferenciar los vinos tratados en campo y bodega con ácido cafeico, rutina y catequina, considerando los compuestos polifenólicos y aromáticos.

Compuestos polifenólicos y aromáticos	Coeficientes estandarizados de las Funciones Discriminantes				
	1	2	3	4	5
Intensidad Colorante	0,814495	-0,11757	1,14192	1,18265	1,16483
Tono o matiz	-0,461012	-0,540164	0,493897	1,35235	0,164702
% Antocianos copigmentados	-0,290172	0,816611	-0,353095	-0,379429	-0,395331
% Antocianos libres	-1,00087	0,615751	0,0628345	-0,604217	1,14524
% Antocianos polimerizados	-1,0224	-1,15387	-0,254275	-0,476615	0,622107

Tabla 6.55 (Continuación). *Coefficientes estandarizados de las funciones discriminantes que permiten diferenciar los vinos tratados en campo y bodega con ácido cafeico, rutina y catequina, considerando los compuestos polifenólicos y aromáticos.*

Compuestos polifenólicos y aromáticos	Coefficientes estandarizados de las Funciones Discriminantes				
	1	2	3	4	5
Antocianos totales	1,804809	-1,29796	0,769772	1,31728	-0,168338
Taninos condensados	-0,486958	0,703185	0,92601	-1,13367	0,857598
Polifenoles totales	0,0514794	0,0307468	-0,399794	0,731994	0,00599011
Índice de Fólin	0,380147	0,520313	-0,061288	-0,137076	-0,0377337
Índice de DMACH	-0,325916	0,384863	0,706791	-0,110155	0,552805
Índice de Gelatina	0,308903	-0,309181	-0,40709	0,475629	-0,0924685
Malvidina	-0,0673442	-1,20263	-0,476142	-0,403233	-1,69313
Peonidina	0,68354	0,683245	0,124298	1,0975	-0,824291
Petunidina	0,415034	0,601842	1,59706	0,133408	1,89322
Cianidina	-0,250083	-0,991219	-0,597903	2,10026	0,241556
Delfinidina	-0,112363	0,422783	0,461973	-2,36271	-0,826741
α -pineno	-0,0178849	-0,0971726	-0,224831	0,150482	-0,196159
Isovalerato de etilo	0,12626	0,283345	-0,398512	-0,451975	0,245765
β -pineno	-0,562123	0,0000114242	-0,838665	-0,129434	0,146489
Acetato de isoamilo	0,507171	0,0451833	-0,806624	0,0640523	0,274995
Hexanoato de etilo	-0,175935	0,479452	0,271989	-0,430877	-0,158909
n-amyl alcohol	0,405344	0,617162	-0,422284	0,268151	-0,225835
Acetato de hexilo	0,219248	0,097077	0,0557261	0,810696	-0,376497
Lactato de etilo	-2,05405	0,230322	2,62162	0,751466	-0,413439
Cis-3-hexenol	0,0124397	-0,0607832	-0,480921	-1,05522	0,262234
Octanoato de etilo	-0,115359	0,451124	-0,495089	0,136958	0,253325
1,2 propilenglicol	0,0493651	-0,114215	0,184507	-1,40137	0,364216
Etil-3-hidroxibutirato	0,278609	-0,0108344	-1,00591	-0,336598	0,710612
Linalol	-1,07119	-0,0550638	0,741882	-0,322259	0,375572
Decanoato de etilo	-0,543195	0,265569	0,78029	0,68625	-0,546494
Dietilsuccinato	0,336417	-0,223343	-0,630738	0,539514	0,398469
2- fenilacetato	0,761639	0,111586	-0,602109	-0,689707	-0,228475
2-metoxifenol	1,23999	2,0263939	-0,0831988	0,111572	-0,912915
γ -octolactona	-0,0337411	-0,272984	2,59033	-0,485741	0,620109
2 feniletanol	0,718161	0,552831	-2,04689	2,10174	0,11175
Eugenol	0,482003	-0,460408	-0,120138	-1,49085	0,107985
Ácido decanoico	0,538454	-0,0333145	-0,14311	-0,345823	-0,0649812
Vainillina	0,192358	-0,14355	0,613835	-0,137047	-0,492265

Por último, se va a comprobar mediante el Análisis Discriminante, si es posible diferenciar los vinos procedentes de uvas tratadas con extracto de romero, de trigo sarraceno y de té verde. Además, en función de los compuestos que más contribuyan a la diferenciación de estos vinos, se establecerá su contribución a la calidad y cuál de los extractos resulta más favorable para ello.

Ya hemos comprobado en ANOVA anteriores que la composición de los vinos tratados con extracto de romero, de trigo sarraceno y té verde mostraron diferencias con respecto a los tratados con copigmentos puros, ya que el extracto de romero contribuyó a incrementar el color y el porcentaje de antocianos pormenorizados y disminuyó la concentración de lactato de etilo y 1-2 propilenglicol con respecto a los vinos tratados con ácido cafeico, el extracto de té verde incrementó el porcentaje de antocianos copigmentados, linalol y eugenol y el extracto de trigo sarraceno incrementó la concentración de 2-metoxifenol, etil-3-hidroxibutirato y dietilsuccinato.

Para comprobar si también hay diferencias aplicado el Análisis Discriminante a los vinos procedentes de uvas tratadas con estos tres extractos, se ha realizado el análisis con los compuestos polifenólicos (gráfico 6.42), con los compuestos aromáticos (gráfico 6.43) y con el conjunto de los dos grupos de compuestos (gráfico 6.44).

En el gráfico 6.42 podemos comprobar que con la primera función discriminante se separan perfectamente los vinos de estos tres extractos, contribuyendo la segunda función discriminante a separar los vinos de uvas tratadas con trigo sarraceno. La tabla 6.56 nos muestra que muchos de los compuestos polifenólicos contribuyen a esta diferenciación. Los compuestos que tienen mayor peso en la primera función discriminante fueron la intensidad de color, el porcentaje de antocianos copigmentados y polimerizados, la concentración de antocianos totales, malvidina y resto de los antocianos pormenorizados, taninos totales e Índice de gelatina. En la segunda el mayor peso corresponde a la peonidina, petunidina, cianidina y delphinidina.

Los vinos tratados con extracto de romero, que se sitúan en la parte positiva del espacio definido por la primera función discriminante, se caracterizan por tener mayor intensidad colorante, mayor porcentaje de antocianos polimerizados y mayor concentración de taninos condensados. Los tratados con extracto de té verde, que se sitúan en la parte negativa del espacio definido por la primera función discriminante, se caracterizan por tener mayor porcentaje de antocianos copigmentados, mayor concentración de malvidina y petunidina. Los vinos tratados con extracto de trigo sarraceno, que se sitúan en el centro del espacio definido por la primera función discriminante y en la parte positiva de la segunda, se caracterizan por tener menor concentración de malvidina, peonidina, cianidina y delphinidina.

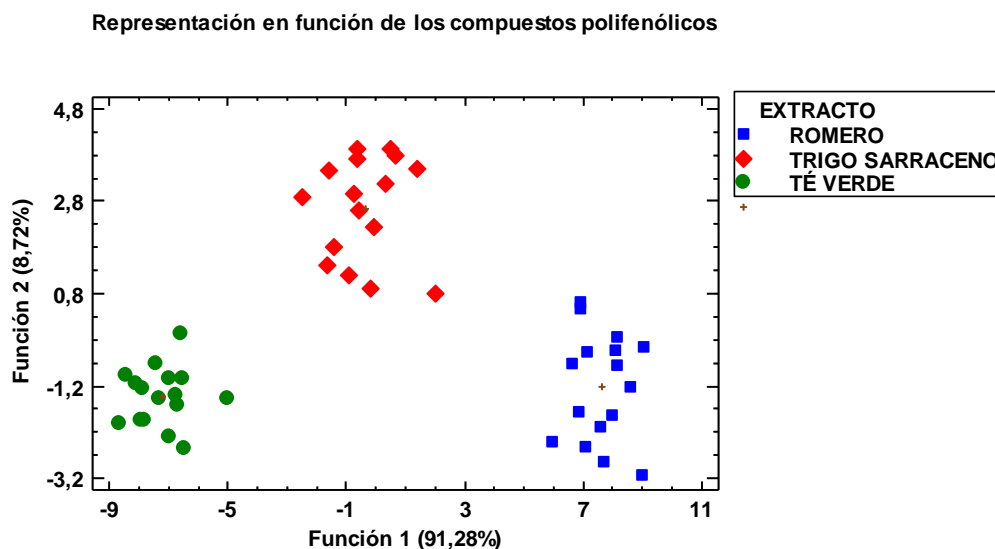


Gráfico 6.42. Representación de los vinos tratados en campo con extracto de romero, de trigo sarraceno y de té verde, en el espacio definido por la primera y segunda función discriminante, en función de su composición polifenólica.

Tabla 6.56. Coeficientes estandarizados de las 2 funciones discriminantes que permiten diferenciar los vinos tratados en campo con extracto de romero, de trigo sarraceno y de té verde, considerando los compuestos polifenólicos.

Compuestos polifenólicos	Coeficientes estandarizados de las Funciones Discriminantes	
	1	2
Intensidad Colorante	2,38509	0,849138
Tono o matiz	-0,490788	0,29505
% Antocianos copigmentados	-1,43944	0,954192
% Antocianos libres	-0,400499	-0,651301
% Antocianos polimerizados	0,767256	-0,59512
Antocianos totales	-0,778799	0,0546134
Taninos condensados	1,18956	0,910102
Polifenoles totales	0,900928	-0,76786
Índice de Fólin	-0,747108	0,0479999
Índice de DMACH	0,266805	0,127419
Índice de Gelatina	0,63672	-0,76673
Malvidina	-1,2045	0,79909
Peonidina	-2,60092	2,24518
Petunidina	4,45118	0,942744
Cianidina	-2,86125	-0,859882
Delfinidina	2,38509	0,849138

En el gráfico 6.43 podemos ver la representación de los vinos en función del extracto aplicado, observando que no es posible diferenciar correctamente estos vinos en función de su composición aromática, ya que con ella solo podemos clasificar correctamente el 79,17 % de los vinos.

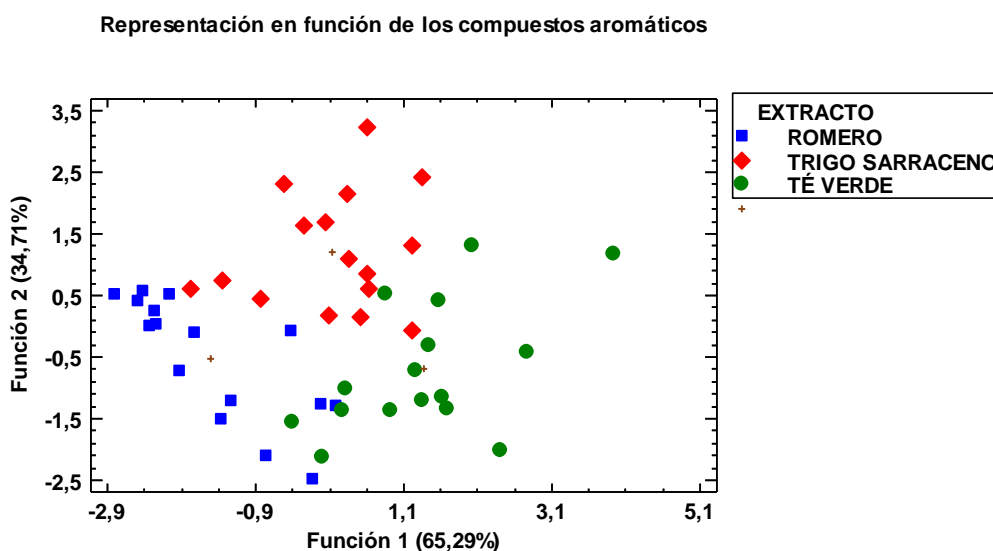


Gráfico 6.43. Representación de los vinos tratados en campo con extracto de romero, de trigo sarraceno y de té verde, en el espacio definido por la primera y segunda función discriminante, en función de su composición aromática.

En el gráfico 6.44 y tabla 6.57 se representa el Análisis Discriminante de los vinos tratados con los tres extractos, considerando su composición aromática y polifenólica.

Podemos ver una representación similar a la observada para los compuestos polifenólicos, en la que los vinos de cada extracto aparecen correctamente diferenciados y muy separados en el espacio definido por las dos funciones discriminantes. Además de los compuestos polifenólicos anteriormente mencionados en la tabla 6.56, vemos que muchos compuestos aromáticos tienen importante peso en la diferenciación, como el acetato de isoamilo, el acetato y lactato de etilo, el 1,2-propilenglicol, el dietilsuccinato y la γ -octolactona, en la primera función discriminante, y el α -pineno, acetato de isoamilo, 1,2-propilenglicol, decanoato de etilo, dietilsuccinato y la γ -octolactona, en la segunda.

Los vinos tratados con extracto de romero, además de mayor intensidad colorante, mayor porcentaje de antocianos polimerizados y mayor concentración de taninos condensados, tienen una cantidad muy superior de acetato de isoamilo y de γ -octolactona. Los tratados con extracto de té verde presentan mayor porcentaje de antocianos copigmentados, mayor concentración de malvidina, petunidina, isovalerato de etilo, lactato de etilo y eugenol, y menor de dietilsuccinato. Los vinos tratados con extracto de trigo sarraceno, en cambio, presentan menor concentración de malvidina, peonidina, cianidina, delfinidina, hexanoato de etilo y decanoato de etilo.

Con respecto a la calidad de los vinos, el efecto del extracto de romero resulta muy interesante ya que contribuye a incrementar la cantidad y estabilidad de la materia colorante, así como la estructura definida por los taninos condensados, y presenta mayor cantidad de algunos compuestos aromáticos favorables para la calidad. El extracto de té verde también muestra un buen comportamiento polifenólico, ya que, aunque no proporciona vinos con más color a los 12 meses, la presencia de una mayor cantidad de antocianos hace previsible la buena evolución del color, presentando también una concentración aromática acorde con la calidad, ya que, aunque el lactato de etilo en altas concentraciones puede enmascarar otros aromas, en estos vinos su concentración no es excesiva y por tanto favorable para la calidad. De los tres extractos, el de trigo sarraceno es en menos favorable para la calidad de los vinos, ya que muchos compuestos interesantes están en menor concentración en estos vinos; coincidiendo este resultado con el observado con la rutina, copigmento más abundante en el extracto de trigo sarraceno.

Representación en función de los compuestos polifenólicos y aromáticos

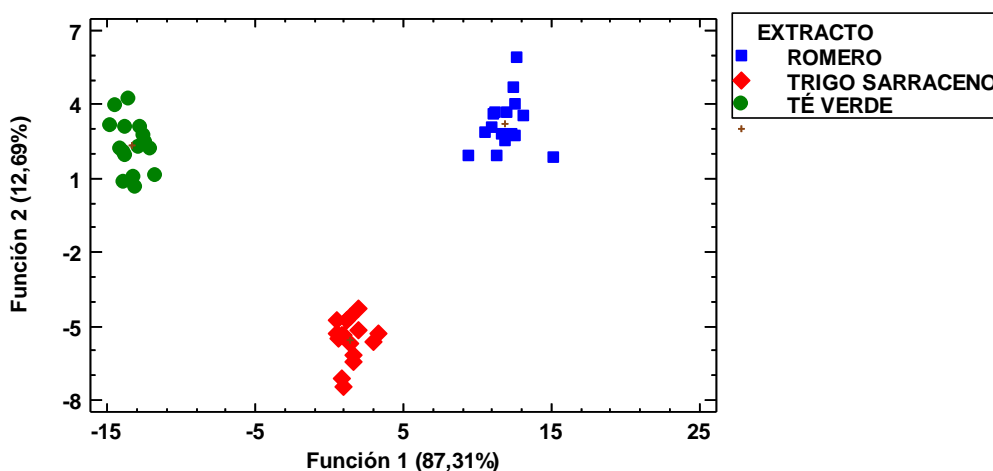


Gráfico 6.44. Representación de los vinos tratados en campo con extracto de romero, de trigo sarraceno y de té verde, en el espacio definido por la primera y segunda función discriminante, en función de su composición polifenólica y aromática.

Tabla 6.57. Coeficientes estandarizados de las 2 funciones discriminantes que permiten diferenciar los vinos tratados en campo con extracto de romero, de trigo sarraceno y de té verde, considerando los compuestos polifenólicos y aromáticos.

Compuestos polifenólicos y aromáticos	Coeficientes estandarizados de las Funciones Discriminantes	
	1	2
Intensidad Colorante	6,17244	-0,144249
Tono o matiz	0,264214	-2,64978
% Antocianos copigmentados	-4,56045	-0,464884
% Antocianos libres	-0,89542	1,6838
% Antocianos polimerizados	-3,97894	4,41981
Antocianos totales	0,8218542	0,284271
Taninos condensados	1,120116	0,0763313
Polifenoles totales	0,799465	-1,64769
Índice de Fólin	-0,0493969	0,253097
Índice de DMACH	0,0888784	-1,06527
Índice de Gelatina	-0,799848	-1,59572
Malvidina	2,883829	2,52089
Peonidina	-2,09301	0,951278
Petunidina	-4,58014	-1,81567
Cianidina	3,93465	-7,96734
Delfinidina	1,58323	5,5248
α -pineno	0,277033	-4,38823
Isovalerato de etilo	1,6159	6,12267
β -pineno	0,755423	0,884668
Acetato de isoamilo	-2,572558	-3,56774
Hexanoato de etilo	-2,06457	-0,119892
n-amyl alcohol	0,156697	-0,73429
Acetato de hexilo	2,60994	-2,33395
Lactato de etilo	-1,997289	-1,83262
Cis-3-hexenol	0,60171	0,46673
Octanoato de etilo	-0,69157	-0,51297
1,2 propilenglicol	-3,14016	3,29721
Etil-3-hidroxibutirato	-1,0288	0,38845
Linalol	1,78076	-1,51322
Decanoato de etilo	-1,01018	5,48027
Dietilsuccinato	3,57604	-7,95756
2- fenilacetato	0,67797	0,47283
2-metoxifenol	-0,63674	1,05494
γ -octolactona	2,59231	-3,01674
2 feniletanol	-0,210149	1,9173
Eugenol	-0,722423	-1,68562
Ácido decanoico	-0,482482	0,80955
Vainillina	0,907631	0,588243

6.1.4.2. ESTUDIO CONJUNTO DEL EFECTO DE LAS TÉCNICAS DE VINIFICACIÓN

Tal como se ha mostrado en los apartados anteriores, al cabo de 12 meses de conservación se han encontrado diferencias en los vinos en función de que los vinos procedentes de uvas con copigmentos, hayan sido elaborados con vinificación tradicional o con maceración prefermentativa seguida de vinificación tradicional.

En los ANOVA realizados anteriormente (tablas 6.10, 6.12, 6.27, 6.28, 6.44 y 6.45) se mostró que la maceración prefermentativa realizada en los vinos suplementados con extracto de romero y ácido cafeico incrementó la concentración de polifenoles y taninos condensados, la concentración de acetato de isoamilo, acetato de hexilo, cis-3-hexenol, octanoato y decanoato de etilo. En los vinos procedentes de tratamientos con trigo sarraceno y rutina la maceración prefermentativa incrementó ligeramente la concentración de taninos condensados y polifenoles totales, de acetato de hexilo, octanoato de etilo, 3-hidroxi-butirato de etilo y dietilsuccinato. En los vinos procedentes de tratamientos con té verde y catequina, la maceración prefermentativa dio lugar a vinos con mayor color y menor tono a los 12 meses de conservación, así como de taninos y polifenoles totales, y de los ésteres acetato de isoamilo, hexanoato de etilo, acetato de hexilo, octanoato de etilo, 3 hidroxi-butirato de etilo, decanoato de etilo y dietilsuccinato, así como de la γ -octolactona.

Estos resultados nos indican que la vinificación con maceración prefermentativa fue más favorable para la calidad en los vinos procedentes de uvas tratadas con extractos y copigmentos, pero para confirmar esta observación, se va a aplicar el Análisis Discriminante conjuntamente a todos los vinos macerados prefermentativamente y a los elaborados con vinificación tradicional, enfrentándolos a los vinos testigo que no proceden de uvas tratadas con copigmentos.

El Análisis Discriminante recogido en el gráfico 6.45 fue realizado con los compuestos polifenólicos de los vinos testigos, los tratados con copigmentos considerando conjuntamente todos los vinos elaborados con maceración prefermentativa, y los vinos elaborados por vinificación tradicional. Tal como podemos observar, es imposible diferenciar adecuadamente estos vinos en función de la técnica de vinificación empleada, siendo los testigos los únicos que parecen más homogéneos, pudiendo clasificar en su correspondiente grupo solo el 65,63% de los vinos.

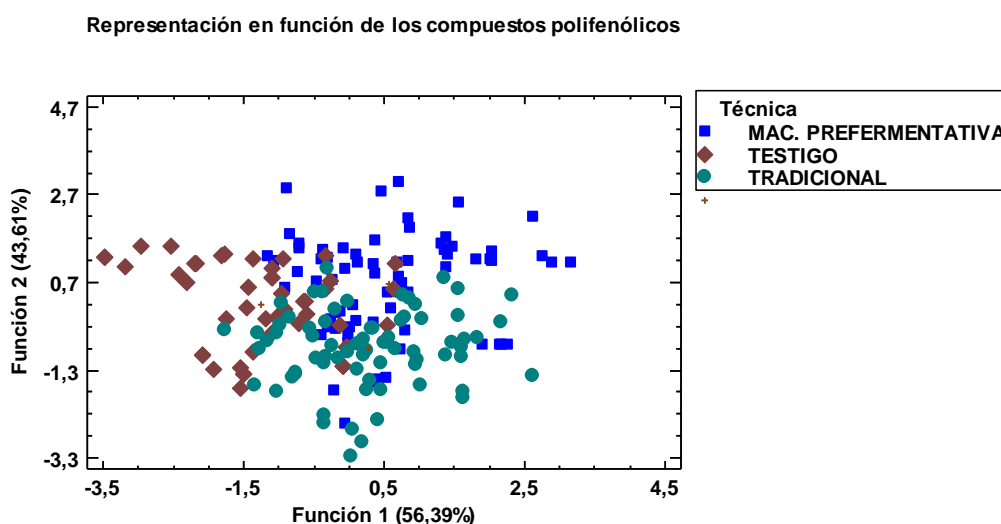


Gráfico 6.45. Representación de los vinos testigo y los elaborados con vinificación tradicional y maceración prefermentativa, en el espacio definido por la primera y segunda función discriminante, en función de su composición polifenólica.

El Análisis Discriminante recogido en el gráfico 6.46 fue realizado con los compuestos aromáticos, diferenciándose con la primera función discriminante el 91,22 %

de los vinos elaborados por vinificación tradicional y con la segunda el 100 % de los vinos testigos.

En la tabla 6.58, podemos observar que la primera función discriminante, que separa los vinos de vinificación tradicional, está bastante correlacionada con muchos de los compuestos aromáticos analizados, y especialmente con el linalol y octanoato de etilo, mientras que la segunda función, que separa los vinos testigo de los procedentes de tratamientos de copigmentación elaborados con maceración tradicional y maceración prefermentativa, está ligada principalmente al acetato de hexilo y linalol.

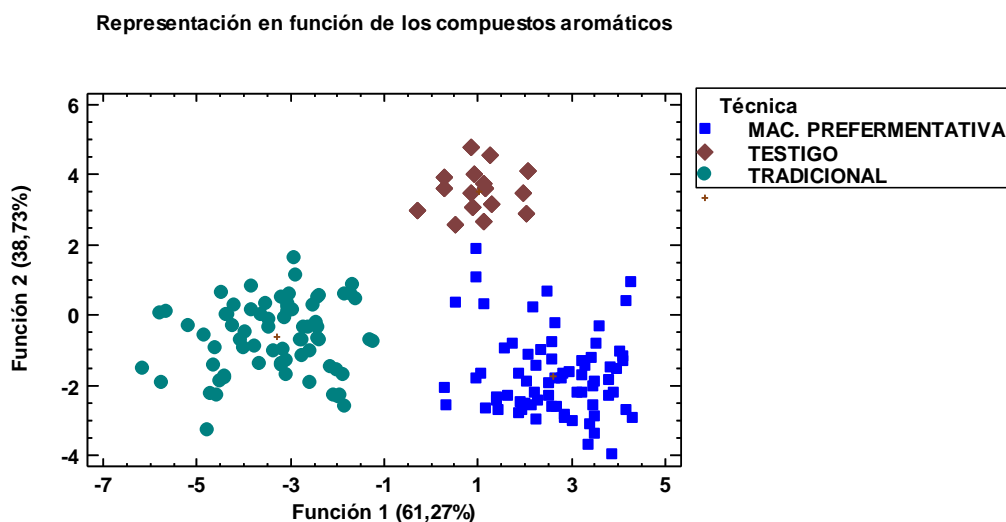


Gráfico 6.46. Representación de los vinos testigo y los elaborados con vinificación tradicional y maceración prefermentativa, en el espacio definido por la primera y segunda función discriminante, en función de su composición aromática.

Tabla 6.58. Coeficientes estandarizados de las 2 funciones discriminantes que permiten diferenciar los vinos testigo de los elaborados con vinificación tradicional y maceración prefermentativa, considerando los compuestos aromáticos.

Compuestos aromáticos	Coeficientes estandarizados de las Funciones Discriminantes	
	1	2
α -pineno	0,083592	0,055621
Isovalerato de etilo	-0,0441709	0,325875
β -pineno	-0,166276	-0,08754
Acetato de isoamilo	-0,102103	0,540821
Hexanoato de etilo	0,345669	0,023259
n-amyl alcohol	0,112541	0,341164
Acetato de hexilo	0,1995943	-0,770854
Lactato de etilo	-0,298661	-0,177525
Cis-3-hexenol	0,162365	-0,578531
Octanoato de etilo	0,60973	-0,381625
1,2 propilenglicol	-0,105812	0,032560
Etil-3-hidroxibutirato	-0,147173	0,587783
Linalol	0,95954	0,612805
Decanoato de etilo	0,13487	0,058184
Dietilsuccinato	0,071011	-0,652921
2- fenilacetato	-0,307441	-0,311896
2-metoxifenol	0,50531	0,369623

Tabla 6.58 (Continuación). Coeficientes estandarizados de las 2 funciones discriminantes que permiten diferenciar los vinos testigo de los elaborados con vinificación tradicional y maceración prefermentativa, considerando los compuestos aromáticos.

Compuestos aromáticos	Coeficientes estandarizados de las Funciones Discriminantes	
	1	2
γ -octolactona	0,25589	-0,404565
2 feniletanol	-0,205412	-0,130392
Eugenol	-0,20434	0,099432
Ácido decanoico	-0,367526	-0,111209
Vainillina	0,229548	-0,327546

El Análisis Discriminante recogido en el gráfico 6.47 y en la tabla 6.59, se realiza con los compuestos polifenólicos y aromáticos de los vinos, y mediante estos compuestos podemos clasificar correctamente el 100 % de los vinos en su respectivo grupo. La primera función discriminante separa los vinos de maceración de los de vinificación tradicional, está correlacionada principalmente con el octanoato de etilo, decanoato de etilo, acetato de isoamilo, taninos condensados, polifenoles totales y delfinidina, mientras que la segunda función discriminante, que separa los vinos testigo, está correlacionada principalmente con los antocianos libres y polimerizados, acetato de hexilo y etil-3-hidroxibutirato.

Los vinos tratados con copigmentos y elaborados con maceración prefermentativa tienen mayor concentración de taninos condensados, acetato de isoamilo, polifenoles totales, delfinidina, octanoato de etilo, decanoato de etilo y 2-fenilacetato, compuestos muy favorables para la calidad de los vinos, mientras que los elaborados con vinificación tradicional solo presentan mayor concentración de n-amyl alcohol y 2-feniletanol. Por tanto, los tratamientos de copigmentación y la vinificación con maceración prefermentativa, dan lugar a vinos de Monastrell de mayor calidad polifenólica y aromática.

Representación en función de los compuestos polifenólicos y aromáticos

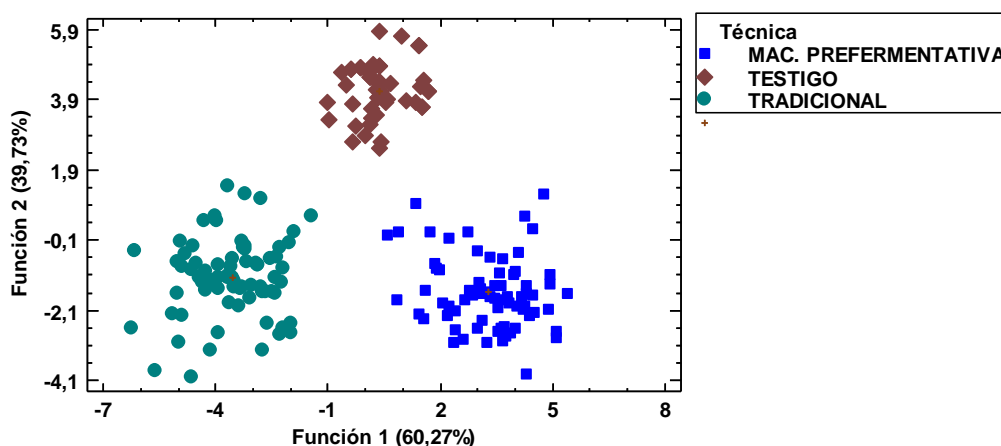


Gráfico 6.47. Representación de los vinos testigo y los elaborados con vinificación tradicional y maceración prefermentativa, en el espacio definido por la primera y segunda función discriminante, en función de su composición polifenólica y aromática.

Tabla 6.59. Coeficientes estandarizados de las 2 funciones discriminantes que permiten diferenciar los vinos testigo de los elaborados con vinificación tradicional y maceración prefermentativa, considerando los compuestos polifenólicos y aromáticos.

Compuestos polifenólicos y aromáticos	Coeficientes estandarizados de las Funciones Discriminantes	
	1	2
Intensidad Colorante	-0,127352	0,23932
Tono o matiz	0,100343	-0,18548
% Antocianos copigmentados	0,0956329	-0,129819
% Antocianos libres	-0,156034	0,885913
% Antocianos polimerizados	-0,0625371	0,696351
Antocianos totales	0,428795	-0,432344
Taninos condensados	-0,60149	0,404869
Polifenoles totales	0,603414	-0,0568882
Índice de Fólin	0,00166178	-0,241915
Índice de DMACH	-0,0683823	0,0169498
Índice de Gelatina	-0,104566	0,194009
Malvidina	0,093554	0,0867018
Peonidina	-0,59836	0,54702
Petunidina	0,85713	-0,404673
Cianidina	0,537007	0,0668746
Delfinidina	-0,802897	-0,264274
α -pineno	0,0630192	0,0885424
Isovalerato de etilo	-0,0454709	0,332587
β -pineno	-0,0707276	-0,0979137
Acetato de isoamilo	-0,7102103	0,440862
Hexanoato de etilo	0,361769	0,123255
n-amyl alcohol	0,150567	0,141123
Acetato de hexilo	0,299534	-0,808508
Lactato de etilo	-0,286366	-0,177027
Cis-3-hexenol	0,161366	-0,598535
Octanoato de etilo	1,436053	-0,316257
1,2 propilenglicol	-0,305885	0,325609
Etil-3-hidroxi butirato	-0,247189	0,835433
Linalol	0,881536	0,540003
Decanoato de etilo	0,834347	0,078182
Dietilsuccinato	0,101157	-0,692948
2- fenilacetato	-0,607435	-0,211832
2-metoxifenol	0,570391	0,409629
γ -octolactona	0,45569	-0,464518
2 feniletanol	-0,105481	-0,149336
Eugenol	-0,20434	0,0621622
Ácido decanoico	-0,35261	-0,0506109
Vainillina	0,227259	-0,258663

6.1.4.3. ESTUDIO CONJUNTO DEL EFECTO DE LA APLICACIÓN DE ACETALDEHÍDO

Tal como se ha mostrado anteriormente, al cabo de 12 meses de conservación, los vinos procedentes de uvas con copigmentos y tratados con acetaldehído han presentado diferencias con respecto a los no tratados.

En los ANOVA realizados anteriormente (tablas 6.15, 6.17, 6.31, 6.33, 6.48 y 6.50), mostró que el tratamiento con acetaldehído en los vinos suplementados con extracto de romero y ácido cafeico, así como en los vinos suplementados con extracto de

trigo sarraceno y rutina y en los tratados con extracto de té verde y catequina, da lugar a vinos con mayor porcentaje de antocianos polimerizados, de antocianos totales, de malvidina y antocianos pormenorizados, de los polifenoles totales, de los taninos condensados y de su grado de polimerización y astringencia. En cambio, no se observaron diferencias significativas en los compuestos aromáticos de estos vinos por el hecho de haber sido tratados con adición de acetaldehído.

A pesar de estas claras diferencias a favor de los vinos tratados con acetaldehído, cuando se aplica el Análisis Discriminante a los compuestos polifenólicos, considerando conjuntamente todos los vinos, no es posible diferenciar los tratados con acetaldehído de los no tratados (gráfico 6.48), ya que solo se clasifican en su correspondiente grupo, el 72,40 % de los vinos.

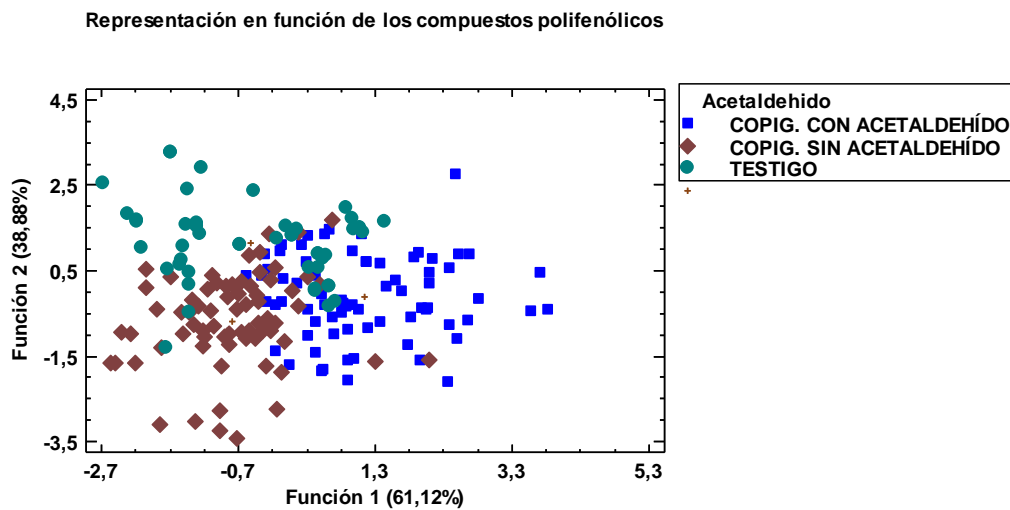


Gráfico 6.48. Representación de los vinos testigo y los copigmentados conservados con y sin acetaldehído, en el espacio definido por la primera y segunda función discriminante, en función de su composición polifenólica.

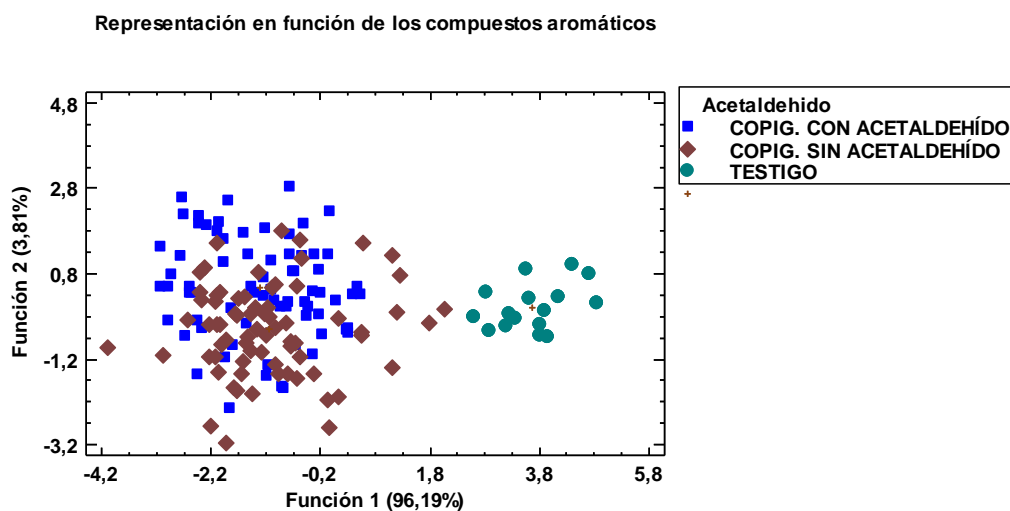


Gráfico 6.49. Representación de los vinos testigo, y los copigmentados conservados con y sin acetaldehído, en función de su composición aromática.

Si realizamos el Análisis Discriminante con los compuestos aromáticos de estos vinos, considerando conjuntamente todos los vinos testigo, copigmentados adicionados de acetaldehído, y copigmentados sin acetaldehído, solo es posible mediante la primera función discriminante diferenciar a los vinos testigo (gráfico 6.49), ya que aparecen mezclados los conservados con y sin acetaldehído.

Si realizamos el Análisis Discriminante con los compuestos polifenólicos y aromáticos, conseguimos clasificar correctamente el 92,67 % de los vinos. En el gráfico 6.50 podemos apreciar que la primera función discriminante separa correctamente los vinos testigo, y la segunda diferencia parte de los vinos procedentes de tratamientos de copigmentación tratados con acetaldehído, de los no tratados con acetaldehído. La tabla 6.60 muestra que los vinos testigo se separan de los copigmentados debido principalmente al peso de porcentaje de antocianos libres, del acetato de hexilo, del etil-3-hidroxibutirato y del linalol, tal como muestra la primera función discriminante. Los vinos tratados con acetaldehído se diferencian de los no tratados por el porcentaje de antocianos polimerizados, por la concentración de polifenoles totales, taninos condensados, malvidina y delfinidina, por el grado de polimerización de los taninos, y por la concentración de dietilsuccinato, tal como muestran los coeficientes estandarizados de la segunda función discriminante.

Con respecto a la calidad de estos vinos, los vinos procedentes de tratamientos de copigmentación tratados con acetaldehído durante su conservación, son los que presentan la mayor concentración polifenólica, tanto de antocianos como de taninos condensados y polifenoles totales, así como los que tienen más polimerizados sus antocianos y taninos, lo que va a ocasionar una mayor estabilidad del color y una mayor suavidad de los taninos. Por tanto, la combinación de los tratamientos de copigmentación con la técnica de microoxigenación por adición de acetaldehído, son de gran utilidad para incrementar la calidad de los vinos de Monastrell.

Representación en función de los compuestos polifenólicos y aromáticos

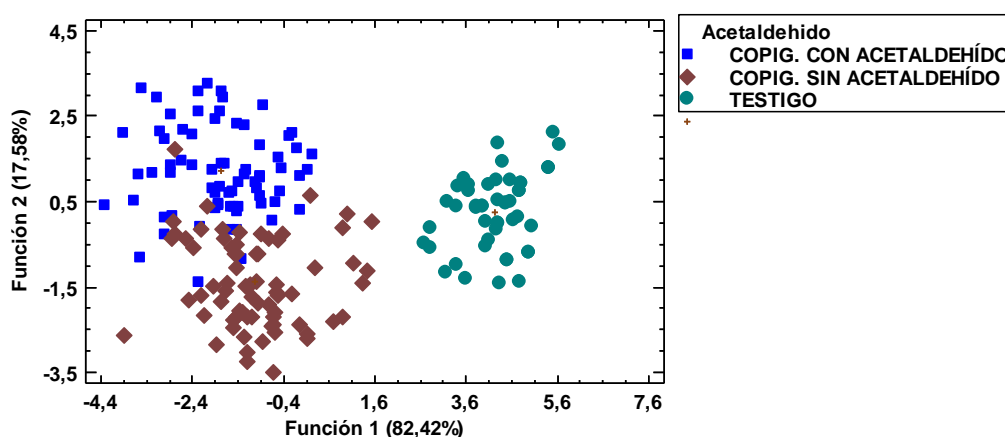


Gráfico 6.50. Representación de los vinos testigo, y los copigmentados conservados con y sin acetaldehído, en función de su composición polifenólica y aromática.

Tabla 6.60. Coeficientes estandarizados de las 2 funciones discriminantes que permiten diferenciar los vinos testigo, y los copigmentados conservados con y sin acetaldehído, considerando los compuestos polifenólicos y aromáticos.

Compuestos polifenólicos y aromáticos	Coeficientes estandarizados de las Funciones Discriminantes	
	1	2
Intensidad Colorante	0,264187	-0,144385
Tono o matiz	-0,124136	-0,310649
% Antocianos copigmentados	-0,123442	-0,0134685
% Antocianos libres	0,707047	0,974673
% Antocianos polimerizados	0,496357	1,05809
Antocianos totales	-0,357489	-0,901502
Taninos condensados	0,291367	0,832897
Polifenoles totales	0,105961	-0,72379
Índice de Fólin	-0,284179	0,324717
Índice de DMACH	-0,139825	0,793947
Índice de Gelatina	0,147421	0,216491
Malvidina	0,0306175	0,819654
Peonidina	0,423184	0,389575
Petunidina	-0,288805	-0,275189
Cianidina	0,171929	-0,386102
Delfinidina	-0,433511	0,698458
α -pineno	0,0682419	0,139851
Isovalerato de etilo	0,360208	-0,128913
β -pineno	-0,107109	0,072679
Acetato de isoamilo	0,468276	0,101822
Hexanoato de etilo	0,108674	0,278251
n-amyl alcohol	0,13187	0,134685
Acetato de hexilo	-0,971605	0,383252
Lactato de etilo	-0,210707	0,00952343
Cis-3-hexenol	-0,785589	0,414937
Octanoato de etilo	-0,398651	-0,125161
1,2 propilenglicol	0,319991	-0,0430217
Etil-3-hidroxibutirato	0,897829	0,0937039
Linalol	0,767822	0,172742
Decanoato de etilo	0,212703	-0,573145
Dietilsuccinato	-0,618796	-0,716551
2- fenilacetato	-0,220545	-0,206524
2-metoxifenol	0,490757	0,0105161
γ -octolactona	-0,455484	0,0557225
2 feniletanol	-0,0778222	-0,537848
Eugenol	0,0868417	-0,189524
Ácido decanoico	-0,0732329	-0,0717462
Vainillina	-0,248072	-0,18456

CONCLUSIONES

7. CONCLUSIONES

Las conclusiones más relevantes tras el desarrollo de esta Tesis Doctoral se indican a continuación:

7.1. EFECTO DE LAS TÉCNICAS ENSAYADAS SOBRE LOS COMPUESTOS POLIFENÓLICOS

1. La aplicación de copigmentos dio lugar a vinos con mayor concentración de malvidina y otros antocianos pormenorizados, y de antocianos totales, en comparación con los vinos testigo. El extracto de romero y el ácido cafeico incrementaron la Intensidad Colorante y el porcentaje de antocianos polimerizados, mientras que el extracto de té verde y catequina incrementaron el porcentaje de antocianos copigmentados, circunstancias que van a contribuir a la mayor estabilidad de estos antocianos. La aplicación de copigmentos puros en campo y en bodega incrementó la concentración de antocianos con relación a los vinos testigos, pero no aportó ninguna ventaja con relación a la aplicación de extractos vegetales. El Análisis Discriminante realizado con los compuestos polifenólicos permite separar perfectamente los vinos testigo, los tratados con extractos vegetales, y los tratados con copigmentos puros; en cambio, resulta más complicado diferenciar los vinos procedentes de adición de copigmentos puros en viñedo y en bodega.

2. Los vinos procedentes de la aplicación de extractos vegetales en el viñedo son los que presentaron mayor concentración de antocianos totales y pormenorizados, con relación a los testigos y a los procedentes de aplicación de copigmentos puros. Los vinos procedentes del tratamiento con extracto de romero presentaron también la mayor Intensidad Colorante con relación a los testigos y a los copigmentados con ácido cafeico. Aplicando el Análisis Discriminante a los compuestos polifenólicos de los vinos tratados con extracto de romero, trigo sarraceno y té verde, conseguimos una perfecta diferenciación de estos vinos.

3. Los vinos procedentes de las uvas tratadas con copigmentos elaborados con maceración prefermentativa seguida de vinificación tradicional, presentaron mayor concentración de polifenoles totales y taninos condensados, en relación a los copigmentados elaborados exclusivamente con vinificación tradicional, no afectando esta técnica ni al color ni al estado y concentración de los antocianos. Mediante Análisis Discriminante aplicado a los compuestos polifenólicos es posible separar completamente los vinos testigo de los copigmentados, consiguiéndose un alto porcentaje de diferenciación entre los vinos copigmentados elaborados con vinificación tradicional y los elaborados con maceración prefermentativa.

4. La simulación del proceso de microoxigenación mediante la aplicación de acetaldehído durante la conservación de los vinos procedentes de uvas tratadas con copigmentos dio lugar a un incremento del porcentaje de antocianos polimerizados, de la concentración de los antocianos pormenorizados y totales, de los taninos condensados y de los polifenoles totales. El Análisis Discriminante aplicado a los compuestos polifenólicos permite diferenciar perfectamente los vinos tratados con acetaldehído, de los no tratados, y de los testigos.

7.2. EFECTO DE LAS TÉCNICAS ENSAYADAS SOBRE LOS COMPUESTOS AROMÁTICOS

1. La aplicación de copigmentos dio lugar a vinos con mayor concentración de dietilsuccinato, 2-fenilacetato y vainillina, en comparación con los vinos testigo; los tratamientos de copigmentación con extracto de romero y ácido cafeico incrementaron también la concentración de acetato de hexilo y γ -octolactona, los tratados con trigo sarraceno y rutina la de octanoato de etilo y los tratados con té verde y catequina, la de octanoato de etilo y eugenol, compuestos todos ellos favorables para la calidad organoléptica de los vinos. Los vinos testigo mostraron mayor concentración de acetato de isoamilo, 1,2-propilenglicol y etil-3-hidroxibutirato, aromas menos favorables para los vinos de Monastrell. El comportamiento de los vinos tratados con ácido cafeico, rutina y catequina es poco homogéneo, pero se ha podido comprobar que la aplicación de estos copigmentos en campo incrementa más la concentración aromática de los vinos, que su aplicación en bodega. Estas diferencias hicieron posible diferenciar mediante Análisis Discriminante los vinos testigo de los procedentes de tratamientos de copigmentación, tanto con extractos vegetales, como con copigmentos puros aplicados en campo y en bodega.

2. Los vinos procedentes de tratamientos con extractos vegetales en el viñedo contienen mayor concentración de dietilsuccinato, linalol y vainillina que es resto de los vinos. Además, los vinos procedentes de los distintos extractos mantienen diferencias en su composición aromática con relación a algunos de sus componentes; así, los que proceden de tratamiento con extracto de romero presentan mayor concentración de β -pineno, los de trigo sarraceno de 2-metoxifenol, y los de té verde de linalol y eugenol. El Análisis Discriminante aplicado a los compuestos aromáticos, nos ha permitido diferenciar los vinos tratados con extractos del resto de los vinos, así como los vinos de los diferentes extractos.

3. Después de 12 meses de conservación, en los vinos procedentes de los distintos tratamientos de copigmentación, la vinificación con maceración prefermentativa incrementó la concentración de ésteres y acetatos, mostrando mayor concentración de acetato de isoamilo, acetato de hexilo, octanoato de etilo, decanoato de etilo y dietilsuccinato, en relación con los elaborados con vinificación tradicional. Estas importantes diferencias permiten diferenciar perfectamente mediante Análisis Discriminante los vinos elaborados con maceración prefermentativa seguida de vinificación tradicional, con los elaborados con vinificación tradicional.

4. La aplicación de acetaldehído en los vinos procedentes de uvas suplementadas con copigmentos no afectó a la composición aromática de estos vinos. Con el Análisis Discriminante aplicado a los compuestos aromáticos es posible diferenciar perfectamente los vinos testigo de los copigmentados, independientemente de que hayan sido o no tratados con acetaldehído, pero no es posible diferenciar los vinos procedentes de tratamientos de copigmentación tratados con acetaldehído, de los no tratados; en cambio, si es posible esta diferenciación cuando el análisis se realiza conjuntamente con los compuestos polifenólicos y aromáticos.

7.3. EFECTO CONJUNTO DE LAS TÉCNICAS ENSAYADAS

Por todo ello, se puede concluir diciendo:

1. Que los tratamientos con copigmentos dieron lugar a vinos con mayor cantidad de antocianos polimerizados y totales, y con mayor concentración de compuestos

aromáticos favorables para la calidad. De estos copigmentos, son los aplicados en bodega los que tienen menor efecto, y los extractos vegetales los que propician un mayor contenido en antocianos más estables y en compuestos aromáticos positivos, y de ellos el extracto de romero destaca por su acción directa sobre el color de los vinos de Monastrell.

2. Elaborar los vinos tratados previamente con copigmentos, con maceración prefermentativa seguida de vinificación tradicional, ha permitido incrementar la concentración de polifenoles totales y taninos condensados, así como la de ésteres y acetatos.

3. La microoxigenación mediante aplicación de acetaldehído durante la conservación de los vinos tratados previamente con copigmentos dio lugar a un incremento del porcentaje de antocianos polimerizados, de la concentración de antocianos, de taninos condensados y de polifenoles totales, no afectando a la composición aromática de los vinos.

4. La combinación de tratamientos de copigmentación en campo, especialmente con extractos vegetales, de maceración prefermentativa durante la elaboración y de microoxigenación durante la conservación, permite elaborar vinos de Monastrell con un color más estable, mayor concentración de compuestos polifenólicos, y mayor concentración de ésteres y acetatos, compuestos relacionados con aromas positivos florales, frutales y especiados.

BIBLIOGRAFÍA

8. BIBLIOGRAFÍA

- Alarcón, R. (2016). *Caracterización Aromática de Vinos de Fondillón de la D.O. Alicante*. Valencia: Trabajo Final de Grado en Ingeniería y del Medio Rural. Universidad Politécnica de Valencia.
- Alcalde-Eon, C., Boido, E., Carrau, F., Dellacassa, E., & Rivas-Gonzalo, J. (2006). Pigment Profiles in Monovarietal Wines Produced in Uruguay.
- Aleixandre-Tudó, J. (2012). Efecto de la Adición de Copigmentos sobre la Composición Fenólica de Vinos Tintos de Tempranillo Elaborados con Diferentes Técnicas de Vinificación. Valencia: Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Valencia.
- Aleixandre-Tudó, J., Álvarez, I., & Lizama, V. (2009). Efecto de la Adición de Acetaldehído en la Composición Polifenólica de los Vinos de Tempranillo Procedentes de Distintos Métodos de Elaboración. Trabajo Final de Master. UPV.
- Aleixandre-Tudó, J., Álvarez, I., Lizama, V., García, M., Aleixandre, J., & Du Toit, W. (2013). Impact of Caffeic Acid Addition on Phenolic Composition of Tempranillo Wines from Different Winemaking Techniques. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61, 11900-11912.
- Aleixandre-Tudó, J., Álvarez, I., Lizama, V., Nieuwoudt, H., García, M., Aleixandre, J., & Du Toit, W. (2016). Modelling Phenolic and Volatile Composition to Characterize the Effects of Prefermentative Cold Soaking in Tempranillo Wines. *LWT-Food Science and Technology*, 66, 193-200.
- Alvarez, I., Aleixandre, J., García, M., & Lizama, V. (2006). Impact of Prefermentative Maceration on the Phenolic and Volatile Compounds in the Monastrell Red Wines. *Analytica Chimica Acta*, 563, 109-116.
- Alvarez, I., Aleixandre, J., García, M., Lizama, V., & Aleixandre-Tudó, J. (2009). Effect of the Prefermentative Addition of Copigments on the Polyphenolic Composition of Tempranillo Wines After Malolatic Fermentation. *European Food Research and Technology*, 228: 501-510.
- Álvarez, I., Anaya, J., Lizama, V., García, M., Aleixandre, J., & Aleixandre-Tudo, J. (2015). Aplicación de Extracto de Té Verde para Incrementar la Concentración Polifenólica de los Vinos de Tempranillo de Utiel-Requena. *Innovación Vitivinícola*, ISSN. 978-84-8424-378-6, 463-466.
- Alvarez, I., García, M., Martín, P., & Gonzalez, R. (2005). Utilización de la Criomaceración para mejorar la Extracción de Compuestos Polifenólicos en Uvas de Tempranillo Procedentes de Cultivo con Altos Niveles de Fertilización. *Jornadas Técnicas de los grupos de investigación enológica españoles. GIENOL*.
- Alvarez, I., García, M., Martín, P., Gonzalez, R., & Rodriguez, 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*.
- Arnold, R., & Noble, A. (1979). Effects of Pomace Contact on Flavor of Chardonnay Wine. *American Journal of Enology and Viticulture*, 30, 179-181.

- Asen, S., Stewart, R., & Norris, K. (1972). Copigmentation of Anthocyanins in Plant Tissues and its Effect on Color. *Phytochemistry*, 11, 1139-1145.
- Atanasova, V., Fulcrand, H., Cheynier, V., & Moutounet, M. (2002). Effect of Oxigenation on Polyphenol Changes Occuring in the Course of Winemaking. *Analytica Chimica Acta*, 458, 15-27.
- Bakker, J., & Timberlake, C. (1997). Isolation, Identification and Characterization of New Color-stable Anthocyanins Occurring in some Red Wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 35-43.
- Bakker, J., Bridle, P., Bellworthy, S., García-Viguera, C., Reader, H., & Watkins, S. (1998). Effect of Sulphur Dioxide and Must Extraction on Colour, Phenolic Composition and Sensory Quality of Red Table Wine. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 78, 297-307.
- Baranac, J., Petronovic, N., & Dimitric-Markovic, J. (1997). Spectrophotometric Study of Anthocyan Copigmentation Reactions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 1698-1700.
- Bayonove, C. (2003). El Aroma Varietal: El Potencial Aromático de la Uva. En *Enología: Fundamentos Científicos y Tecnológicos* (págs. 137-146). Madrid: Mundi-Prensa.
- Belda, A. (2017). *Estudio Filo-funcional de Levaduras de Interés Enológico para su Aplicación Industrial*. Madrid: Tesis Doctoral en Ciencias Biológicas. Universidad Politécnica de Madrid.
- Bimpilas, A., Panagopoulou, M., Tsimogiannis, D., & Oreopoulou, V. (2016). Anthocyanin Copigmentation and Color of Wine: The Effect of Naturally obtained Hydroxycinnamic Acids as Cofactors. *Food Chemistry*, 197, 39-46.
- Bishop, P., & Nagel, C. (1984). Characterization of the condensation Product of Malvidin 3,5-diglucoside and Catechin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 32, 1022-1026.
- Bloomfield, D., Heatherbell, D., & Pour Nikfardjam, M. (2003). Effect of p-coumaric Acid on the Color in Red Wine. *Mitteilungen Klosterneuburg*, 53, 195-198.
- Blouin, J. (1992). Techniques D´analyse des Moûtes et des Vins. (págs. 199-201). Paris (France): Dujardin-Salleron.
- Blouin, J., & Guimberteau, G. (2004). *Maduración y Madurez de la Uva*. Madrid: Mundi-Prensa.
- Boido, E., Alcalde-Eon, C., Carrau, F., Dellacasa, E., & Rivas Gonzalo, J. (2006). Aging Effect on the Pigment Composition and Color of Vitis Vinifera L. Cv. Tannat Wines. *Journal and Agricultural and Food Chemistry*, 54, 6692-6704.
- Botten, D., Fugallo, G., Fraternali, F., & Molteni, C. (2015). Structural Properties of Green Tea Catechins. *The Journal of Physical Chemistry*, 119, 12860-12867.
- Boulton, R. (2000). *The Variation in Skin Composition and Wine Colour for Six Vineyard Sites*. Third International Burgundy-California-Oregon Colloquium.
- Boulton, R. (2001). The Copigmentation of Anthocyanins and Its Role in the Color of Red Wine. *American Journal of Enology and Viticulture*, 52, 67-87.

- Boutaric, A., Ferré, L., & Roy, M. (1937). Recherches Spectrophotométriques sur la Dilution et le Mélange des Vins. *Compt. rend.*, 204, 343-344.
- Brenes, C., Del Pozo-Insfran, D., & Talcott, S. (2005). Stability of Copigmented Anthocyanins and Ascorbic Acid in a Grape Juice Model System. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 49-56.
- Brouillard, R. (1982). Chemical Structure of Anthocyanidins. En *Food Science and Technology* (págs. 1-40). New York: Academic Press, Inc.
- Brouillard, R., & Dangles, O. (1994). Anthocyanin Molecular Interactions: The First Step in the Formation of New Pigments During Wine Aging. *Food Chemistry*, 51, 365-371.
- Brouillard, R., Chassaing, A., & Fourgerousse, A. (2003). Why are Grape/Fresh Wine Anthocyanins so Simple and why is it that Red Color Wine last so Long? *Phytochemistry*, 64, 1179-1186.
- Brouillard, R., Wigand, M., Dangles, O., & Cheminat, A. (1991). PH and Solvent Effects on the Copigmentation Reaction of Malvin with Polyphenols, Purine and Pyrimidine-Derivatives. *Journal of the Chemical Society*, 2, 1235-1241.
- Budíc-Leto, I., Lovric, T., & Vrhovsek, U. (2003). Influence of Different Maceration Techniques and Ageing on Proanthocyanidins and Anthocyanins of Red Wine CV. Babic (*Vitis Vinifera*, L.). *Food Technology and Biotechnology*, 41, 299-303.
- Bulgari, R., Cocetta, G., Trivellini, A., & Vernieri, P. (2015). Biostimulants and Crop Responses: A review. *Biological Agriculture and Horticulture*, 31, 1-17.
- 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.
- Cai, J., Zhu, B.-Q., Wang, Y.-H., Lu, L., Lan, Y.-B., Reeves, M. J., & Duan, C.-Q. (2014). Influence of Pre-fermentive Cold Maceration Treatment on Aroma Compounds of Cabernet Sauvignon Wines Fermented in Different Industrial Scale Fermenters. *Food Chemistry*, 154, 217-229.
- Cameira-dos-Santos, P., Brillouet, J., Cheynier, V., & Moutounet, M. (1996). Detection and Partial Characterisation of New Anthocyanin-derived Pigments in Wine. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 70, 204-208.
- Canals, R., Llaudy, M., Valls, J., Canals, J., & Zamora, F. (2005). Influence of Ethanol Concentration on the Extraction of Color and Phenolic Compounds from the Skin and Seeds of Tempranillo Grapes at different Stages of Ripening. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 4019-4025.
- Cano-López, M., Pardo-Minguez, F., López-Roca, J., & Gómez-Plaza, E. (2013). Efectos de la Micro-Oxigenación en Vinos de Monastrell. Influencia de la Composición Polifenólica del Vino y del Momento de Aplicación.
- Capone, D., Black, D., & Jeffery, D. (2012). Effects on 3-Mercaptohexan-1-ol Precursor Concentrations from Prolonged Storage of Sauvignon Blanc Grapes Prior to Crushing and Pressing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60, 3515-3523.

- Casassa, F. (2007). Efecto de dos Varienates de Maceración Prefermentativa en Frío sobre la Composición y Características Organolépticas de Vinos Malbec. *Tesis para Optar al Grado de Magíster Scientiae an Viticultura y Enología*, 167.
- Casassa, F., Sari, S., Avagnina, S., Díaz, M., Jofré, V., Fanzone, M., & Catania, C. (2007). Influencia de dos Técnicas de Maceración sobre la Composición Polifenólica, Aromática y las Características Organolépticas de Vinos CV. Merlot. *Infowine*, N°4/3.
- Casassa, F., Sari, S., Bolcato, E., Díaz, M., Catania, A., Fanzone, M., . . . Barda, N. (2019). Chemical and Sensory Effects of Cold Soak, Whole Cluster Fermentation, and Stem Additions in Pinot Noir Wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 70, 19-33.
- Casassa, L. F., & Sari, S. E. (2015). Sensory and Chemical Effects of Two Alternatives of Prefermentative Cold Soak in Malbec Wines during Winemaking and Bottle Ageing. *International Journal of Food Science and Technology*, 50, 1044-1055.
- Casassa, L., Bolcato, E., Sari, S., Fanzone, M., & Jofré, V. (2016). Combined Effect of Prefermentative Cold Soak and SO₂ Additions in Barbera D'Asti and Malbec Wines: Anthocyanin Composition, Chromatic and Sensory properties. *LWT-Food Science and Technology*, 66, 134-142.
- Castelluccio, C., Paganga, G., Melikian, N., Bolwell, P., Pridham, J., Sampson, J., & Rice-Evans, C. (1995). Antioxidant Potencial of Intermediates in Phenylpropanoid Metabolism in Higher Plants. *FEBS Letters*, 368, 188-192.
- Cejudo-Bastante, M. J., Castro-Vázquez, L., Hermosín-Gutiérrez, I., & Pérez-Coello, M. S. (2011c). Combined Effects of Prefermentative Skin Maceration and Oxygen Addition of Must on Color-related Phenolics, Volatile Composition, and Sensory Characteristics of Airén White Wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59, 12171-12182.
- Cejudo-Bastante, M. J., Hermosín-Gutiérrez, I., & Pérez-Coello, M. S. (2011b). Microoxygenation and Soak Chip Treatments of red Wines: Effects on Colour-related Phenolics, Volatile Composition and Sensory Characteristes. Part I: Petit Verdot Wines. *Food Chemistry*, 124, 727-737.
- Cejudo-Bastante, M., Pérez-Coello, M., & Hermosín-Gutiérrez, I. (2011a). Effect of Wine Micro-Oxygenation Treatment and Storage Period on Colour-Related Phenolic, Volatile Composition and Sensory Characteristics. *LWT - Food Science and Technology*, 44, 866-874.
- Çelik, S., Asuman, K., Ayran, I., & Çoksan, G. (2018). Investigation of Rutine Contents of Buckwheat (*Fagopyrum Esculentum* Moench) Cultivated in Turkey. *International Journal of Agriculture*, 2, 196-198.
- Charpentier, C., & Feuillat, M. (1998). Métabolisme des Levures Cryotolérants: Application à la Macération Préfermentaire à Froid du Pinot Noir en Bourgogne. *Revue Française d'Oenologie*, 170, 36-37.

- Chaves-Carvajal, B. (2015). Efecto de la Microoxigenación en los compuestos Fenólicos y Análisis Sensorial de Vinos Tintos de Tempranillo. Tesis Final de Grado. Universidad de la Rioja. Servicio de Publicaciones.
- Chervin, C., Elkereamy, A., Roustan, J. P., Faragher, J. D., Latché, A., Pech, J. C., & Bouzayen, M. (2001). An Ethanol Spray at Veraison Enhances Colour in Red Wines. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 7, 144-145.
- Cheyrier, V., Dueñas-Paton, M., Salas, E., Maury, C., Souquet, J., Sarni-Manchado, P., & Fulcrand, H. (2006). Structure and Properties of Wine Pigments and Tannins. *American Journal of Enology and Viticulture*, 57, 298-305.
- Cheyrier, V., Moutounet, M., & Sarni-Manchado, P. (2003). Los Compuestos Fenólicos. En *En Enología: Fundamentos Científicos y Tecnológicos* (págs. 114-136). Madrid: Ediciones Mundi Prensa.
- Cholet, C., & Darné, G. (2004). Evolution of the Contents in Soluble Phenolic Compounds, in Proanthocyanic Tanins and in Anthocyanins of Shot Grape Berries of *Vitis Vinifera* L. during Their Development. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, 38 (3). 171-180.
- Cliff, M., King, M., & Schlosser, J. (2007). Anthocyanin, Phenolic Composition, Colour Measurement and Sensory Analysis of BC Commercial Red Wines. *Food Research International*, 40, 92-100.
- Commission Regulation (EEC). Community Methods for the Analysis of Wines. (1990). (págs. 1-193). Official Journal of the European Communities 2676.
- Conseil Interprofessionnel du Vin de Bordeaux. (1998). La Macération des Vins Rouges de Bordeaux. *Les Cahiers Techniques*, N° 9.
- Coombe, B. (1976). Development of Fleshy Fruits. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 27, 207-228.
- Coombe, B. (1987). Distribution of Solutes Within the Developing Grape Berry in Relation to Its Morphology. *American Journal of Enology and Viticulture*, 38, 120-127.
- D'Onofrio, C., Matarese, F., & Cuzzola, A. (2018). Effect of Methyl Jasmonate on the Aroma of Sangiovese Grapes and Wines. *Food Chemistry*, 242, 352-361.
- Dangles, O., & Brouillard, R. (1992). A Spectroscopic Method Based on the Anthocyanin Copigmentation Interaction and Applied to the Quantitative Study of Molecular Complexes. *Journal of the Chemical Society*, 2, 247-257.
- Dangles, O., Saito, N., & Brouillard, R. (1993). Anthocyanin Intramolecular Copigment Effect. *Phytochemistry*, 34, 119-124.
- Darias-Martín, J., Carrillo, M., & Diaz, E. B. (2001). Enhancement of Wine Colour by Prefermentation Addition of Copigments. *Food Chemistry*, 73, 217-220.
- Darias-Martín, J., Martín, B., Carrillo, M., Lamuela, R., Diaz, C., & Boulton, R. (2002). The Effect of Caffeic Acid on the Colour of Red Wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50 (7): 2062-2067.

- Darici, B., Dimitrov, D., Yoncheva, T., & Yildirim, H. (2020). Natural Alternatives of Sulphur Dioxide Used in Wine their Effects on Aromatic Compounds. *Ukrainian Food Journal*, 9, 873-938.
- Davies, A., & Mazza, G. (1993). Copigmentation of Simple and Acylated Anthocyanins with Colourless Phenolic Compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41, 716-720.
- De Orduña, R. (2010). Climate Change Associated Effects on Grape and Wine Quality and Production. *Food Research International*, 43, 1844-1855.
- De santis, D., & Frangipane, M. T. (2010). Effect of Prefermentative Cold maceration on the Aroma and Phenolic Profiles of a Merlot Red Wines. *Italian Journal of Food Science*, 22, 47-53.
- Del Monte, R., Catania, C., Avagnina, S., Sari, S., & Astesano, J. (2003). Descripción y Resultados de la Evaluación Enológica. *El Vino y su Industria*, 10, 12-16.
- Del Pozo-Insfran, D. (2006). Emerging Technologies and Strategies to enhance Anthocyanin Stability. A dissertation Presented to the Graduate School of the University of Florida in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Doctor of Philosophy. University of Florida, EEUU.
- Delteil, D. (2004). La Maceration Prefermentaire (MPF) des Raisins Mediterranéens et Rhodaniens. *Revue Française d'Oenologie*, 112, 29-32.
- Deluc, L., Grimplet, J., Wheatley, M., Tillett, R., Quilici, D., Osborne, C., . . . Cramer, G. (2007). Transcriptomic and Metabolite Analyses of Cabernet Sauvignon Grape Berry Development. *BMC Genomics*, 8, 429.
- Diago, M., Ayestarán, B., Guadalupe, Z., Garrido, Á., & Tardaguila, J. (2012). Phenolic Composition of Tempranillo Wines Following Early Defoliation of the Wines. *Journal of the Science of Food and agriculture*, 92, 925-934.
- Du Toit, W., Pretorius, I., & Lonvand-Funel, A. (2005). The Effect of Sulphur Dioxide and Oxygen on the Viability and Culturability of a Strain of Acetobacter Pasterianus and a Strain of Brettanomyces Bruxellensis Isolated from Wines. *Journal of Applied Microbiology*, 98, 862-871.
- Eiro, M., & Heinonen, M. (2002). Anthocyanin Color behaviour and Stability during Storage: Effect of Intermolecular Copigmentation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 7461-7466.
- Englezos, V. T., Cravero, F., Marengo, F., Giacosa, S., Gerbi, V., Rantsiou, K., . . . Cocolin, L. (2016). Aroma Profile and Composition of Barbera Wines Obtained by Mixed Fermentations of *Starmerella Bacillaris* (Synonym *Candida Zemlinina*) and *Saccharomyces Cerevisiae*. *Food Science and Technology*, 73, 567-575.
- Escribano-Bailón, T., Álvarez-García, M., Rivas-Gonzalo, J., Heredia, F., & Santos-Buelga, C. (2001). Color and Stability of Pigments-Derived from the Acetaldehyde-Mediated Condensation between Malvidin-3-O-Glucoside and (+)-Catechin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 1213-1217.

- Escribano-Bailón, T., Dangles, O., & Brouillard, R. (1996). Coupling Reactions between Flavylium Ions and Catechin. *Phytochemistry*, 41 (6), 1583-1592.
- Esparza, I., Salinas, I., Santamaria, C., & García-Mina, J. F. (2005). Electrochemical and Theoretical Complexation Studies for Zn and Cu with Individual Polyphenols. *Analytica Chimica Acta*, 543, 267-274.
- Es-Safi, N., Fulcrand, H., Cheynier, V., & Moutounet, M. (1999). Studies on the Acetaldehyde-induced Condensation of (-)-Epicatechin and Malvidin-3-O-Glucoside in a Model Solution System. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 2096-2102.
- Esti, M., & Tamborra, P. (2006). Influence of Winemaking Techniques on Aroma Precursors. *Analytica Chimica Acta*, 563, 173-179.
- Etiévant, P., Issanchou, S., Marie, S., Ducruet, V., & Flanzy, C. (1989). Sensory Impact of Volatile Phenols on Red Wine Aroma: Influence of Carbonic Maceration and Time of Storage. *Sciences des Aliments*, 9, 19-33.
- Fan, L., Wang, Y., Xie, P., Zhang, L., Li, Y., & Zhou, J. (2019). Copigmentation Effects of Phenolics on Colorenhancement and Stability of Blackberry Wine residue Anthocyanins: Chromaticity, Kinetics and Structural Simulation. *Food Chemistry*, 275, 299-308.
- Favre, G., Charamelo, D., & González-Neves, G. (2013). Use of Enological Tannins and Alternative Maceration in a Tannat Red Winemaking Essay. *Agrociencia Uruguay*, 17, 65-73.
- Fernández de Simón, B., Cadahía, E., Sanz, M., Poveda, P., Pérez-Magariño, S., Ortega-Heras, M., & González-Huerta, C. (2008). Volatile Compounds and Sensorial Characterization of Wines from Four Spanish Denominations of Origin, Aged in Spanish Rebollo (*Quercus Pyrenaica* Wild). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 9046-9055.
- Fernández, J., Santamaría, C., & Esparza, I. (2006). Chromatic Characterization of Three consecutive Vintages of *Vitis Vinifera* Red Wine. Effect of Dilution and Iron Addition. *Analytica Chimica Acta*, 563, 331-337.
- Figueiredo, P., Elhabiri, M., Toki, K., Saito, N., Dangles, O., & Brouillard, R. (1996). New Aspects of Anthocyanin Complexation. Intramolecular Copigmentation as a Means for Colour Loss? *Phytochemistry*, 41 (1), 301-308.
- Figueiredo, P., George, F., Tatsuzama, F., Toki, K., Saito, N., & Brouillard, R. (1999). New Features of Intramolecular Copigmentation by Acylated Anthocyanins. *Phytochemistry*, 51, 125-132.
- Flanzy, C. (1999). Vinification avec Macération Préfermentaire à Froid de Pinot Noir. En *Oenologie: Fundaments Scientifiques et Technologiques*. Paris: Ed. Technique et Documentation.
- Flanzy, C., Flanzy, M., & Bernard, P. (2012). *La Vinificación por Maceración Carbónica*. Madrid: AMV Ediciones.

- Forino, M., Picariello, L., Lopatriello, A., Moio, L., & Gambuti, A. (2020). New Insights into the Chemical Bases of Wine Color Evolution and Stability: the Key Role of Acetaldehyde. *European Food Research and Technology*, 246, 733-743.
- Fossen, T., Rayyan, S., & Andersen, O. (2004). Dimeric Anthocyanins from Strawberry Consisting of Pelarganidin 3-Glucoside Covalently Linked to Four Flavan-3-ols. *Phytochemistry*, 65 (10), 1421-1428.
- Fournand, D., Vicens, A., Sidhoum, L., Souquet, J., Moutounet, M., & Cheynier, V. (2006). Accumulation and Extractability of Grape Skin Tannins and Anthocyanins at Different Advanced Physiological Stages. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 54, 7331-7338.
- Fragasso, M., Antonacci, D., Pati, S., Tufariello, M., Baiano, A., Forleo, L., & La Notte, E. (2012). Influence of Training System on Volatile and Sensory Profiles of Primitivo Grapes and Wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 63, 477-486.
- Francia-Aricha, E., Guerra, M., Rivas-Gonzalo, J., & Santos-Buelga, C. (1997). New Anthocyanine Pigments Formed after Condensation with Flavonols. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 2262-2266.
- Fredes, C., Von-Bennewitz, E., Holzapfel, E., & Saavedra, F. (2010). Relation between Seed Appearance and Phenolic Maturity: A Case Study Using Grapes Cv. Carménère. *Chilean Journal of Agricultural Research*, 70 (3), 381-389.
- Fulcrand, H., Benabdejalil, C., Rigaud, J., & Cheynier, V. (1997). A New Class of Wine Pigments Generated by Reaction Between Pyruvic Acid and Grape Anthocyanins. *Phytochemistry*, 47, 1401-1407.
- Fulcrand, H., Dueñas, M., Salas, E., & Cheynier, V. (2006). Phenolic Reactions during Winemaking and Aging. *American Journal of Enology and Viticulture*, 57 (3), 289-297.
- Furtado, P., Figueredo, P., Chaves, H., & Pina, F. (1993). Photochemical and Thermal Degradation of Anthocyanidins. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 75, 113-118.
- Gallegos, J. I., Gonzalez, R., Gonzalez, M. R., & Martín, P. (2006). Changes in Composition and Colour Development of Tempranillo Grapes during Ripening Induced by Ethephon Treatments at Veraison. *Acta Horticulturae*, 727, 505-512.
- García-Huidobro, J. (2012). Efectos de la Maceración Carbónica en la Calidad de Vino Elaborado con Uva Sumoll Ecológica. Barcelona: Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Cataluña.
- García-Marino, M., Bailón, M., & Rivas-Gonzalo, J. (2013). Color-copigmentation Study by Tristimulus Colorimetry (CIELAB) in Red Wines obtained from Tempranillo and Graciano Varieties. *Food Research International*, 51, 123-131.
- García-Puente, E., Alcalde-Eon, C., Santos-Buelga, C., Rivas-Gonzalo, J., & Escribano-Bailón, M. (2006). Behaviour and Characterisation of the Colour during Red Wine Making and Maturation. *Analytica Chimica Acta*, 563, 215-222.

- Garijo-Alonso, J. (2001). Influencia de las Condiciones y Tratamientos en la Maceración a Baja Temperatura sobre la Calidad de Vinos Rosados de Monastrell. Tesis Doctoral. Universidad de Castilla-La Mancha.
- Gervaux, V. (1993). Étude de Quelques Conditions de Cuvaison Susceptibles d'Augmenter la Composition Polyphenolique des Vins de Pinot Noir. *Revue des Oenologues*, 69, 15-18.
- Ghasemifar, E., & Saeidian, S. (2014). The effects Catechin on Stability of Grape Anthocyanin Copigment Complex. *International Journals of Scientific Research in Environmental Sciences*, 2, 150.
- Gil, J., Viana, F., & Manzanares, P. (2015). Levaduras no Saccharomyces para Modular el Aroma de los Vinos: Incremento del Acetato de 2-feniletilo mediante Cultivos Iniciadores Mixtos. *Revista de Enología Científica y Profesional*, nº 150.
- Gil-Muñoz, R., Fernández-Fernández, J., Crespo-Villegas, O., & Garde-Cerdán, T. (2017). Elicitors used as a Tool to Increase Stilbenes in Grapes and Wines. *Food Research International*, 98, 34-39.
- Gil-Muñoz, R., Moreno-Pérez, A., Vila-López, R., Fernández-Fernández, J. I., Martínez-Cutillas, A., & Gómez-Plaza, E. (2009). Influence of Low Temperature Prefermentative Techniques on Chromatic and Phenolic Characteristics of Syrah and Cabernet Sauvignon Wines. *European Food Research and Technology*, 228, 777-788.
- Giovannoni, J. (2001). Molecular Biology of Fruit Maturation and Ripening. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 52, 725-749.
- Glories, Y. (1978). *Recherches sur la Matière Colorante des Vins Rouges*. Bordeaux: Thèse a L'Université de Bordeaux II.
- Glories, Y. (1984). La Couleur des Vins Rouges. 1ère Partie. Les Équilibres des Anthocyanes et des Tanins. *Vigne Vin*, 18, 195-217.
- Glories, Y. (1999). La Maturità Fenolica delle Uve: Primo Parametro da Controllare per una Corretta Vinificazione in Rosso. *Vignevini*, 3, 46-50.
- Glories, Y., & Saucier, C. (2000). Tannin Evolution from Grape to Wine. Effects on Wine Taste. *Proceedings of the ASEV 50th Anniversary Annual Meeting*, 353-355.
- Gombau, J., Vignault, A., Pascual, O., Canals, J., Teissedre, P., & Zamora, F. (2016). Influence of Supplementation with different Oenological Tannins on Malvidin-3-Monoglucoside Copigmentation. *39TH World Congress of vine and Wine. BIO Web of Conferences* 7, 02033.
- Gómez, C. (2010). Efecto de la Luz Solar sobre la Concentración de Metoxipirazinas en Bayas del Cv. Carménère. *Tesis Magíster en Ciencias Agropecuarias*, 51. Santiago (Chile): Universidad de Chile. Facultad de Ciencias Agronómicas.
- Gómez-Míguez, M., González-Manzano, S., Escribano-Bailón, M., Heredia, F., & Santos-Buelga, C. (2006b). Influence of different Phenolic Copigments on the Color of Malvidin-3-Glucoside. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 5422-5429.

- Gómez-Míguez, M., González-Miret, M., & Heredia, F. (2006a). Evolution of Colour and Anthocyanin Composition of Syrah Wines Elaborated with Prefermentative Cold Maceration. *Journal of Food and Enology*, 79 (1), 271-278.
- Gómez-Plaza, E., & Cano-López, M. (2011). A Review on Micro-Oxygenation of Red Wines: Claims, Benefits and the Underlying Chemistry. *Food Chemistry*, 125, 1131-1140.
- Gómez-Plaza, M. (2016). Fundamentos de la Microoxigenación de Vinos Tintos: Factores Influyentes y Aplicaciones. *ACE: Revista de Enología*, N°. 157.
- González, R., González, M., Urquiza, L., & Martín, P. (2009). Improving the Colour of Tempranillo Grapes by Spraying Ethanol at Veraison and Pre-Harvest. *11th International Symposium on Plant Bioregulators in Fruit Production*.
- González-Manzano, S., Santos-Buelga, C., Dueñas, M., Rivas-Gonzalo, J. C., & Escribano, T. (2008). Colour Implications of self-Association Processes of Wine Anthocyanins. *European Food Research and Technology*, 226, 483-490.
- González-Manzano, S., Santos-Buelga, C., Pérez-Alonso, J., Rivas-Gonzalo, J., & Escribano-Bailón, M. (2006). Characterization of the Mean Degree of Polymerization of Proanthocyanidins in Red Wines using Liquid Chromatography-Mass Spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 4326-4332.
- González-Neves, G., Favre, G., Gil, G., Ferrer, M., & Charamelo, D. (2015). Effect of Cold Prefermentative Maceration on the Colour and Composition of Young Red Wines Cv. Tannat. *Journal of Food Science and Technology*, 52 (6), 3449-3457.
- González-Neves, G., Favre, G., Piccardo, D., & Gil, G. (2016). Anthocyanin Profile of Young Red Wines of Tannat, Syrah and Merlot Made using Maceration Enzymes and Cold Soak. *International Journal of Food Science & Technology*, 51, 260-267.
- González-Neves, G., Gil, G., & Barreiro, L. (2008). Influence of Grape Variety on the Extraction of Anthocyanins during the Fermentation on Skins. *European Food Research and Technology*, 226, 1349-1355.
- González-Paramás, A., Lopez da Silva, F., Martín-López, P., Macz-pop, G., González-Manzano, S., Alcalde-Eón, C., . . . Santos-Buelga, C. (2006). Flavanol-Anthocyanin Condensed Pigments in Plant Extracts. *Food Chemistry*, 94, 428-436.
- González-Rodríguez, R., Noguerol-Pato, R., González-Barreiro, C., Cancho-Grande, B., & Simal-Gándara, J. (2011). Application of New Fungicides under Good Agricultural Practices and their Effects on the Volatile Profile of White Wines. *Food Research International*, 44, 397-403.
- Gordillo, B., Cejudo-Bastante, M., Rodríguez-Pulido, F., Jara-Palacios, M., Ramírez, P., Gonzalez-Miret, M., & Heredia, F. (2014). Impact of Adding White Pomace to Red Grapes on the Phenolic Composition and Color Stability of Syrah Wines from a Warm Climate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62, 2663-2671.

- Gordillo, B., López-Infante, M., Ramírez-Pérez, P., González-Miret, M., & Heredia, F. (2010). Influence of Prefermentative Cold Maceration on the Colour and Anthocyanic Copigmentation of Organic Tempranillo Wines Elaborated in a Warm Climate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58 (11), 6797-6803.
- Gordillo, B., Rivero, F., Jara-Palacios, M., González-Miret, M., & Heredia, F. (2021). Impact of a double Post-fermentative Maceration with Ripe and Overripe Seeds on the Phenolic Composition and Color Stability of Syrah Red Wines from Warm Climate. *Food Chemistry*, 346, 128919.
- Gordillo, B., Rodríguez-Pulido, F., González-Miret, M., Quijada-Morín, N., Rivas-Gonzalo, J., García-Estévez, I., . . . Escribano-Bailón, M. (2015). Application of Differential Colorimetry to Evaluate Anthocyanin-flavonol-flavonol Ternary Copigmentation Interactions in Model Solutions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63, 7645-7653.
- Guerra, B., & Steenwerth, K. (2012). Influence of Floor Management Technique on Grapevine Growth, Disease Pressure, and Juice and Wine Composition: A Review. *American Journal of Enology and Viticulture*, 63, 149-164.
- Gunata, Y., Sapis, J., & Moutounet, M. (1987). Substrates and Aromatic Carboxylic Acid Inhibitors of Grape Phenol Oxidases. *Phytochemistry*, 26, 1573-1575.
- Gutiérrez-Gamboa, G., Pérez-Álvarez, E., Rubio-Bretón, P., & Garde-Cerdán, T. (2019b). Foliar Application of Methyl Jasmonate to Graciano and Tempranillo Vines: Effects on Grape Amino Acid Content during Two Consecutive Vintages. *International Journal of Vine and Wine Science*, 53, 1-9.
- Gutiérrez-Gamboa, G., Romanazzi, G., Garde-Cerdán, T., & Pérez-Álvarez, E. (2019a). A Review of the Use of Biostimulants in the Vineyard for Improved Grape and Wine Quality: Effects on Prevention of Grapevine Diseases. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99, 1001-1009.
- Han, G., Ugliano, M., Currie, B., Vidal, S., Diéval, J. B., & Waterhouse, A. L. (2015). Influence of Closure, Phenolic Levels and Microoxygenation on Cabernet Sauvignon Wine Composition after 5 Years' Bottle Storage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95, 36-43.
- Han, G., Web, M. R., & Waterhouse, A. L. (2019). Acetaldehyde Reactions during Wine Bottle Storage. *Food Chemistry*, 290, 208-215.
- Harbertson, J., Kennedy, J., & Adams, D. (2002). Tannin in Skins and Seeds of Cabernet Sauvignon, Syrah, and Pinot Noir Berries during ripening. *American Journal of Enology and Viticulture*, 53, 54-59.
- Haslam, E. (1980). In *Vino Veritas: Oligomeric Procyanidins and the Ageing of Red Wines*. *Phytochemistry*, 16, 1625-1670.
- Havlíková, L., Míková, K., & Kyzlink, V. (1983). Heat Stability of Betacyanins. *Journal of Food Science*, 177, 247-250.
- He, J., Liang, N.-N., L., M., Q.-H., P., Wang, J., Reeves, M., & Duan, C. (2012a). Anthocyanins and their Variation in Red Wines I. Monomeric Anthocyanins and their Color Expression. *Molecules*, 17, 1571-1601.

- He, J., Liang, N.-N., L., M., Q.-H., P., Wang, J., Reeves, M., & Duan, C. (2012b). Anthocyanins and their Variation in Red Wines II. Anthocyanin Derived Pigments and their Color Evolution. *Molecules*, 17, 1483-1519.
- He, J., Santos-Buelga, C., Silva, A., Mateus, N., & De Freitas, V. (2006). Isolation and Structural Characterization of New Anthocyanin-Derived Yellow Pigments in Aged Red Wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 9598-9603.
- Hebrero, E., Santos-Buelga, C., & Rivas-Gonzalo, J. (1988). High Performance Liquid Chromatography Diode Array Spectroscopy Identification of Anthocyanins of Vitis Vinifera Variety Tempranillo. *American Journal of Enology and Viticulture*, 39 (3), 227-233.
- Heras-Roger, J., Díaz-Romero, C., & Darias-Martín, J. (2016). What Gives a Wine Its Strong Red Color? Main Correlations Affecting Copigmentation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64, 6567-6574.
- Heredia, F. J., Escudero-Gilete, M. L., Hernanz, D., Gordillo, B., Meléndez-Martínez, A. J., Vicario, I. M., & González-Miret, M. L. (2010). Influence of the Refrigeration Technique on the Colour and Phenolic Composition of Syrah Red Wines obtained by Pre-fermentative Cold Maceration. *Food Chemistry*, 118, 377-383.
- Hermosín, I., & 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. *GIENOL*, (págs. 80-82). Palencia.
- Hermosín, I., Sanchez-Palomo, E., & Vicario, A. (2005). Phenolic Composition and Magnitude of Copigmentation in Young and Shortly Aged Red Wines Made from the Cultivars, Cabernet Sauvignon, Cencibel and Syrah. *Food Chemistry*, 92, 269-283.
- Hernández-Orte, P., Lapeña, A. C., Escudero, A., Astrain, J., Baron, C., Pardo, I., . . . Ferreira, V. (2009). Effect of Microoxygenation on the Evolution of Aromatic Compounds in Wines: Malolactic Fermentación and Ageing in Wood. *LWT-Food Science and Technology*, 42, 391-401.
- Holt, S., Cordente, A. G., & Curtin, C. (2012). Saccharomyces Cerevisiae STR3 and yeast Cystathionine Beta-lyase Enzymes: The Potential for Engineering Increased Flavor Release. *Bioengineered Bugs*, 3, 180-182.
- Hoshino, T. (1991). An Approximate Estimate of Self-Association Constants and Self-Stacking Conformation of Malvin Quinoidal Bases Studied by IH NMR. *Phytochemistry*, 30, 2049-2055.
- Hoshino, T. (1992). Self-Association of Flavylium Cations of Anthocyanidin 3,5-Diglucosides Studies by Circular Dichroism and IH NMR. *Phytochemistry*, 31, 647-653.
- Hui-Chun, B. (2014). *Anthocyanin Color Enhancement by Using Catechin as Copigments and Stability during Storage*. Doctoral Dissertation, Thesis. Presented in Partial Fulfilment of the Requirements for the Degree Master in the Graduate School of The Ohio State University.

- Irvin, N., Pinckard, T., Perring, T., & Hoddle, M. (2014). Evaluating the Potential of Buckwheat and Cahaba Vetch as Nectar Producing Cover Crops for Enhancing Biological Control of *Homalodisca Vitripennis* in California Vineyards. *Biological Control*, 76, 10-18.
- Ivanova, V., Dörney, Á., Márk, L., Vojnoski, B., Stalinov, T., & Stefova, M. (2011). Polyphenolic Content of Vranec Wines Produced by Different Vinification Conditions. *Food Chemistry*, 124, 316-325.
- Ivit, N. N., Loira, I., Morata, A., Benito, S., Palomero, F., & Suárez-Lepe, J. A. (2018). Making Natural Sparkling Wines with non-Saccharomyces Yeasts. *European Food Research and Technology*, 244, 925-935.
- Jurd, L., & Somers, T. (1970). The Formation of Xanthylum Salt from Proanthocyanidins. *Phytochemistry*, 64, 923-933.
- Kallithraka, s., Bakker, J., & Clifford, M. N. (1997). Effect of pH on Astringency in Model Solutions and Wines. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, 45, 2211-2216.
- Kanha, N., Surawang, S., Pitchakarn, P., Regenstein, J., & Laokuldilok, T. (2019). Copigmentation of Cyaniding 3-O-glucoside with Phenolics: Thermodynamic data and Thermal Stability. *Food Bioscience*, 30, 100419.
- Karna, L., Linda, F., & Douglas, O. (2005). A Review of the Effect of Winemaking Techniques on Phenolic Extraction in Red Wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 56, 197-206.
- Kelebec, H., Canbas, A., Cabaroglu, T., & Selli, S. (2007). Improvement of Anthocyanin Content in the cv. Öküzgözü Wines by Using Pectolytic Enzymes. *Food Chemistry*, 105, 334-339.
- Kennedy, J., & Jones, G. (2001). Analysis of Proanthocyanidin Cleavage Products following Acid-Catalysis in the Presence of Excess Phloroglucinol. *Journal Agriculture and Food Chemistry*, 49, 1740-1746.
- Kennedy, J., Hayasaka, Y., Vidal, S., Waters, E., & Jones, G. (2001). Composition of Grape Skin Proanthocyanidins at Different Stages of Berry Development. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 49, 5348-5355.
- Kopjar, M., & Pilizota, V. (2011). Prevention of Thermal Degradation of Anthocyanins in Blackberry Juice with Addition of Different Sugars. *Journal of Foods*, 9, 237-242.
- Koyama, K., Goto-Yamamoto, N., & Hashizume, K. (2007). Influence of Maceration Temperature in Red Wine Vinification on Extraction of Phenolics from Berry Skins and Seeds of Grape (*Vitis Vinifera*). *Biosci Biotechnol Biochem*, 71, 958-965.
- Lambert, S., Asenstorfer, R., Williamson, N., Iland, P., & Jones, G. (2013). Copigmentation between Malvidin-3-glucoside and some Wine Constituents and its Importance to Colour Expression in Red Wine. *Food Chemistry*, 125, 106-115.

- Lanaridis, P., & Bena-Tzourou, E. (1997). Étude des Variations des Anthocyanes Pendant la Maturation des Raisins de Cinq Cépages Rouges, Cultivés en Grèce. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, 31 (4), 205-212.
- Lasanta, T., Baroja-Sáenz, C., Cortijos-López, M., Nadal-Romero, E., Martín, I., & García-Escudero, E. (2021). Strategies for Adaptation to Climate Change in Vineyards in the Mediterranean Basin: The Case of the DOCa Rioja. *Cuadernos de Investigación Geográfica*, 48, EISSN 1697-9540.
- Laurie, V., Salazar, S., Campos, M., Cáceres-Mella, A., & Peña-Neira, Á. (2014). Periodic Aeration of Red Wine Compared to Microoxygenation at Production Scale. *American Journal of Enology and Viticulture*, 65, 254-260.
- Lemaire, T. (1995). La Micro-Oxygenation des Vins. *Rapport de D.N.O.*, 121-130.
- Liu, S., & Piloni, G. (2000). An Overview of Formation and Roles of Acetaldehyde in Winemaking with Emphasis on Microbiological Implications. *International Journal of Food Science and Technology*, 35, 49-61.
- Liu, Y., Duan, C., & Shi, Y. (2021). Evolution of Malvidin-3-glucoside and Color Characteristics of Red Wines forced Aging Processes: Effect of (+)-Catechin and (-)-Epicatechin Addition. *Journal of Food Processing and Preservation*, Volume 45, Issue 2, e15177.
- Lizama, V., Álvarez, I., Aleixandre, J., & García, M. (2007). Efecto de la Adición Prefermentativa de Copigmentos en la Composición Polifenólica de los Vinos de Tempranillo. *Avances en Ciencias y técnicas Enológicas*, ISBN. 978-84-690-6060-5.
- Llaudy, M., Canals, R., Cabanillas, P., Canals, J., & Zamora, F. (2005). La Maceración Prefermentativa en Frío. Efectos en la Extracción de Color y los Compuestos Fenólicos e Influencia del Nivel de Maduración de la Uva. *ACE Revista de Enología*.
- López, R., Portu, J., González-Arenzana, L., Garijo, P., Gutiérrez, A. R., & Santamaría, P. (2021). Ethephon Foliar application: Impact on the Phenolic and Technological Tempranillo Grapes Maturity. *Journal of Food Science*, 86, 803-812.
- López-Tamames, E., Carro-Mariño, N., Günata, Y., Sapis, C., Baumes, R., & Bayonave, C. (1997). Potential Aroma in Several Varieties of Spanish Grapes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 1729-1735.
- Lorenzo, C., Pardo, F., Zalacain, A., Alonso, G., & Salinas, M. (2008). Differentiation of Co-Winemaking Wines by their Aroma Composition. *European Food Research and Technology*, 227, 777-787.
- Losada, M., López, J., Añón, A., Andrés, J., & Revilla, E. (2012). Influence of some Oenological Practices on the Aromatic and Sensorial Characteristics of White Verdejo Wines. *International Journal of Food Science and Technology*, 47, 1826-1834.
- Luis, J., & Johnson, C. (2005). Seasonal Variations of Rosmarinic and Carnosic Acids in Rosemary Extracts. Analysis of their in vitro Antiradical Activity. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 3, 106-112.

- Lukić, I., Budić-Leto, I., Bubola, M., Damijančić, K., & Staver, M. (2017). Pre-Fermentative Cold Maceration, Saignée, and Various Thermal Treatments as Options for Modulating Volatile Aroma and Phenol Profiles of Red Wine. *Food Chemistry*, 224, 251-261.
- Marais, J. (2003). Effect of Different Wine-Making Techniques on the Composition and Quality of Pinotage Wine: I. Low-Temperature Skin Contact prior to Fermentation. *South African Journal for Enology and Viticulture*, 24, 70-75.
- Marinova, E., & Yanishlieva, N. (2003). Antioxidant Activity and Mechanism of Action of some Phenolic Acids at Ambient and High Temperatures. *Food Chemistry*, 81, 189-197.
- Markovic, J., Ignjatovic, L., Markovic, D., & Baranac, J. (2003a). Antioxidant Capabilities of some Organic Acids and their Co-pigments with Malvin-Part I. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 553, 169-175.
- Markovic, J., Ignjatovic, L., Markovic, D., & Baranac, J. (2003b). Antioxidant Capabilities of some Organic Acids and their Co-pigments with Malvin-Part II. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 553, 177-186.
- Markovic, J., Petranovic, N., & Baranac, J. (2005a). Spectrophotometric Study of the Copigmentation of Malvin with Caffeic and Ferulic Acids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 11, 5530-5536.
- Markovic, J., Petranovic, N., & Baranac, J. (2005b). The Copigmentation Effect of Sinapic Acid on Malvin: A Spectroscopic Investigation on Colour Enhancement. *Journal of Photochemistry*, 78, 223-228.
- Markovic, S., & Tosovic, J. (2000). Comparative Study of the Antioxidative Activities of Caffeoylquinic and Caffeic Acids. *Food Chemistry*, 210, 585-592.
- Martínez-Gil, A., Angenieux, M., Pardo-García, A., Alonso, G., Ojeda, H., & Salinas, M. (2013). Glycosidic Aroma Precursors of Syrah and Chardonnay Grapes after an Oak Extract Application to the Grapevines. *Food Chemistry*, 138, 956-965.
- Martinez-Gil, A., Garde-Cerdan, T., Martínez, L., Alonso, G., & Salinas, M. (2011). Effect of Oak Extract Application to Verdejo Grapevines on Grape and Wine Aroma. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 59, 3253-3263.
- Martinez-Gil, A., Garde-Cerdan, T., Zalacaín, A., Pardo-García, A., & Salinas, M. (2012). Applications of an Oak Extract on Petit Verdot Grapevines. Influence on Grape and Wine Volatile Compounds. *Food Chemistry*, 132, 1836-1845.
- Mateus, N., Carvalho, E., Carvalho, A., Melo, A., González-Paramás, A., & Santos-Buelga, C. (2003). Isolation and Structural Characterization of New Acylated Anthocyanin-Vinylflavanol Pigments Occurring in Aging Red Wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 277-282.
- Mateus, N., De Pascual, S., Rivas-Gonzalo, J., Santos-Buelga, C., & De Freitas, V. (2002). Structural Diversity of Anthocyanin-Derived Pigments in Port Wines. *Food Chemistry*, 76, 335-342.

- Mateus, N., Oliveira, J., Pissarra, J., González-Paramás, A., Rivas-Gozaló, J., Santos-Buelga, C., . . . De Freitas, V. (2006). A New Vinylpyranoanthocyanin Pigment Occurring in Aged Red Wine. *Food Chemistry*, 97, 689-695.
- Mateus, N., Oliveira, J., Santos-Buelga, C., Silva, A., & De Freitas, V. (2004). NMR Structure Characterization of a New Vinylpyranoanthocyanin-Catechin Pigment. *Tetrahedron Letters*, 45, 3455-3457.
- Matus-Picero, J. (2008). Effects of Post-Veraison Sun Light Exposure on the Transcriptional Regulation of Flavonoid Synthesis in Grape Berry Skin (*Vitis Vinifera* L., Cv. Cabernet Sauvignon). 214. Chile: Tesis para Optar el Grado de Doctor en Ciencias de la Agricultura.
- Mazza, G. (1995). Anthocyanins in Grape and Grape Products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 35, 341-371.
- Mazza, G., & Brouillard, R. (1990). The Mechanism of Co-Pigmentation of Anthocyanins in Aqueous Solutions. *Phytochemistry*, 29, 1097-1102.
- Mena, P., Cirilini, M., Tassotti, M., Herrlinger, K., C., D., & De Rio, D. (2016). Phytochemical Profiling of Flavonoids, Phenolic Acids, Terpenoids and Volatile Fraction of a Rosemary. *Molecules*, 21, 1576.
- Mihnea, M., González-San José, M. L., Ortega-Heras, M., & Pérez-Magariño, S. (2015). A Comparative Study of the Volatile Content of Mencía Wines Obtained using different Pre-fermentative Maceration Techniques. *Food Science and Technology*, 64, 32-41.
- Mirabel, M., Saucier, C., Guerra, C., & Glories, Y. (1999). Copigmentation Model Wine Solutions: Occurrence and Relation to Wine Aging. *American Journal of Enology and Viticulture*, 50, 211-221.
- Monagas, M., & Bartolomé, B. (2009). Anthocyanins and Anthocyanin-Derived Compounds. En *Wine Chemistry and Biochemistry* (págs. 439-456). New York, USA: M.V. Moreno-Arribas, & M.C. Polo.
- Monagas, M., Bartolomé, B., & C., G.-C. (2005). Updated Knowledge about the Presence of Phenolic Compounds in Wine. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 45, 85-118.
- Morata, A., Loira, I., Heras, J., Callejo, M., Tesfaye, W., González, C., & Suárez-Lepe, J. (2016). Yeast Influence on the Formation of Stable Pigments in Red Winemaking. *Food Chemistry*, 197, 686-691.
- Moreno-Pérez, A., Vila-López, R., Fernández-Fernández, J., Martínez-Cutillas, A., & Gil-Muñoz, R. (2013). Influence of Cold Pre-fermentation Treatments on the Major Volatile Compounds of Three Wine Varieties. *Food Chemistry*, 139, 770-776.
- Morrison, J., & Noble, A. (1990). The Effect of Leaf and Cluster Shading on the Composition of Cabernet Sauvignon Grapes and on Fruit and Wine Sensory Properties. *American Journal of Enology and Viticulture*, 41, 193-200.

- Moutounet, M. (2000). *Apuntes del Curso de Tecnología Enológica*. Mendoza (Argentina): Maestría de Viticultura y Enología, FCA-UN Cuyo, ENSA Montpellier, INTA.
- Moutounet, M. (2003). La técnica de Microoxigenación. *ACE Enología*.
- Moutounet, M., & Vidal, J. (2006). La medida de Oxígeno Disuelto en la Bodega: ¿Nuevo Criterio para Garantizar la Calidad? *Revista de Viticultura y Enología (Infowine)*, 1-5.
- Moutounet, M., Ducournau, P., Chassin, M., & Lemaire, T. (1995). Appareillage d'Apport d'Oxigène aux Vins. *Son Intérêt Technologique. Oenologie*, 95, 411-414.
- Muñoz-Pina, S., Ros-Lis, J., Argüelles, Á., Coll, C., Martínez-Mañez, R., & Andrés, A. (2018). Full Inhibitiol of Enzymatic Browning in the Presence of Thiol-functionalised Silica Nanomaterial. *Food Chemistry*, 241, 199-205.
- Nagle, D., Ferreira, D., & Zhou, Y.-D. (2006). Epigallocatechin-3-gallate (EGcG): Chemical and Biomedical Perspectives. *Phytochemistry*, 67, 1849-1855.
- Nel, A., Van Rensburg, P., & Lambrechts, M. (2014). The Influence of Different Winemaking Techniques on the Extraction of Grape Tannins and Anthocyanins. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 35, 304-320.
- Neuza, P., Perestrelo, R., Marques, J., & Camara, J. (2007). Relationship between Antioxidant Capacity and Total Phenolic Content of Red, Rose and White Wines. *Food Chemistry*, 105, 204-214.
- Novak, I., Seruga, M., & Komorsky-Lovri, S. (2010). Characterisation of Catechins in Green and Black Teas Using Square-wave Voltammetry and RP-HPLC-ECD. *Food Chemistry*, 122, 1283-1289.
- Obreque-Slier, E., Peña-Neira, A., López-Solís, R., Zamora-Marín, F., Ricardo-Da Silva, J., & Laureano, O. (2010). Comparative Study of the Phenolic Composition of Seeds and Skins from Carménère and Cabernet Sauvignon Grape Varieties. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 58, 3591-3599.
- Okubo, K., Goto-Yamamoto, N., & Okazaki, N. (2003). Effect of Prefermentation Cold Soak on Extraction of Anthocyanin during Red Wine Making. *Journal of the Brewing Society of Japan*, 98, 193-200.
- Olivieri, C., & Salgues, N. (1981). Matières Colorants et Facteurs d'Extraction. *Progrès Agricole et Vinicole*, 98 (11), 511-513.
- Ortega, C., Lopez, R., Cacho, J., & Ferreira, V. (2001). Fast Analysis of Important Wine Volatile Compounds Development and Validation of a New Method Based on Gas Chromatographic-flame Ionisation Detection Analysis of Dichloromethane Microextracts. *Journal of Chromatography A*, www.elsevier.com/locate/chroma.
- Ortega-Heras, M., Pérez-Magariño, S., & González-Sanjosé, M. (2012). Comparative Study of the Use of Maceration Enzymes and Cold Pre-Fermentative Maceration on Phenolic and Anthocyanic Composition and Colour of a Mencía Red Wine. *LWT-Food Science and Technology*, 48 (1), 1-8.

- Ortega-Heras, M., Rivero-Pérez, M. D., Pérez-Magariño, S., González-Huerta, C., & González-San José, M. L. (2008). Changes in the Volatile Composition of Red Wines during Aging in Oak Barrels due to Microoxygenation Treatment applied before Malolactic Fermentation. *European Food Research and Technology*, 226, 1485-1493.
- Osawa, Y. (1982). *Anthocyanins as Food Colors*. London: London Academic Press.
- Oz, C., & Rand, M. (2001). *Encyclopedia of Grapes*. New York: Harcourt.
- Panprivech, S., Lerno, L., Breneman, C., Block, D., & Oberholster, A. (2015). Investigating the Effect of Cold Soak Duration on Phenolic Extraction during Cabernet Sauvignon Fermentation. *Molecules*, 20, 7974-7989.
- Pardo- García, A., Martínez-Gil, A. C., Pardo, F., Alonso, G., & Salinas, M. (2014b). Oak Extract Application to Grapevines as a Plant Biostimulant to Increase Wine Polyphenols. *Food Research International*, 55, 150-160.
- Pardo-García, A., Serrano de la Hoz, K., Zalacain, A., Alonso, G., & Salinas, M. (2014a). Effect of Wine foliar Treatments on the Varietal Aroma of Monastrell Wines. *Food Chemistry*, 163, 258-266.
- Parenti, A., Spugnoli, P., Calamai, L., Ferrari, S., & Gori, C. (2004). Effects of Cold Maceration on Red Wine Quality from Tuscan Sangiovese Grape. *European Food Research and Technology*, 218 (4), 360-366.
- Parpinello, G., Plumejeau, F., Maury, C., & Versari, A. (2011). Effect of Microoxygenation on Sensory Characteristics and Consumer Preference of Cabernet Sauvignon Wine. *Journal of Science the Food and Agriculture*, 92, 1238-1244.
- Parpinello, G., Versari, A., Chinnici, F., & Galassi, S. (2009). A Relationship among Sensory Descriptors, Consumer Preference and Color Parameters of Italian Novello Red Wines. *Food Research International*, 42, 1389-1395.
- Parrado, J., Escudero-Gilete, M., Friaza, V., García-Martinez, A., Gonzalez-Miret, M., Bautista, J., & Heredia, F. (2007). Enzymatic Vegetable Extract with Bio-active Components: Influence of Fertiliser on the Colour and Anthocyanins of Red Grapes. *Journal of Science and Food Agriculture*, 87, 2310-2318.
- Peña-Neira, A., Dueñas, M., Duarte, A., Hernández, T., Estrella, I., & Loyola, E. (2004). Effects of Ripening Stages and of Plant Vegetative Vigor on the Phenolic Composition of Grapes (*Vitis Vinifera* L.) Cv. Cabernet Sauvignon in the Maipo Valley (Chile). *Vitis*, 43, 51-57.
- Pérez-Magariño, S., Sánchez-Iglesias, M., Ortega-Heras, M., González-Huerta, C., & González-San José, M. (2007). Colour Stabilization of Red Wines by Microoxygenation Treatment before Malolactic Fermentation. *Food Chemistry*, 101, 881-893.
- Peynaud, E. (1984). *Knowing and Making Wine*. New York, USA: Hardcover.
- Picariello, L., Gambuti, A., Picariello, B., & Moio, L. (2017). Evolution of Pigments, Tannins and Acetaldehyde during Forced Oxidation of Red Wine: Effect of Tannins Addition. *LWT-Food Science and Technology*, 77, 370-375.

- Pirie, A. (1977). Phenolics Accumulation in Red Wine Grapes (*Vitis Vinifera* L.). Tesis Doctoral. Universidad de Sidney, Australia.
- Portu, J., López, R., Baroja, E., Santamaria, P., & Garde-Cerdán, T. (2016). Improvement of Grape and Wine Phenolic Content by Foliar Application to Grapevine of three different Elicitors: Methyl Jasmonate, Chitosan and Yeast Extract. *Food Chemistry*, 201, 213-221.
- Portu, J., López, R., Ewald, P., Santamaria, P., Winterhalter, P., & Garde-Cerdán, T. (2018a). Evaluation of Grenache, Graciano and Tempranillo Grape Stilbene Content after Field Applications of Elicitors and Nitrogen Compounds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98, 1856-1862.
- Portu, J., López, R., Santamaría, P., & Garde-Cerdán, T. (2017). Elicitation with Methyl Jasmonate Supported by Precursor Feeding with Phenylalanine: Effect on Garnacha Grape Phenolic Content. *Food Chemistry*, 237, 416-422.
- Portu, J., López, R., Santamaría, P., & Garde-Cerdán, T. (2018b). Methyl Jasmonate Treatment to Increase Grape and Wine Phenolic Content in Tempranillo and Graciano during Two Growing Seasons. *Scientia Horticulturae*, 240, 378-386.
- Puertas, B., Guerrero, R., Jurado, M., Jiménez, M., & Cantos-Villar, E. (2008). Evaluation of Alternative Winemaking Processes for Red Wine Color Enhancement. *Food Science and Technology International*, 14, 21-27.
- Rayne, S., Sheppard, S., Di Bello, T., & Eggers, N. (2011). Chromatic Characteristics and Optically Derived Compositional Descriptors of Micro-Oxygenated Wines from *Vitis Vinifera* Cv. Merlot and Cabernet Sauvignon. *Food and Bioprocess Technology*, 4, 254-265.
- Razungles, A. (2006). Vinification Traditionnelle en Rouge: Traitement de la Vendange, Máceration et Extraction. *Le Progrès Agricole et Viticole*, 9, 179-184.
- Reynolds, A. G. (2022). Viticultural and Vineyard Management Practices and their Effects on Grape and Wine Quality. En *In Managing Wine Quality* (págs. 443-539). Woodhead Publishing.
- Reynolds, A., Taylor, G., & Savigny, C. (2013). Defining Niagara Terroir by Chemical and Sensory Analysis of Chardonnay Wines from Various Soil Textures and Wine Sizes. *American Journal of Enology and Viticulture*, 64, 180-194.
- Reynolds, A., Cliff, M., Girard, B., & Kopp, T. G. (2001). Influence of Fermentation Temperature on Composition and Sensory Properties of Semillon and Shiraz Wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 52, 235-240.
- Ribéreau-Gayón, J., Peynaud, E., Sudraud, J., & Ribéreau-Gayón, P. (1979). *Ciencias y Técnicas del vino. Tomo I: Análisis y Control de los vinos*. Paris: Dunod.
- Ribéreau-Gayón, P. (1988). *Traité d'Oenologie. 1-Microbiologie du Vin. Vinifications*. París: Editions La Vigne.
- Ribéreau-Gayón, P., & Stonestreet, E. (1965). Le Dosage des Anthocyanes dans le Vin Rouge. *Bulletin de la Société Chimique de France*, 9, 119-142.

- Ribéreau-Gayón, P., Glories, Y., Maujean, A., & Dubourdieu, D. (2000). *Handbook of Enology: Vol. 2. The Chemistry of Wine Stabilization and Treatments*. John Wiley & Sons Ltd.
- Ribéreau-Gayón, P., Glories, Y., Maujean, A., & Dubourdieu, D. (2006). Phenolic Compounds. En *Handbook of Enology, The Chemistry of Wine Stabilization and Treatments, 2nd Edition* (págs. Vol. 2, 129-186). John Wiley and Sons Ltd. Ed. Chichester.
- Ristic, R., Downey, M., Ilands, P., Bindon, K., Francis, L., Herderich, M., & Robinson, S. (2007). Exclusion of Sunlight from Shiraz Grapes alters Wine Colour, Tannin and Sensory Properties. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 13, 53-65.
- Rivas-Gonzalo, J., Bravo-Haro, S., & Santos-Buelga, C. (1995). Detection of Copunds Formed through the Reaction of Malvidin-3-Monoglucoside and Catechin in the Presence of Acetaldehyde. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43, 1444-1449.
- Robinson, G., & Robinson, R. (1931). A Survey of Anthocyanins. *Biochemical Journal*, 25, 1687.
- Robinson, J. (2006). *The oxford companion to wine*. Oxford: Oxford University Press.
- Roggero, J., Coen, S., & Ragonnet, B. (1986). High Performance Liquid Chromatography Survey on Changes in Pigment Content in Ripering Grapes of Syrah. An Approach to Anthocyaning Metabolism. *American Journal of Enology and Viticulture*, 37, 77-83.
- Roig, G., & Yêrle, S. (2003). Balance y Perspectivas de 10 Años de Microoxigenación. *ACE Enología*.
- Romani, A., Simone, G., Campo, M., Moncini, L., & Bernini, R. (2021). Sweet Chestnut Standardized Fractions from Sustainable Circular Process and Green Tea Extract: In Vitro Inhibitory Activity against Phytopathogenic Fungi for Innovative Applications in Green Agriculture. *PLOS ONE*, 16, p. e0247298.
- Romano, P., Suzzi, G., Turbanti, L., & Polsinelli, M. (1994). Acetaldehyde Production in *Saccharomyces Cerevisiae* Wine Yeasts. *FEMS Microbiology Letters*, 118, 213-218.
- Roujou de Boubee, D., C., V. L., & Dubourdieu, D. (2000). Organoleptic Impact of 2-Methoxy-3-Isobutylpyrazine on Red Bordeaux and Loire Wines. Effect of Enviromental Conditions on Concentrations in Grapes during Ripening. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48 (10), 4830-4834.
- Rubio-Bretón, P., Lorenzo, C., Salinas, M. R., Martinez, J., & Garde-Cerdán, T. (2013). Influence of Oak Barrel Aging on the Quality of Red Wines. *Nova Science Publishers, Inc.*, 59-86.
- Ruiz-Garcia, Y., & Gómez-Plaza, E. (2013). Elicitors: A Tool for Improving Fruit Phenolic Content. *Agriculture*, 3, 33-52.

- Ruiz-García, Y., López-Roca, J., Bautista-Ortín, A., Gil-Muñoz, R., & Gómez-Plaza, E. (2014). Effect of Combined Use of Benzothiadiazole and Methyl Jasmonate on Volatile Compounds of Monastrell Wine. *American Journal Enology and Viticulture*, 65, 238-243.
- Ruiz-García, Y., Romero-Cascales, I., Bautista-Ortín, A., Gil-Muñoz, R., Martínez-Cubillas, A., & Gómez-Plaza, E. (2013). Increasing Bioactive Phenolic Compounds in Grapes: Response of Six Monastrell Grape Clones to Benzothiadiazole and Methyl Jasmonate Treatments. *American Journal Enology and Viticulture*, 64, 459-465.
- Rustioni, L., Bedgood, D., Failla, O., Prenzler, P., & Robards, K. (2012). Copigmentation and Anti-Copigmentation in Grape Extracts Studied by Spectrophotometry and Post-Column-Reaction HPLC. *Food Chemistry*, 132, 2194-2201.
- Sabon, I., De Revel, G., Kotseridis, Y., & Bertrand, A. (2002). Determination of Volatile Compounds in Grenache Wines in Relation with different Terroirs in the Rhone Valley. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 6341-6345.
- Sacchi, K., Bisson, L., & Adams, D. (2005). A Review of the Effect of Winemaking Techniques on Phenolic Extraction in Red Wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 56, 197-206.
- Sáenz-Navajas, M. P., Henschen, C., Cantu, A., Watrelot, A. A., & Waterhouse, A. (2018). Understanding Microoxygenation: Effect of Viable Yeast and Sulfur Dioxide Levels on the Sensory Properties of a Merlot Red Wine. *Food Research International*, 108, 505-515.
- Saerens, S. M., Delvaux, F. R., Verstrepen, K. J., & Thevelein, J. M. (2010). Production and Biological Function of Volatile Esters in *Saccharomyces Cerevisiae*. *Microbial Biotechnology*, 3, 165-177.
- Salas, E., Atanasova, V., Poncet-Legrand, C., Meudec, E., Mazauric, J., & Cheynier, V. (2004). Demonstration of the Occurrence of Flavanol-Anthocyanin Adducts in Wine and in Model Solutions. *Analytica Chimica Acta*, 513, 325-332.
- Salinas, M. (2013). Potencial Aromático de la Uva. *Jornadas Interregionales de Innovación e Investigación Vitivinícola*. Cuenca: Cooperativas Agroalimentarias de Castilla-La Mancha.
- Sanchez-Gómez, R., Torregrosa, L., Zalacaín, A., Ojeda, H., Bouckenogle, V., Schneider, R., . . . Salinas, M. (2016). Behavior of Glycosylated Aroma Precursors in Microvine Fruits after Guaiacol Foliar Application. *Scientia Horticulturae*, 246, 11-28.
- Santamaría, P., Portu, J., López-Alfaro, I., Gonzalez-Arenzana, L., Gutiérrez, A. R., & López, R. (2017). Effect of Ethephon Application on Grape Ripening and Wine Quality during Two Years. *GIESCO 20th International Meeting*, (pág. 113). Mendoza (Argentina).
- Santos-Buelga, C., Bravo-Haro, S., & Rivas-Gonzalo, J. (1995). Interactions between Catechin and Malvidin-3-Monoglucosyde in Model Solutions. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung A*, 201, 269-274.

- Santos-Buelga, C., Francia-Aricha, E., Pascual-Teresa, S., & Rivas-Gonzalo, J. (1999). Contribution to the Identification of the Pigments Responsible for the Browning of Anthocyanin-Flavanol Solutions. *European Food Research and Technology*, 209 (6), 411-415.
- Sarni-Manchado, P., Fulcrand, H., Souquet, J., Cheynier, V., & Moutounet, M. (1996). Stability and Colour of Unreported Wine Anthocyanin-derived Pigments. *Journal of Science and Food Agriculture*, 61, 938-941.
- Saucier, C., Bourgeois, G., Vitry, C., Roux, D., & Glories, Y. (1997). Characterization of (+)-Catechi-Acetaldehyde Polymers: A Model for Colloidal State of Wine Polyphenols. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 1045-1049.
- Scheffeldt, P., & Hrazdina, G. (1978). Co-Pigmentation of Anthocyanins under Physiological Conditions. *Journal of Food Science*, 43 (2), 517-520.
- Scheiner, J., Sacks, G., Pan, B., Ennahli, S., Tarlton, L., Wise, L., . . . Vanden Heuvel, J. (2010). Impact of Severity and Timing of Basal Leaf Removal on 3-Isobutyl-2-Methoxypyrazine Concentrations in Red Winegrapes. *American Journal of Enology and Viticulture*, 61 (3), 358-364.
- Schwarz, M., Jerz, G., & Winterhalter, P. (2003). Isolation and Structure of Pinotin A, a new Anthocyanin Derivative from Pinotage Wine. *Vitis*, 42, 105-106.
- Schwarz, M., Picazo-Bacete, J., Winterhalter, P., & Hermosín-Gutiérrez, I. (2005). Effect of Copigments and Grape Cultivar on the Colour of Red Wines Fermented After the Addition of Copigments. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 8372-8381.
- Selli, S., Canbas, A., Cabaroglu, T., Erten, H., & Gunata, Z. (2006). Aroma Components of cv. Muscat of Bornova Wines and Influence of Skin Contact Treatment. *Food Chemistry*, 94, 319.
- Serra, S., Anthony, B., Boscolo-Sesillo, F., Masia, A., & Musacchi, S. (2021). Determination of Post-harvest Biochemical Composition, Enzymatic Activities, and Oxidative Browning in 14 Apple Cultivars. *Foods*, 10, 186.
- Silva, A., Lambri, M., & De Faveri, D. (2005). Influenza dell'Ossigeno in Macerazione sulla Structura Polifenolica e Aromatica di Vini Rossi di Qualità. *Revue des Oenologues*, 251, 22-27.
- Singh Brar, H., Singh, Z., & Swinny, E. (2008). Dynamics of Anthocyanin and Flavonol Profiles in the Crimson Seedless Grape Berry Skin during Development and Ripening. *Scientia Horticulturae*, 117, 349-356.
- Singleton, U., & Rossi, J. (1995). Colorimetry of Total Phenolics with Hosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagent. *American Journal Enology and Viticulture*, 16, 144-158.
- Skinkis, P., Bordelon, B., & Butz, E. (2010). Effects of Sunlight Exposure on Berry and Wine Monoterpenes and Sensory. *American Journal of Enology and Viticulture*, 61, 147-156.

- Soares, S., Brandao, E., García-Estévez, I., Fonseca, F., Guerreiro, C., Ferreira-da-Silva, F., . . . De Freitas, V. (2019). Interaction between Ellagitannins and Salivary Proline-Rich Proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67, 9579-9890.
- Somers, T. (1971). The Polymeric Nature of Wine Pigments. *Phytochemistry*, 10, 2175-2186.
- Somers, T., & Ziemelis, G. (1985). Flavonol Haze in White Wines. *Vitis*, 24, 43-50.
- Song, J., Smart, R., Wang, H., Damberg, B., Sparrow, A., & Qian, M. (2015). Effect of Grape Bunch Sunlight Exposure and UV Radiation on Phenolics and Volatile Composition of *Vitis Vinifera* L. Cv. Pinot Noir Wine. *Food Chemistry*, 173, 424-431.
- Soto-Vazquez, E., Río-Segades, S., & Orriols-Fernández, E. (2010). Effect of the Winemaking Technique on Phenolic Composition and Chromatic Characteristics in Young Red Wines. *European Food Research and Technology*, 231, 789-802.
- Sroka, Z., & Cisowski, W. (2003). Hydrogen Peroxide Scavenging, Antioxidant and Anti-radical Activity of some Phenolic Acids. *Food and Chemical Toxicology*, 41, 753-758.
- Sudraud, P. (1983). Etude Expérimentale de la Vinification en Rouge. Thèse Docteur Ingénieur, Faculté des Sciences de Bordeaux.
- Talcott, S., Hernández-Brenes, C., Pires, D., & Del Pozo-Insfran, D. (2003). Phytochemical Stability and Color Retention of Copigmented and Processed Muscaline Grape Juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 957-963.
- Tanaka, T., Takahashi, R., Kouno, I., & Nonaka, K. (1994). Chemical Evidence for the De-astringency (Insolubilization of Tannins) of Persimmon Fruit. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions*, 3013-3022.
- Tao, J., Dykes, S., & Kilmartin, P. (2007). Effect of SO₂ Concentration on Polyphenol Development during Red Wine Micro-Oxygenation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 6104-6109.
- Taranto, F., Pasqualone, A., Mangini, G., Tripodi, P., Miazzi, M., Pavan, S., & Montemurro, C. (2017). Polyphenol Oxidases in Crops: Biochemical, Physiological and Genetic Aspects. *International Journal of Molecular Sciences*, 18, 377.
- Teixeira, N., Cruz, L., F. Bras, N., Mateus, N., Ramos, M., & de Freitas, V. (2013). Structural Features of Copigmentation of Oenin with Different Polyphenol Copigments. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61, 6942-6948.
- Teribia, N., Buvé, C., Bonerz, D., Aschoff, J., Hendrickx, M., & Loey, A. (2021). Impact of Processing and Storage Conditions on Color Stability of Strawberry Puree. *Journal of Food Engineering*, 294.

- Terrier, N., Poncet-Legrand, C., & Cheynier, V. (2009). Flavanols, Flavonols and Dihydroflavonols. En *Wine Chemistry and Biochemistry* (págs. 463-496). New York, USA: Springer.
- Timberlake, C., & Bridle, P. (1976). Interactions between Anthocyanins, Phenolic Compounds and Acetaldehyde and their Significance in Red Wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 27, 97-105.
- Vallazo-Valleumbrocio, G., Medel-Marabolí, M., Peña-Meira, A., López-Solis, R., & Obrequé-Slier, E. (2017). Commercial Enological Tannins: Characterization and their Relative Impact on the Phenolic and Sensory Composition of Carménère Wine during Bottle Aging. *Food Science and Technology*, 83, 172-183.
- Valls, J., Lampreave, M., Nadal, M., & Arola, L. (2000). Importancia de los Compuestos fenólicos en la calidad de los vinos tintos de crianza. *Revista Alimentación, Equipos y Tecnología*. Marzo, 119-124.
- Vila, H., Catania, C., & Ojeda, H. (2005). Influencia del Tiempo de Maceración sobre el Color, la Composición Tánica y la Astringencia de Vinos de Cabernet Sauvignon y Malbec de Argentina. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Cuyo. Argentina*, 37, 97-111.
- Vitalini, S., Ruggiero, A., Rapparini, F., Neri, L., Tonni, M., & Iriti, M. (2014). The Application of Chitosan and Benzothiadiazole in Vineyard (*Vitis Vinifera* L. cv Gropello Gentile) Changes the Aromatic Profile and Sensory Attributes of Wine. *Food Chemistry*, 162, 192-205.
- Vivas, N., Glories, Y., Lagune, L., Saucier, C., & Augustin, M. (1994). Estimation of the Polymerisation Level of Procyanidins from Grapes and Wines by use of p-Dimethylaminocinnamaldehyde. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, 28, 319-336.
- Wang, H., Provan, G., & Helliwell, K. (2004). Determination of Rosmarinic Acid and Caffeic Acid in Aromatic Herbs by HPLC. *Food Chemistry*, 87, 307-311.
- Wang, L., Yang, X., Qin, P., Shan, F., & Ren, G. (2013). Flavonoid Composition, Antibacterial and Antioxidant Properties of Tartary Buckwheat Bran Extract. *Industrial Crops and Products*, 49, 312-317.
- Whitaker, J., & Lee, C. (1995). Recent Advances in Chemistry of Enzymatic Browning: an Overview. Enzymatic Browning and Its Prevention. *ACS Symposium Series: American Chemical Society*, 2-7.
- Wightman, J., Price, S., Watson, B., & Wrolstad, R. (1997). Some Effects of Processing Enzymes on Anthocyanins and Phenolics in Pinot Noir and Cabernet Sauvignon Wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 48, 39-48.
- Wildenradt, H., & Singleton, V. (1974). Production of Aldehydes as a Result of Oxidation of Polyphenolic Compounds and its Relation to Wine Aging. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 25, 119-126.
- Wilska-Jeska, J., & Korzuchowska, A. (1996). Anthocyanins and Chlorogenic Acid Copigmentation: Influence on the Color of Strawberry and Chokeberry Juices. *Zlebensm Unters Forsch*, 203, 38-42.

- Wirth, J., Morel-Salmi, C., Souquet, J., Dieval, J., Aagaard, O., Vidal, S., . . . Cheynier, V. (2010). The Impact of Oxygen Exposure before and after Bottling on the Polyphenolic Composition of Red Wines. *Food Chemistry*, 123, 107-116.
- Yamamoto, L., de Assis, A. M., Roberto, S., Bovolenta, Y., Nixdorf, S., García-Romero, E., . . . Hermosín-Gutiérrez, I. (2015). Application of Abscisic Acid (S-ABA) to cv. Isabel Grapes for Color Improvement: Effects on Colour, Phenolic Composition and Antioxidant Capacity of their Grape Juice. *Food Research International*, 77, 572-583.
- Yan, Q., Zhang, L., Zhang, X., Liu, X., Yuan, F., Hou, Z., & Gao, Y. (2013). Stabilization of Grape Skin Anthocyanins by Copigmentation with Enzymatically modified Isoquercitrin (EMIQ) as a Copigment. *Food Research International*, 50, 603-609.
- Zamora, F. (2003). *Elaboración y Crianza del Vino Tinto: Aspectos Científicos y Prácticos*. Madrid: Mundi-Prensa.
- Zamora, F. (2004). La Maceración Prefermentativa en Frío de la Uva Tinta. *Enólogos*, 32, 36-39.
- Zamora, F. (2005). El Anhídrido Sulfuroso: Algunas Reflexiones sobre este Aditivo. *Enólogos*, 38, 28-31.
- Zamora, F. (2013). La Química del Color del Vino. *ACE: Revista de Enología*, N°. 140.
- Zhang, B., Wang, Q., Zhou, P.-P., N.-N., L., & Han, S.-Y. (2020). Copigmentation Evidence of Oenin with Phenolic Compounds: A Comparative Study of Spectrographic, Thermodynamic and Theoretical Data. *Food Chemistry*, 313, 126163.
- Zhang, W., Shen, Y., Li, Z., Xie, x., Gong, E. S., Tian, J., . . . Liu, R. H. (2021). Effects of high Hydrostatic Pressure and Thermal Processing on Anthocyanin Content, Polyphenol Oxidase and Beta-glucosidase Activities, Color, and Antioxidant Activities of Blueberry (*Vaccinium Spp.*) Puree. *Food Chemistry*, 342, 128564.
- Zhang, X.-K., He, F., Zhang, B., Reeves, M., Liu, Y., Zhao, X., & Duan, C.-Q. (2018). The Effect of Prefermentative Addition of Gallic Acid and Ellagic Acid on the Red Wine Color, Copigmentation and Phenolic Profiles during Wine Aging. *Food Research International*, 106, 568-579.
- Zhao, X., Ding, B.-W., Qin, J.-W., He, F., & Duan, C.-Q. (2020). Intermolecular Copigmentation Between Five Common 3-O-monoglucosidic Anthocyanins and Three Phenolics in Red Wine Model Solutions: The Influence of Substituent Pattern of Anthocyanin B Ring. *Food Chemistry*, 326, 126960.
- Zoecklein, B., Hodson, E., McCarthy, B., & Villient, K. (2003). Effect of Delestage on Merlot Wine Quality. 54, 139A. Abstracts for the ASEV Eastern Section 27th Annual Meeting. American Journal of Enology and Viticulture.
- Zoecklein, B., Wolf, T., Pélanne, L., Miller, M., & Birkenmaier, S. (2008). Effect of Vertical Shoot-Positioned, Smart-Dyson and Geneva Double Curtain Training Systems on Viognier Grape and Wine Composition. *American Journal of Enology and Viticulture*, 59 (1), 11-21.