



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA



Escola Tècnica Superior
d'Enginyeria Agronòmica i del Medi Natural

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica
y del Medio Natural

Estudio preliminar para la desasperización de uvas de
vinificación.

Trabajo Fin de Máster

Máster Universitario en Enología

AUTOR/A: Pedrón Barberá, Héctor

Tutor/a: García Esparza, M^a José

Cotutor/a: Aleixandre Tudó, José Luis

CURSO ACADÉMICO: 2021/2022

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR DE INGENIERÍA AGRONÓMICA Y DEL
MEDIO NATURAL



Estudio preliminar para la desasperización de uvas de vinificación

TRABAJO FIN DE MÁSTER

Máster en enología

ALUMNO: Héctor Pedrón Barberá

TUTORES: Jose Luís Aleixandre Tudó y Maria José Garcia

Curso académico 2021/2022

TÍTULO: *Estudio preliminar para la desasperización de uvas de vinificación.*

RESUMEN: Los compuestos fenólicos que encontramos en las uvas son de gran importancia para la calidad del vino, ya que son los responsables de la astringencia, del color, del amargor y de la capacidad de envejecimiento de los vinos. Entre ellos destacan los taninos, responsables de la astringencia y el amargor de los vinos y los antocianos, compuestos responsables del color rojo de los vinos tintos. El contenido de estos polifenoles en los vinos depende, entre otros factores, de la variedad de uva, de las condiciones climáticas en las que madura la uva, su grado de madurez a la hora de la vendimia o incluso las técnicas aplicadas durante la elaboración del vino.

En ocasiones es posible encontrar uvas y vinos con taninos muy astringentes y amargos, por lo que en este trabajo preliminar se van a ensayar tratamientos para modular la presencia de polifenoles en las uvas y potencialmente mejorar la calidad de los vinos. El tratamiento consiste en someter las uvas a atmósferas ricas en etanol, CO₂ o acetaldehído de forma similar al proceso de desasperización del caqui para investigar una posible hidrólisis y desactivación de los polifenoles, y más concretamente los taninos. Para ello se introdujeron las uvas en recipientes herméticamente cerrados con atmósferas saturadas. Tras un periodo de tiempo determinado se analizó la composición fenólica de las uvas para evaluar posibles cambios en la composición y contenido de estos compuestos. Este estudio preliminar podría dar lugar a una técnica alternativa para la modulación del contenido fenólico de las uvas y vinos y por lo tanto de las propiedades organolépticas de estos.

PALABRAS CLAVE: Uva, vino, astringencia, amargor, taninos.

TITLE: *Preliminary study for the astringency modulation of red wine grapes.*

ABSTRACT: The phenolic compounds found in grapes are of great importance for wine quality, as they are responsible for the astringency, colour, bitterness and ageing capacity of wines. They include tannins, which are responsible for the astringency and bitterness of wines, and anthocyanins, which are responsible for the red colour of red wines. The content of these polyphenols in wines depends, among other factors, on the grape variety, the climatic conditions in which the grapes ripen, their degree of ripeness at the time of harvesting or even the techniques applied during winemaking.

It is sometimes possible to find grapes and wines with very astringent and bitter tannins, so in this preliminary work we are going to test treatments to modulate the presence of polyphenols in grapes and potentially improve the quality of the wines. The treatment consists of subjecting the grapes to atmospheres rich in ethanol, CO₂ or acetaldehyde in a similar way to the persimmon desasperisation process to investigate possible hydrolysis and deactivation of polyphenols, and more specifically tannins. For this purpose, the grapes were placed in hermetically sealed containers with saturated atmospheres. After a certain period of time, the phenolic composition of the grapes was analysed to evaluate possible changes in the composition and content of these compounds. This preliminary study could lead to an alternative technique for modulating the phenolic content of grapes and wines and therefore their organoleptic properties.

KEY WORDS: Grape, wine, astringency, bitterness, tannins.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	3
2. OBJETIVO	6
3. MATERIALES Y MÉTODOS	7
3.1. MUESTRAS.....	7
3.2. MATERIALES Y REACTIVOS	7
3.3. DISEÑO EXPERIMENTAL	7
3.4. MÉTODOS ANALÍTICOS.....	11
3.4.1. ANÁLISIS DE TANINOS.....	11
3.4.2. ANÁLISIS DE ANTOCIANOS.....	12
3.4.3. ANÁLISIS DE POLIFENÓLES TOTALES	12
3.4.4. ANÁLISIS DE LA INTENSIDAD COLORANTE	13
3.5. ANÁLISIS DE DATOS	13
4. RESULTADOS.....	14
5. CONCLUSIONES.....	24
6. BIBLIOGRAFÍA.....	25

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Ensayo con uva Bobal. Fuente propia.....	8
Tabla 2. Ensayo con uva Cabernet Sauvignon. Fuente propia	9
Tabla 3. Vino Cabernet Sauvignon. Fuente propia	10
Tabla 4. Ensayo triturado acetaldehído. Fuente propia	10
Tabla 5. Ensayo vino acetaldehído. Fuente propia.....	11
Tabla 6. Composición de la uva. Fuente propia	14
Tabla 7. Resultados de parámetros polifenólicos en uva Bobal. Diferentes letras indican diferencias significativas al 95% de nivel de significancia. Fuente propia	15
Tabla 8. Resultados de parámetros polifenólicos en uva Cabernet Sauvignon. Diferentes letras indican diferencias significativas al 95% de nivel de significancia. Fuente propia.	17
Tabla 9. Resultados de parámetros polifenólicos en vino Cabernet Sauvignon. Diferentes letras indican diferencias significativas al 95% de nivel de significancia. Fuente propia	19
Tabla 10. Resultados de parámetros polifenólicos en la adición directa de acetaldehído en el triturado de la uva Cabernet Sauvignon. Diferentes letras indican diferencias significativas al 95% de nivel de significancia Fuente propia.	22
Tabla 11. Resultados de parámetros polifenólicos en la adición directa de acetaldehído en el vino de Cabernet Sauvignon. Diferentes letras indican diferencias significativas al 95% de nivel de significancia. Fuente propia	22

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Ilustración 1. Bote hermético. Fuente hiper montinglá	8
Ilustración 2. Taninos (mg/g) uva Bobal. Fuente propia.....	16
Ilustración 3. Antocianos (mg/g) uva Bobal. Fuente propia	16
Ilustración 4. Antocianos (mg/g) en uva Cabernet Sauvignon. Fuente propia	18
Ilustración 5. Antocianos (mg/L) en vino elaborado con uvas de la variedad Cabernet Sauvignon. Fuente propia	20
Ilustración 6. Intensidad colorante en vino elaborado con uvas de la variedad Cabernet Sauvignon. Fuente propia	21
Ilustración 7. Pigmentos poliméricos (mg/L) en vinos elaborados con uvas de la variedad Cabernet Sauvignon. Fuente propia	21

1. INTRODUCCIÓN

Las uvas y el vino tienen una vieja y larga historia en la humanidad ya que han desempeñado un papel muy profundo en nuestra cultura. Se tiene constancia de que pueblos en Babilonia ya elaboraban sus vinos alrededor de los años 3000 AC. En Egipto también se han encontrado documentos de los años 2500 AC que están relacionados con las uvas y con la elaboración de los vinos.

En los siglos XVI – XVII el cultivo de la vid se extiende por toda la península ibérica, aunque durante el siglo XIX es cuando se produjeron las innovaciones más importantes en la enología. En cuanto a la elaboración fue el siglo XX el más destacado, donde los estudios realizados por Pasteur nos llevaron a conocer las causas por las cuales el mosto de la uva se convertía en vino, lo cual fue un gran avance para la tecnología enológica (Benavent y Álvarez, 2003).

A lo largo de la historia el clima ha desempeñado un papel fundamental en el desarrollo de los cultivos. Hoy en día el clima influye en la idoneidad de un cultivo para una región determinada, controlando la producción y la calidad de estos cultivos (Jones & Webb, 2010) . En la viticultura el clima tiene gran influencia en la maduración de la uva y en la producción del estilo de vino deseado. La viticultura se lleva a cabo en zonas con características específicas y favorables para su correcto desarrollo por lo que el cambio climático amenaza con gran fuerza a los cultivos de vid. El aumento de las temperaturas y la sequía afecta al ciclo de la vid y a los compuestos presentes en la uva, entre los cuales están el azúcar, los ácidos y los compuestos fenólicos. Para hacer frente a este cambio climático existe un factor humano como es la adaptación, lo cual es de interés en este trabajo ya que se va a ensayar una técnica para poder hacer frente a los efectos que tiene el cambio climático sobre los compuestos de la uva.

La uva es el fruto producido por la vid a partir del cual obtenemos el mosto, que se convertirá en vino posteriormente. Es en la uva donde encontramos los principales compuestos que nos van a definir las características del vino elaborado. Estos compuestos van a depender de muchos factores, entre los cuales destacamos la variedad de vid, el suelo en el que está plantada, el clima en el cual madura la uva, entre otros muchos factores. El grano de uva presenta una estructura, independientemente si es blanco o tinto, formada por una capa exterior llamada hollejo, una masa interior que lo rellena denominada pulpa y un corazón en el que se encuentran las pepitas o semillas (Hidalgo, 2018).

El vino está compuesto principalmente por agua y etanol (95%) mientras que los otros componentes como los ácidos, los compuestos volátiles y los compuestos fenólicos representan menos del 5%. A pesar de tener niveles tan bajos el papel que desempeñan los compuestos fenólicos en las propiedades organolépticas y en el envejecimiento del vino es imprescindible (Aleixandre-Tudo, Buica, Nieuwoudt, Aleixandre & du Toit 2017). Los compuestos fenólicos pasan al vino tinto principalmente durante la maceración, donde están en contacto las pieles, hollejos y pulpa con el mosto.

Los compuestos fenólicos de mayor interés son los antocianos y los taninos. Los antocianos son los responsables del color, tanto del tono como de la estabilidad de este durante su envejecimiento. Los antocianos se encuentran principalmente en el hollejo de las uvas. En la *Vitis vinífera* se distinguen principalmente cinco moléculas de antocianinas: cianidina, peonidina, delphinidina, petunidina y malvidina. Estas antocianinas se combinan con otros productos del vino produciendo cambios en la saturación y en el tono del color del vino. Además del efecto sobre el color también pueden afectar a la astringencia, ya que puede formar pigmentos poliméricos que modulan la astringencia de los vinos (Casassa, & Harbertson, 2014).

Los taninos, tanto los taninos condensados derivados de la uva como los taninos hidrolizados derivados del roble, producen las diferentes sensaciones de astringencia. La astringencia corresponde a la reacción de los taninos con las proteínas de la saliva de la boca. Esta reacción entre ambos provoca la precipitación de la mucina dando la sensación de sequedad en la boca que conocemos como astringencia. Los taninos se extraen de la piel, las semillas y en menor medida de la pulpa. Estos compuestos son una clase de sustancias fenólicas que sufren cambios significativos durante la elaboración y crianza de los vinos en lo que se conoce como la conversión de taninos de uva en taninos vínicos más complejos. Las unidades que forman los taninos son la catequina, epicatequina, epigalocatequina y galato de epicatequina (Smith, McRae & Bindon, 2015). En cuanto a los taninos de los hollejos y de las pepitas existen algunas diferencias, siendo los taninos de los hollejos más polimerizados y por lo tanto menos astringentes.

Actualmente las vendimias no se desarrollan de la forma en la que los productores desean y se obtienen vendimias con una maduración deficiente. Otros factores como la mala adaptación de las variedades o problemas durante la vendimia que interfieren en la maduración de las uvas provocan la obtención de uvas de menor calidad. Debido a estos problemas se necesitan métodos para poder mejorar la calidad de las uvas y obtener un vino de calidad. El uso de atmosferas modificadas en la industria agroalimentaria está bastante extendido y permite modificar procesos como son la desverdización de cítricos o la desasperización del caqui. Someter al caqui a condiciones atmosféricas anaeróbicas provoca que los taninos solubles responsables de la astringencia son polimerizados por el acetaldehído para formar compuestos insolubles y no astringentes (Arnal & Del Rio, 2003). Estas atmosferas suelen estar saturadas con dióxido carbónico (CO_2) y con nitrógeno y, el único inconveniente es que cada cultivar va a necesitar un tiempo de tratamiento.

La atmosfera modificada con etileno se utiliza en cítricos como la naranja y la mandarina para mitigar el verdor de estos cítricos. En las frutas climatéricas el efecto del etileno es tanto a nivel del color como a nivel interno y de maduración. En estas frutas se producen cambios fisiológicos y bioquímicos como la ruptura del color, el ablandamiento de la fruta y la acumulación de azúcares (Mayuoni, Tietel, Patil, & Porat, 2011). Por el contrario, en los cítricos , frutas no climatéricas, el mayor efecto que tienen es sobre la

rotura del color, es decir, el etileno acaba con la clorofila verde por lo que el color avanza hacia el color de maduración.

En la desasperización del caqui, además de etileno también se realizan tratamientos con atmosferas saturadas en dióxido carbónico (CO₂). La astringencia de los caquis se debe a la cantidad de taninos solubles que tiene esta fruta (Yin, Shi, Min, Luo, Yao, Xu, & Chen, 2012). La desasperización va acompañada de la conversión de estos taninos solubles en taninos insolubles. El mecanismo más eficiente es el tratamiento con CO₂. Este tratamiento desencadena el metabolismo anaeróbico incluyendo la síntesis del acetaldehído. El acetaldehído es un compuesto que está directamente implicado en la insolubilización de los taninos. Además del CO₂ en los caquis se usa juntamente con el etileno, para poder aprovechar los beneficios de ambos y evitar la formación de compuestos no deseados.

En la uva hay gran cantidad de taninos que provocan la astringencia en los vinos. . La maduración deficiente de la uva por el efecto del cambio climático da lugar a una maduración fenólica deficiente. Esto provoca que, a pesar de alcanzarse la madurez tecnológica, dada por una acumulación de azúcar adecuada, los polifenoles están en forma poco polimerizada y por lo tanto proporcionan sensaciones de astringencia y amargor demasiado intensas e incluso desagradables, dando lugar a una menor calidad organoléptica de los vinos elaborados. Tratamientos para la inactivación de estos taninos podrían dar lugar a uvas capaces de dar vinos de mayor calidad, ya que se podría modular la sensación en boca del vino. El método que se plantea en este estudio es el del uso de atmosferas modificadas para modular la composición fenólica de las uvas. Basándonos en esto, en esta investigación se van a realizar pruebas en uvas sometidas a atmosferas modificadas con CO₂, etanol y acetaldehído. Estos productos pueden afectar a los compuestos fenólicos de las uvas pudiendo afectar tanto a taninos como antocianos, compuestos fenólicos muy importante en la elaboración del vino. Considerando todo lo expuesto en este trabajo se va a investigar el uso de las atmosferas modificadas para modular la composición fenólica de las uvas con diferentes grados de madurez y en los vinos elaborados a partir de ellas.

2. OBJETIVO

El principal objetivo de este estudio es el de investigar posibles cambios en la composición fenólica de uvas para vinificación sometidas a tratamientos con atmosfera modificadas. Este trabajo también pretende evaluar si los cambios observados en la uva aparecen en los vinos elaborados a partir de ellas. Además del objetivo principal, se plantean también varios objetivos parciales

- Identificación del tratamiento con un mayor efecto sobre la composición fenólica de las uvas
- Evaluación de la aplicación de los tratamientos sobre la composición fenólica en uvas y vinos
- Estudio de la capacidad del tratamiento para modificar la concentración y composición fenólica de vinos elaborados con uvas con distinto grado de madurez

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. MUESTRAS

El presente trabajo ha utilizado dos variedades diferentes de uva como son Bobal y Cabernet Sauvignon. Estas uvas procedían de la parcela experimental de la “Finca de los Coloraos” situada en la carretera Requena-Villar de los Olmos, Km 2,7. Las uvas fueron vendimiadas a mano en cajas de 15 kilos y posteriormente congeladas. Se utilizaron 24 muestras de 50 gr de uva Bobal y 12 muestras de Cabernet Sauvignon de 500 gr. Las muestras de Cabernet Sauvignon se diferencian en dos grupos de 6 muestras, 6 muestras son de Cabernet Sauvignon vendimiadas el 9 de septiembre de 2021 (“Verde”) y 6 muestras son vendimiadas tres semanas después, el 30 de septiembre de 2021 (“Maduro”).

3.2. MATERIALES Y REACTIVOS

Las medidas espectrofotométricas se llevaron a cabo con un espectrofotómetro de ultravioleta visible Thermo Scientific type Helios Zeta UV-Vis (Waltham, U.S.A.), con cubetas de cuarzo de 10 x 1 mm y 10 x 10 mm JASCO (Tokyo, Japan) para las mediciones. Los triturados se realizaron mediante el homogeneizador ULTRA-TURRAX T25 (Janke & Kunkel, Alemania).

Los análisis en el laboratorio se realizaron con los reactivos: ácido clorhídrico HCl 36.5%, (Baker Analyzed® A.C.S. Reagent J.T. Baker®, Phillipsburg, U.S.A.); etanol 96%, (EPR Ph.Eur. Labbox Labware, S.L., Vilassar de Dalt, España); hidrogeno sulfito sódico SO₃HNa 38% (v.p. Chem-Lab NV, Zedelgem, Belgium); sulfato amonio (PanReac AppliChem ITW Reagents, Chicago, U.S.A.); metilcelulosa (SIGMA-ALDRICH®, Saint Louis, U.S.A.); acetaldehído (Merck Schuchardt OHG, Hohenbrunn, Germany) y agua destilada. Para llevar a cabo los protocolos de análisis correctamente se utilizaron Pipetas VWR Ergonomic High-Performance, 20-200 µL, 100– 1,000 µL, 1-5ML (Radnor, U.S.A.) y la báscula de precisión Ohaus® Adventurer® Analytical Balance (Saint Louis, U.S.A.).

3.3. DISEÑO EXPERIMENTAL

Los primeros ensayos se realizaron con la uva Bobal. En primer lugar, se procedió al despalillado manual de la uva. Una vez la uva estaba despalillada se pesaron 50 gramos de esta para colocarla en un bote hermético de cristal de 2 litros. Siguiendo este procedimiento realizamos 8 tratamientos por triplicado de 50 gramos de uva. (**Figura 1**).



Ilustración 1. Bote hermético. Fuente hiper montinglá

Las atmosferas se modificaron con etanol, acetaldehído y nieve carbónica. Para crear las atmosferas modificadas se colocó un vaso de precipitados con los diferentes tratamientos dentro de los botes de dos litros, cerrándose de forma hermética. El bote se cierra con su tapa y se aplica una capa de Parafilm para mantener la hermeticidad. Para los tratamientos con etanol, acetaldehído y nieve carbónica se utilizaron 2 mL, 1 mL y 100 gramos, respectivamente. Además, se realizó un tratamiento control sin modificación de la atmosfera. Los tratamientos mencionados se prolongaron durante un día o siete días para evaluar un posible efecto de la duración del tratamiento en la efectividad de este (**Tabla 1**).

Código	Peso de uva	Tratamiento	Cantidad	Tiempo de tratamiento	Replicados
T1_Control_1D	50 gr	Control	-	1 día	3
T2_Control_7D	50 gr	Control	-	1 semana	3
T3_Acetal_1D	50 gr	Acetaldehído	1 mL	1 día	3
T4_Acetal_7D	50 gr	Acetaldehído	1 mL	1 semana	3
T5_EtOH_1D	50 gr	Etanol	2 mL	1 día	3
T6_EtOH_7D	50 gr	Etanol	2 mL	1 semana	3
T7_CO2_1D	50 gr	Nieve carbónica	100 gr	1 día	3
T8_CO2_7D	50 gr	Nieve carbónica	100 gr	1 semana	3

Tabla 1. Ensayo con uva Bobal. Fuente propia

Transcurrido el tiempo de tratamiento se sacaron los 50 gramos y se trituraron por separado utilizando un homogeneizador ULTRA-TURRAX T25 (Janke &Kunkel, Alemania). El triturado se guardó congelado en tubos de centrifuga de plástico de 15 mL.

Para el análisis de la concentración fenólica de la uva es necesario la extracción de estos compuestos en fase líquida. A 1 gramo de triturado y se añadieron 10 mL de una solución

de etanol al 50% ajustada a pH2. Una vez homogeneizada la muestra se deja extraer durante una hora. Posteriormente se centrifuga el extracto durante 10 minutos a una velocidad de 400 rpm. El sobrenadante contiene el extracto fenólico que se analizó posteriormente. Las extracciones se realizaron en triplicado.

Con los resultados obtenidos de esta experiencia preliminar se realizó un segundo ensayo con la uva Cabernet Sauvignon vendimiada a dos estados diferentes de maduración, con tres semanas de diferencia. Para este análisis se realizó un único tratamiento con acetaldehído. La experiencia se realizó con 500 gramos de uvas de Cabernet Sauvignon despalladas a mano. La dosis utilizada en este caso fue de 1 mL que se colocó en un vaso de precipitados en el interior del bote. Los botes se cerraron herméticamente y se colocó Parafilm en la tapa para mantener la hermeticidad. El experimento incluye también un tratamiento control (**Tabla 2.**)

Uva	Peso de uva	Tratamiento	Cantidad	Tiempo de tratamiento	Replicados
Cabernet "Verde"	500 gramos	Control	-	1 día	3
Cabernet "Verde"	500 gramos	Acetaldehído	1 mL	1 día	3
Cabernet "Maduro"	500 gramos	Control	-	1 día	3
Cabernet "Maduro"	500 gramos	Acetaldehído	1 mL	1 día	3

Tabla 2. *Ensayo con uva Cabernet Sauvignon. Fuente propia*

Una vez transcurridas 24 horas, una submuestra de 50 bayas de cada tratamiento se trituró por separado utilizando el homogeneizador ULTRA-TURRAX T25. Los triturados se guardan congelados en tubos de centrifuga de plástico de 15 mL. El resto de las uvas se destinó a la elaboración de vino.

Para el análisis de la concentración fenólica de la uva es necesario la extracción de estos en fase líquida tal y como se ha explicado anteriormente. Brevemente, la extracción de 1 gramo de triturado se realizó en 10 mL de una solución de etanol al 50% ajustada a pH2 durante una hora. Posteriormente, el extracto se obtiene por centrifugación. Las extracciones se realizaron en triplicado.

Para la elaboración del vino primero se estruja la muestra y se coloca en botes de cristal de 1 L. Para poder elaborar el vino se procedió a la siembra de levaduras y a la adición de metabisulfito para evitar contaminaciones. En cada muestra hay alrededor de 0.5L de uva/mosto. Para los tratamientos realizados se utilizaron 2.4 g de levadura *Saccharomyces cerevisiae* (EnartisFERM, Navarrete, España). Estos 2.4 gramos se mezclan con 10 veces su peso en agua destilada, por lo que se obtienen 24 mL de siembra. Por cada tratamiento se añaden 2 mL de esta siembra. Además, se utilizó una

dosis de 50ppm de metabisulfito por cada muestra. Las muestras permanecen en fermentación durante 12 días, realizándose hundimientos del sombrero diariamente. **(Tabla 3).**

Uva	Cantidad de siembra	Cantidad de metabisulfito	Tiempo de fermentación	Replicados
Cabernet "Verde" control	2 mL	50 ppm	12 días	3
Cabernet "Verde" tratamiento	2 mL	50 ppm	12 días	3
Cabernet "Maduro" control	2 mL	50 ppm	12 días	3
Cabernet "Maduro" tratamiento	2 mL	50 ppm	12 días	3

Tabla 3. *Vino Cabernet Sauvignon. Fuente propia*

Transcurridos los 12 días de fermentación se prensan las muestras de forma manual para obtener el vino. El vino se guardó congelado en tubos de centrifuga de plástico de 50 mL. Estas muestras de vino se centrifugan a 4000 rpm durante 10 minutos previamente a su análisis.

Para finalizar, el último experimento que se realizó fue con las muestras control de la uva y del vino elaborado con Cabernet Sauvignon. Por un lado, de cada muestra de triturado se sacan 10 gramos. A cada una de estas muestras se le añaden directamente 20 microlitros de acetaldehído y se homogeniza. El volumen de acetaldehído incorporado se calculó para mantener la concentración que se utilizó en los tratamientos del experimento anterior. Para el análisis de la concentración fenólica de la uva se utilizó el mismo procedimiento que el utilizado en los experimentos anteriores. **(Tabla 4).**

Uva	Peso muestra	Tratamiento	Cantidad	Replicados
Triturado control Cabernet "Verde"	10 gramos	Acetaldehído	20 microlitros	3
Triturado control Cabernet "Maduro"	10 gramos	Acetaldehído	20 microlitros	3

Tabla 4. *Ensayo triturado acetaldehído. Fuente propia*

Por otro lado, se utilizan las muestras control de vino elaborado con la uva Cabernet Sauvignon. De cada muestra se sacan 7.5 mL de vino. En este caso se utiliza esta cantidad porque se tiene en cuenta que por término medio se obtiene un 75% de rendimiento de la uva para obtener vino. A cada una de estas muestras se le añade directamente 20 microlitros de acetaldehído y se homogeniza. Para el análisis de las concentraciones fenólicas las muestras se centrifugan a una velocidad de 400 rpm durante 10 minutos (Tabla 5).

Uva	Peso muestra	Tratamiento	Cantidad	Replicados
Vino control Cabernet "Verde"	7.5 mL	Acetaldehído	20 microlitros	3
Vino control Cabernet "Maduro"	7.5 mL	Acetaldehído	20 microlitros	3

Tabla 5. *Ensayo vino acetaldehído. Fuente propia.*

3.4. MÉTODOS ANALÍTICOS

3.4.1. ANÁLISIS DE TANINOS

Análisis de taninos por metilcelulosa. El método hace uso de la capacidad de la metilcelulosa para precipitar los taninos del vino. La concentración de taninos se obtiene mediante comparación de una muestra control y una muestra en la que el tanino se ha precipitado (Sarneckis et al., 2006). Para ello, en el control se añaden 0.05 mL del extracto fenólico o vino, 0.4 mL de sulfato amónico en solución y 1.55 mL de agua destilada. Para el tratamiento, a 0.6 mL de solución de metilcelulosa se añaden a 0.05 mL de extracto fenólico. Después de 2-3 minutos se añaden 0.4 mL de solución de sulfato amónico y hasta el volumen de 2 mL de agua destilada (0.95 mL). Una vez transcurridos 10 minutos ambas muestras se centrifugan a 400 rpm durante 10 minutos. Posteriormente a la centrifugación se midió la absorbancia 280 nm en un espectrofotómetro ultravioleta visible Thermo Scientific type Helios Zeta UV-Vis (Waltham, U.S.A.), con cubetas cuarzo de 10 mm de paso óptico. La concentración de taninos se obtuvo como la diferencia entre el control y con el uso de una curva de calibrado con epicatequina.

$$\text{Absorbancia final} = \text{Abs control} - \text{Abs tratamiento}$$

La solución de metilcelulosa (0.4g/L) se preparó en un matraz volumétrico con un tercio de su volumen con agua destilada a 80°C. Una vez disuelta la metilcelulosa en agitación se enrasa con agua destilada a 0°C. Para la solución de sulfato amónico se utiliza un volumen de agua cualquiera y se va añadiendo sulfato amónico (PANREAC) hasta conseguir una solución saturada.

3.4.2. ANÁLISIS DE ANTOCIANOS

La determinación de antocianos coloreados se lleva a cabo por el método de blanqueo con bisulfito de sodio (Ribéreau-Gayon y Stonestreet, 1965; Ribéreau-Gayon, 1979). Este método se basa en la decoloración de los antocianos utilizando SO₂. Para la disolución de SO₃HNa al 15%, en un matraz aforado de 250 mL se añaden 96.1 mL de hidrogeno sulfito al 39% y se enrasa con agua destilada. El segundo reactivo utiliza una disolución de HCl al 2% donde en un matraz aforado de 500 mL se añaden 28.6 mL de HCl 35% y se enrasa con agua destilada. El tercer reactivo es una disolución de etanol-HCl 0.1%. En un matraz aforado de 250 mL se añaden 0.7 mL de HCl 35% y se enrasa con etanol 96% (Labkem). Una vez se dispone de los reactivos preparados se elabora una solución A para cada muestra. Esta solución A esta compuesta por 0.5 mL de la solución de etanol-HCl 0.1% a la que se añade 10 mL de la solución de HCl 2% y 0.5 mL de la muestra. A partir de esta solución A se prepara el control (Tubo A) y el tratamiento (Tubo B). En este caso se preparan por duplicado los tubos A y los tubos B. En el tubo A se añaden 2.5 mL de la solución A y 1 mL de agua destilada. En el tubo B se añade 2.5 mL de la solución A y 1 mL de la solución de SO₃HNa 15%. Para analizar los resultados en el espectrofotómetro el tubo B debe permanecer en reposo 20 minutos para que se produzca la decoloración de los antocianos. Estas muestras se leen en un espectrofotómetro ultravioleta visible Thermo Scientific type Helios Zeta UV-Vis (Waltham, U.S.A.), y utilizando cubetas de cuarzo 10 x 10 mm en una longitud de onda de 520 nm.

Antocianos en uva (mg/g) = ((Tubo A- Tubo B) x 27 x 10.5 x 1000) / 500 x 100 x Peso de uva utilizado en el extracto.

Antocianos (mg/g): (Tubo A – Tubo B) x 875

3.4.3. ANÁLISIS DE POLIFENÓLES TOTALES

Para la determinación del índice de polifenoles totales se utiliza el método de Ribéreau-Gayon (1979). Este método consiste en diluir el vino o el extracto fenólico con agua destilada y medir la absorbancia a una longitud de onda de 280 nm. En un tubo de ensayo se coloca 0.1 mL de la muestra y se añaden 4.9 mL de agua destilada (factor de

dilución de 50). Las muestras se miden en un espectrofotómetro ultravioleta visible Thermo Scientific type Helios Zeta UV-Vis (Waltham, U.S.A.) y utilizando cubetas de cuarzo de 10 x 10 mm. El resultado se obtiene:

$$\text{IPT DE LA SOLUCIÓN} = \text{Abs } 280\text{nm} \times \text{factor de dilución}$$

3.4.4. ANÁLISIS DE LA INTENSIDAD COLORANTE

Para realizar el análisis de la intensidad colorante (Glories, 1978), se parte del vino centrifugado. Una vez se tiene el vino limpio se coloca en una cubeta de cuarzo de 1 x 1mm. Esta cubeta se lleva a un espectrofotómetro ultravioleta visible Thermo Scientific type Helios Zeta UV-Vis (Waltham, U.S.A.) y se mide en método fijo a longitudes de onda de 420nm, 520nm y 620nm, con agua destilada como blanco de referencia. El resultado se obtiene:

$$\text{Intensidad Colorante} = (\text{Abs } 420\text{nm} + \text{Abs } 520\text{nm} + \text{Abs } 620\text{nm}) \times 10$$

3.5. ANÁLISIS DE DATOS

Una vez obtenidos los datos de los análisis en el laboratorio por los métodos de referencia, estos se exportaron a Excel. Estos datos se analizaron estadísticamente utilizando un análisis de varianza (ANOVA) para estudiar los diferentes efectos que provocan los tratamientos sobre los compuestos fenólicos de las uvas.

El análisis ANOVA se utiliza para comparar la varianza entre las medias de diversos grupos. Para ello se utilizó el software R (versión R i386 4.1.3) y R studio (versión 2021.09.0 Build 351). Para evaluar diferencias significativas entre los tratamientos se realizaron ANOVA unidireccional (one-way) junto con pruebas post hoc con el test de Tukey.

ANOVA constituye la herramienta básica para el estudio del efecto de uno o varios factores sobre la media de una variable continua. Por lo tanto, se trata de un test estadístico a emplear cuando se desea comparar las medias de dos o más grupos. La hipótesis de la que parten los diferentes tipos de ANOVA es que la media de la variable estudiada es la misma para todos los grupos a estudiar. El funcionamiento básico de ANOVA consiste en calcular la media de cada uno de los grupos para a continuación comparar la varianza de estas medias frente a la varianza promedio dentro de los grupos.

4. RESULTADOS

En este apartado se muestran los resultados de los diferentes experimentos realizados junto con el tratamiento estadístico de los datos. En primer lugar, se realizó el análisis de los parámetros enológicos básicos de las uvas Bobal y Cabernet Sauvignon vendimiados en dos fechas distintas (**Tabla 6**).

UVA	pH	TA g/L tartárico	°Brix
CS Verde	3,65	6,375	23
CS Maduro	3,81	5,7	26,2
Bobal Verde	3,56	4,65	21,5
Bobal Maduro	3,93	4,125	22,6

Tabla 6. *Composición de la uva. Fuente propia*

Como se observa en la tabla se utilizan dos estados de maduración de la misma uva. En cuanto a la uva Bobal se observan menos diferencias entre los dos estados de madurez que en el caso de la uva Cabernet Sauvignon. En ambos casos el pH aumenta con el grado de maduración, el ácido tartárico disminuye y los grados Brix aumentan. El pH aumenta durante la maduración ya que los ácidos se degradan, perdiéndose acidez, tal y como se ve en el caso del ácido tartárico. La uva se vuelve menos ácida y más dulce, por el mismo modo, al volverse más dulce se entiende el aumento en el caso de los grados Brix.

En la tabla 7 se muestran los resultados de los análisis fenólicos tras los tratamientos del primer ensayo en el que las uvas se sometieron a tratamientos con atmósferas modificadas de acetaldehído, etanol y dióxido carbónico. El tratamiento se mantuvo durante 1 día o durante 7 días.

	Taninos (mg/g)	Antocianos (mg/g)	Indice de Polifenoles Totales
T1_Control_1D	4,80 ± 0,46 b	1,05 ± 0,08 cd	14,03 ± 0,89 b
T2_Control_7D	4,47 ± 0,58 b	0,55 ± 0,03 b	16,50 ± 0,81 c
T3_Acetal_1D	0,94 ± 0,25 a	0,25 ± 0,02 a	9,59 ± 0,11 a
T4_Acetal_7D	0,68 ± 0,35 a	0,21 ± 0,03 a	10,92 ± 0,14 a
T5_EtOH_1D	4,57 ± 0,49 b	1,24 ± 0,13 d	16,46 ± 1,04 c
T6_EtOH_7D	5,65 ± 0,61 c	0,98 ± 0,12 cd	19,61 ± 0,93 d
T7_CO2_1D	5,13 ± 0,68 bc	1,25 ± 0,12 d	18,64 ± 1,54 d
T8_CO2_7D	6,61 ± 0,78 d	1,17 ± 0,30 cd	21,35 ± 1,65 e

Tabla 7. Resultados de parámetros polifenólicos en uva Bobal. Diferentes letras indican diferencias significativas al 95% de nivel de significancia. Fuente propia

Empezando por el tratamiento realizado durante un día se pueden ver algunos datos de gran interés. En cuanto a los taninos, se observan grandes variaciones en el tratamiento con acetaldehído. Comparando las cantidades del control con las cantidades del tratamiento con acetaldehído vemos que hay una bajada considerable y estadísticamente significativa. Pasa de unas cantidades de 4.8 mg/g a 0.94 mg/g. Por el contrario, en el resto de los tratamientos se observa que no hay diferencias significativas. Al mismo tiempo, los tratamientos durante siete días muestran los mismos resultados, es decir, los cambios más significativos se encuentran en el tratamiento con acetaldehído. Las cantidades en el tratamiento de acetaldehído durante siete días pasan de 4.47 mg/g a 0.68 mg/g. **(Figura 2).**

Por otra parte, se observan cambios significativos en la concentración de taninos en los tratamientos con etanol y con CO₂ a los siete días. Estos cambios se pueden deber a una posible actividad enzimática o a una degradación de las paredes de las células por prolongar el tratamiento, donde la pared celular se hace más porosa y hay más extracción. La pared celular de la uva está formada por microfibrillas de celulosa unidas por una matriz de xiloglucano, manano, xilano (hemicelulosa) y pectina, todo ello estabilizado por una red de proteínas (Claus & Mojsov, 2018).

Así pues, las paredes celulares de las bayas de uva experimentan una degradación progresiva de su capa de pectina durante la maceración y la fermentación. Esta degradación de la pectina provoca una mayor difusión de los compuestos fenólicos al mosto o al vino. Esto se ve favorecido en el caso de la adición de enzimas comerciales. (Garrido-Banuelos, Buica, Schüchel, Zietsman, Willats, Moore & Du Toit, 2019).

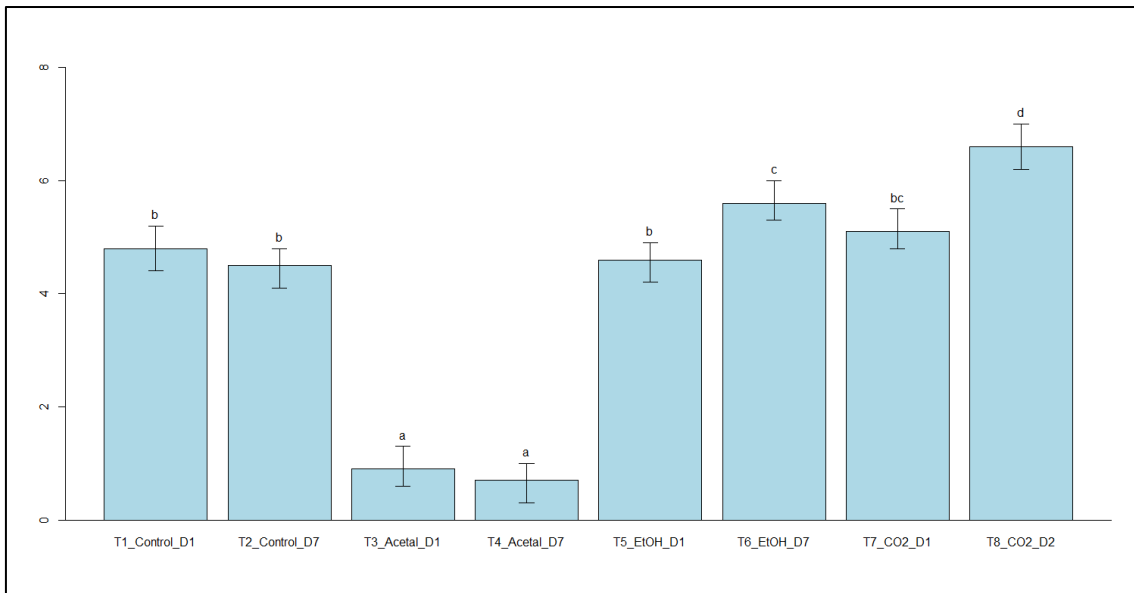


Ilustración 2. Taninos (mg/g) uva Bobal. Fuente propia

Siguiendo con los antocianos se vuelven a observar cambios significativos en el tratamiento con acetaldehído. El tratamiento durante un día pasa de 1.05 mg/g en el control a 0.25 mg/g en el caso del acetaldehído. Por otro lado, en el tratamiento con acetaldehído durante siete días la cantidad pasa de 0.55 mg/g en el control a 0.21 mg/g en el tratamiento. Del resto de las atmósferas saturadas se observan cambios en el caso del etanol y del dióxido carbónico durante 7 días. En este caso se observa un aumento de las cantidades en ambos casos. De igual modo que en los taninos, este efecto puede ser causa de prolongar el tiempo de tratamiento, lo cual provoca una degradación de las paredes celulares y una mayor difusión de los antocianos al mosto. Las paredes celulares de la piel forman una barrera contra la difusión de estos compuestos, por lo que una degradación de estas paredes puede ser favorable para la extracción de los compuestos (Romero-Cascales, Ros-García, López-Roca & Gómez-Plaza, 2012). **(Figura 3).**

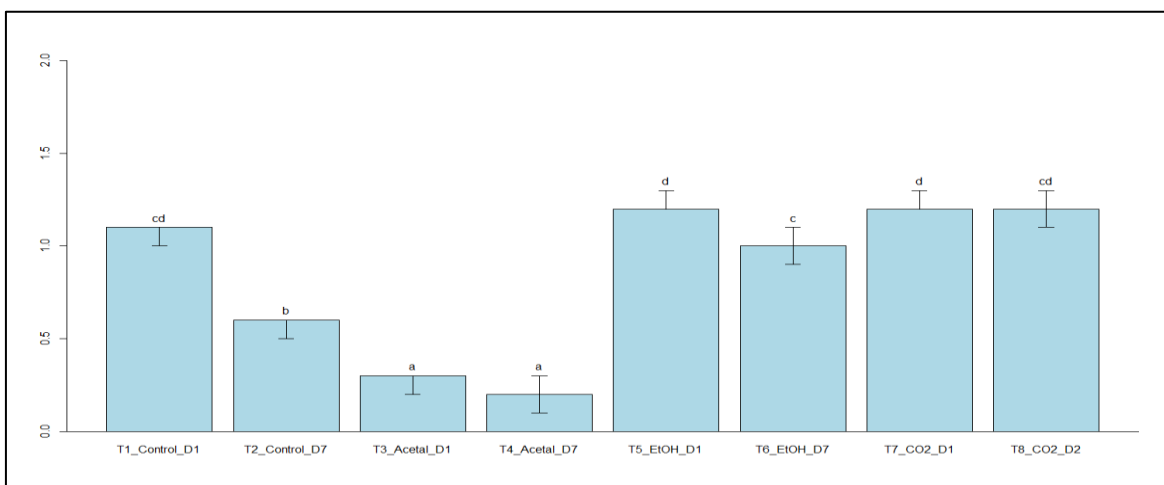


Ilustración 3. Antocianos (mg/g) uva Bobal. Fuente propi

Al igual que en los dos anteriores los cambios más significativos se producen en el tratamiento con acetaldehído para los polifenoles totales. En el caso de un día de tratamiento las cantidades bajan 4.44 unidades , mientras que en el caso de siete días de tratamiento las cantidades bajan 5.58 unidades. Similarmente a los taninos y a los antocianos el índice de polifenoles totales incrementa significativamente para los tratamientos con etanol y CO₂. En el caso de nuestro estudio se busca reducir las concentraciones de compuestos fenólicos, aunque este efecto puede ser de interés ya que se produce un aumento de las cantidades de polifenoles totales.

En el contexto de estos resultados hay que tener en cuenta que se partió de uvas congeladas y que las uvas frescas con las células intactas podrían dar lugar a resultados diferentes. Es posible que al estar las células muertas las uvas no reaccionen de igual forma a los tratamientos. En estos casos parece que los tratamientos favorecen la extracción en vez de degradar los compuestos polifenólicos que es lo que se buscaba con estos tratamientos. En el caso de las frutas como el caqui, estos tratamientos de las atmósferas saturadas se realizan con frutas frescas, las cuales tienen sus células vivas. El hecho de congelar las uvas puede que tenga un efecto contrario al cual se busca y al cual se produce en las frutas frescas

Respecto al efecto observado para el tratamiento con acetaldehído, este compuesto actúa como puente para formar taninos modificados, los cuales son menos astringentes. Algunos estudios han usado acetaldehído exógeno para fomentar la modificación de los taninos. El uso de acetaldehído en una fase temprana puede promover la estabilidad del color y la disminución de la astringencia (Sheridan & Elias, 2015). Con los resultados obtenidos y la bibliografía existente se decidió centrar el estudio únicamente en el tratamiento con acetaldehído.

Para este segundo ensayo se utilizó la variedad Cabernet Sauvignon y el tratamiento con atmosferas saturadas con acetaldehído con una duración del tratamiento de un día (**Tabla 8**). Se decidió un día de tratamiento ya que las diferencias de las cantidades que existen entre un día y una semana no fueron significativas.

	Taninos (mg/g)	Antocianos (mg/g)	Indice de Polifenoles Totales
T1_Control_V	6,95±1,19b	1,27±0,11b	29,92±1,58c
T2_Control_M	8,71±0,46c	1,35±0,07b	31,84±1,68d
T3_Acetal_V	7,53±0,45b	0,81±0,04a	24,19±0,46a
T4_Acetal_M	5,52±0,33a	0,75±0,07a	27,53±1,30b

Tabla 8. Resultados de parámetros polifenólicos en uva Cabernet Sauvignon. Diferentes letras indican diferencias significativas al 95% de nivel de significancia. Fuente propia.

En cuanto a los taninos se observa un cambio más significativo en la uva Cabernet Sauvignon más madura en comparación con la uva Cabernet Sauvignon más verde. En la uva madura la cantidad de taninos baja 3.19 mg/g. Por el contrario, en la uva menos madura no se aprecian diferencias significativas. En cuanto a los antocianos se observa que no hay diferencias significativas entre las uvas más verdes y las uvas más maduras, pero si existen cambios entre el control y el tratamiento. En el caso de la uva verde las cantidades bajan de 1.27 mg/g a 0.81 mg/g, mientras que en la uva más madura la cantidad baja de 1.35 mg/g a 0.75 mg/g (**Figura 4**).

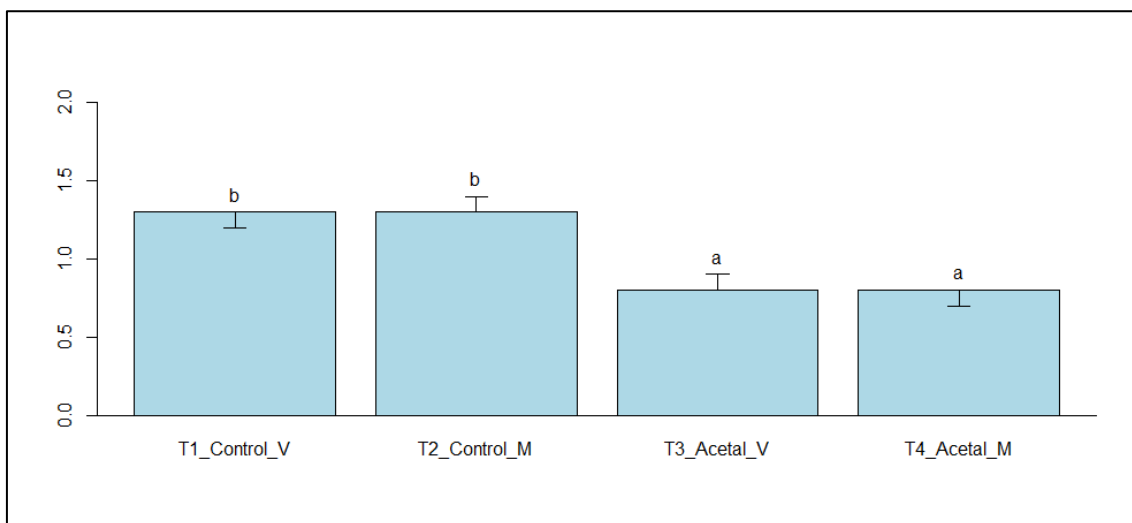


Ilustración 4. Antocianos (mg/g) en uva Cabernet Sauvignon. Fuente propia

Para acabar con este ensayo se aprecian algunos cambios significativos en cuanto a los polifenoles totales. En ambas uvas bajan las cantidades, pero de forma muy sutil. Por el momento el tratamiento con atmosfera saturada con acetaldehído afecta a los antocianos y polifenoles totales y a los taninos en el caso de la uva más madura. Como se observa, hay mayores diferencias de taninos en la uva más madura que en la uva más verde. Se podría pensar que esto se debe a la naturaleza de los taninos, los cuales en la uva más verde son menos polimerizados y el acetaldehído no puede hidrolizarlos. Con la maduración de la uva, al igual que en el caqui, los taninos se vuelven más solubles, por lo que el acetaldehído puede tener mayores efectos sobre este, disminuyendo en mayor cantidad (Tessmer, Besada, Hernando, Appezzato-da-Gilória, Quiles & Salvador, 2016).

Siguiendo con esta variedad se analizaron los vinos elaborados con la uva Cabernet Sauvignon, tanto con la uva más verde como con la uva más madura para evaluar si los resultados observados en el análisis de los extractos fenólicos de las uvas se continúan observándose en el vino. (**Tabla 9**).

Para elegir la dosis de acetaldehído se realizó un experimento previo utilizando diferentes dosis tanto de acetaldehído como de metabisulfito potásico. Se realizaron tres experimentos con dosis diferentes para ver en cuál de ellos la fermentación se

llevaba a cabo correctamente. Un primer ensayo utilizó 5 mL de acetaldehído con 60 partes por millón de metabisulfito potásico. El segundo ensayo utilizó 1 mL de acetaldehído con 30 partes por millón de metabisulfito potásico. Y el último ensayo utilizó 1 mL de acetaldehído con 60 partes por millón de metabisulfito potásico. En el primer ensayo y en el segundo se observó que la fermentación no se desarrollaba correctamente, incluso no llegó a acabar de producirse. Esto podría deberse a la toxicidad del acetaldehído y a las combinaciones que se producen entre el acetaldehído y el sulfuroso. (Sheridan & Elias, 2016). Altas cantidades de acetaldehído inhibe las levaduras y no desarrollan la fermentación correctamente. Si en el mismo medio se encuentran cantidades de sulfuroso, el acetaldehído se une a este y por lo tanto no afecta de forma tan brusca a las levaduras. (Coetzee, Buica & Du Toit, 2018).

Con estos efectos, se decidió elaborar los vinos con 1 mL de acetaldehído y una concentración de metabisulfito de 50 partes por millón. De este modo la fermentación se desarrolló de forma correcta. Una vez realizada la fermentación se debe realizar un análisis de la cantidad de acetaldehído en el vino. En este caso al tratarse de un estudio preliminar este análisis se pospone para otros trabajos posteriores.

	Taninos (mg/L)	Antocianos (mg/L)	Indice de Polifenoles Totales	Intensidad Colorante	Pigmentos polimericos (mg/L)
T1_Control_V	1914,07 ± 65,62 b	807,68 ± 14,73 c	63,05 ± 1,62 b	16,6 ± 0,1 c	95,58 ± 2,24 a
T2_Acetal_V	987,12 ± 26,25 a	211,44 ± 5,47 a	48,24 ± 1,11 a	10,3 ± 0,00 a	135,01 ± 1,06 c
T3_Control_M	1865,68 ± 109,51 b	1005,65 ± 22,27 d	72,61 ± 3,69 c	18,0 ± 0,1 d	118,07 ± 1,66 b
T4_Acetal_M	848,35 ± 61,76 a	256,78 ± 5,78 b	50,67 ± 1,23 a	12,0 ± 0,00 b	200,16 ± 6,32 d

Tabla 9. Resultados de parámetros polifenólicos en vino Cabernet Sauvignon. Diferentes letras indican diferencias significativas al 95% de nivel de significancia. Fuente propia

Respecto a los taninos se observan bajadas significativas en ambos vinos. Al contrario que con la uva, en el caso del vino tanto en el vino con uva más verde y en el vino con uva más madura se observan bajadas significativas. En ambos vino se observan bajadas entorno a los 1000 mg/L, cantidades de gran interés. Los cambios en los taninos tanto en la uva y en el vino se pueden deber a la capacidad de insolubilizarlos por parte del acetaldehído, tal y como se ha mencionado en este trabajo. También podrían deberse a algún error analítico, ya que los análisis se realizaron durante días distintos, lo cual puede afectar a los resultados obtenidos.

Por otra parte, en el caso de los antocianos también se observan reducciones significativas. Las cantidades en ambos casos pasan de unos 800-1000 mg/L hasta unos 200-250 mg/L. Estos cambios pueden estar relacionados con las polimerizaciones y la estabilización de los antocianos. Estos se combinan con taninos para estabilizarse, o por el contrario insolubilizarse con los taninos (**Figura 5**). Una disminución de los taninos

puede provocar una disminución de los antocianos, ya que ambos se combinan (Nel, van Rensburg & Lambrechts, 2014).

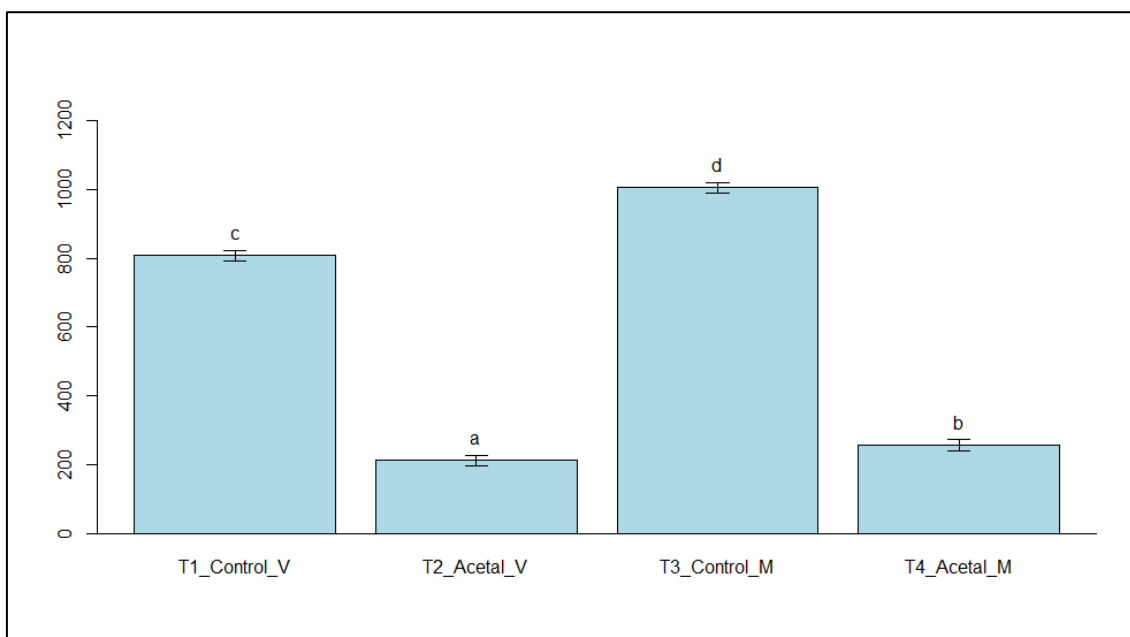


Ilustración 5. Antocianos (mg/L) en vino elaborado con uvas de la variedad Cabernet Sauvignon. Fuente propia

Al igual que en el resto de los ensayos, los polifenoles totales sufren bajadas significativas. Por otra parte, un aspecto que se ha analizado únicamente en vinos es la intensidad colorante. En ambos vinos se observa una bajada de la intensidad colorante. En el vino más verde la intensidad colorante pasa de 16.6 a 10.3, mientras que en el vino de uvas más maduras la intensidad colorante pasa de 18.0 a 12.0 (**Figura 6**). Estos cambios pueden ir relacionados con la formación de pigmentos poliméricos. La formación de estos compuestos mediados por el acetaldehído da lugar a moléculas con gran estabilidad e intensidad del color. Estos pigmentos tienen la capacidad de que, aunque la concentración de antocianos disminuya el vino no pierde tanto color. Este efecto se puede ver más claramente en el envejecimiento del vino en barrica. (Aleixandre-Tudo & Du Toit, 2020). Al contrario, tal y como se ha indicado con anterioridad, la insolubilización de los taninos podría afectar también a los antocianos que se habían unido a estos, provocando una bajada de la intensidad colorante.

En cambio, se observa como los pigmentos poliméricos aumentan en ambos vinos (**Figura 7**). Se sabe que el acetaldehído acelera la formación de estos pigmentos poliméricos. Este aumento de los compuestos poliméricos podría explicar también la bajada en la intensidad colorante, ya que a mayor grado de polimerización se vuelven más insolubles y pueden acabar precipitando y formando depósitos de materia colorante. Estos pigmentos poliméricos se unen a otros compuestos del vino como los

polisacáridos, aumentando su tamaño produciéndose su precipitación. (Pittari, Catarino, Andrade, Ricardo-da-Silva, 2018).

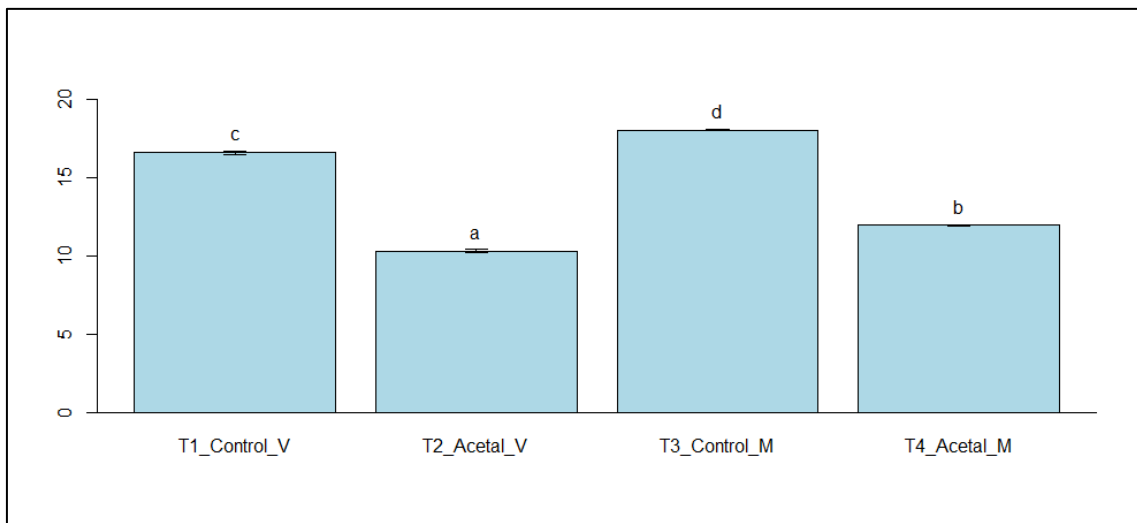


Ilustración 6. *Intensidad colorante en vino elaborado con uvas de la variedad Cabernet Sauvignon. Fuente propia*

Como se puede observar en la ilustración 6 la intensidad colorante va relacionada directamente con la maduración de la uva. Un aumento de la maduración provoca una mayor intensidad colorante. Los antocianos, principales responsables del color del vino aumentan con la maduración. Además, con la maduración se produce una degradación de las paredes celulares lo cual favorece la difusión de los compuestos fenólicos. Al encontrarse más compuestos fenólicos estos pueden reaccionar entre ellos y estabilizar el color del vino. (Garrido-Banuelos, Buica, Schückel, Zietsman, Willats, Moore & Du Toit, 2019).

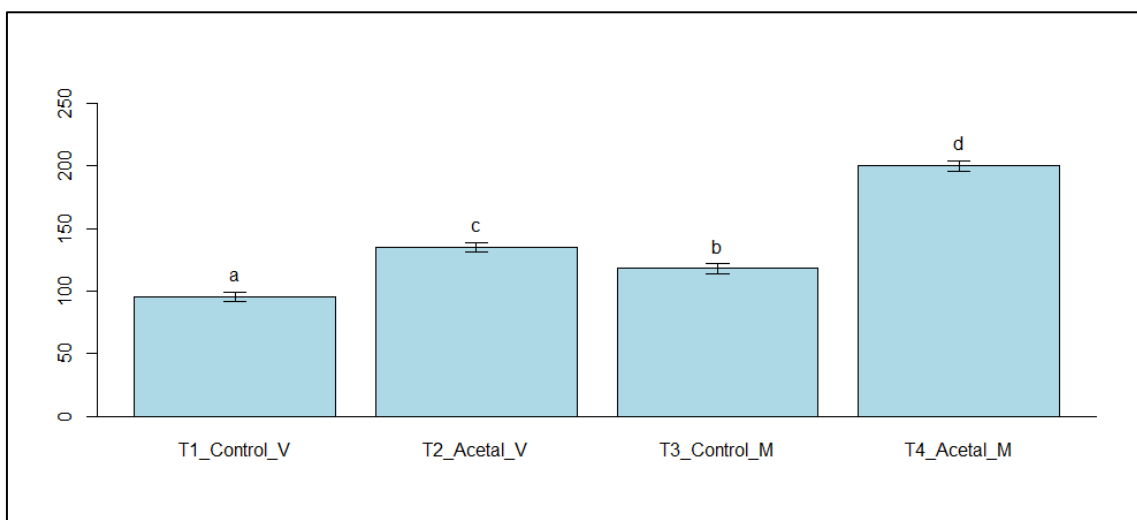


Ilustración 7. *Pigmentos poliméricos (mg/L) en vinos elaborados con uvas de la variedad Cabernet Sauvignon. Fuente propia*

Para descartar que el efecto del acetaldehído no se deba simplemente a una condensación de este, incorporándose posteriormente a las uvas o el vino, se realizaron dos experimentos. Estos ensayos consisten en añadir el acetaldehído en forma líquida directamente sobre el triturado de uva Cabernet Sauvignon y sobre el vino de Cabernet Sauvignon. De este ensayo se obtienen los resultados de las Tablas 10 y 11.

	Taninos (mg/g)	Antocianos (mg/g)	Indice de Polifenoles Totales
T1_Control_V	6,95 ± 1,19 a	1,27 ± 0,11 a	29,92 ± 1,58 a
T2_Control_Acetal_V	10,74 ± 0,44 c	1,26 ± 0,02 a	42,24 ± 2,45 b
T3_Control_M	8,71 ± 0,46 b	1,35 ± 0,07 a	31,84 ± 1,68 a
T4_Control_Acetal_M	9,84 ± 0,77 bc	1,30 ± 0,10 a	41,63 ± 2,03 b

Tabla 10. Resultados de parámetros polifenólicos en la adición directa de acetaldehído en el triturado de la uva Cabernet Sauvignon. Diferentes letras indican diferencias significativas al 95% de nivel de significancia Fuente propia.

	Taninos (mg/L)	Antocianos (mg/L)	Indice de Polifenoles Totales	Intensidad Colorante	Pigmentos Poliméricos (mg/L)
T1_Control_V	1914,07±65,62a	807,68±14,73a	95,58±2,24a	63,05±1,62a	16,64±0,05a
T2_Control_Acetal_V	1676,05±79,53a	784,54±33,13a	101,78±1,50ab	67,26±0,52a	16,63±0,08b
T3_Control_M	1865,68±109,51a	1005,65±22,27b	118,07±1,66b	72,61±3,69c	18,04±0,15c
T4_Control_Acetal_M	1818,40±125,24a	1017,00±10,16b	127,65±0,42b	73,45±2,52b	17,50±0,02d

Tabla 11. Resultados de parámetros polifenólicos en la adición directa de acetaldehído en el vino de Cabernet Sauvignon. Diferentes letras indican diferencias significativas al 95% de nivel de significancia. Fuente propia

Observando los datos de la Tabla 10 se puede deducir que en taninos e IPT sí que hay resultados significativos. En ambos casos se podría deber a la degradación de las paredes celulares de la uva, lo cual favorece la difusión. Tal y como se ha dicho con anterioridad, el acetaldehído provoca una ruptura de estas paredes, haciéndolas más porosas y facilitando la difusión de estos compuestos fenólicos al mosto. Debido al poco tiempo de contacto podría favorecer la extracción, pero no puede llegar a degradar los taninos observándose un aumento de la concentración de estos compuestos.

Del mismo modo, en la Tabla 11 se observan los resultados de la adición de acetaldehído en el vino. En este caso se ve que la intensidad colorante y los pigmentos poliméricos aumentan. Siguiendo con lo explicado anteriormente, al tener más cantidad de compuestos polifenólicos se producen más reacciones entre ellos, lo cual favorece la estabilización del color en el vino. Con los datos de ambas tablas se puede suponer que

el efecto del acetaldehído está relacionado con la saturación de la atmosfera y no con la adición de este directamente sobre el producto, ya que en este segundo caso los compuestos no sufren ninguna alteración tal y como se ha observado. En el caso de la atmosfera saturada sí que se observan disminuciones significativas y de interés para el sector.

5. CONCLUSIONES

Las conclusiones a las que se llega tras analizar los resultados obtenidos son las siguientes:

- 1- Contrariamente a lo observado para el tratamiento con acetaldehído, los tratamientos con atmosferas saturadas con etanol y CO₂ no disminuye de forma significativa el contenido fenólico de las uvas.
- 2- Una atmosfera saturada con acetaldehído puede tener efectos significativos en la composición fenólica de las uvas y del vino.
- 3- Utilizar estas atmosferas saturadas con acetaldehído puede favorecer el proceso de producción del vino, ya que puede modular la composición fenólica de las uvas.
- 4- El tratamiento de las uvas durante un día provoca efectos significativos sobre la composición, por lo que no sería necesario un periodo más largo de exposición, lo cual es positivo ya que en vendimias el tiempo de reacción debe ser rápido.
- 5- La precisión y rapidez de las técnicas espectrofotométricas relacionadas con el análisis de los compuestos fenólicos hace que pueda ser muy interesante para las prácticas en una bodega.

La posibilidad de someter a las uvas a atmosferas modificadas puede ser de gran ayuda para mejorar la calidad de los vinos. Estos tratamientos pueden provocar efectos de interés en las uvas y trasladarse a los vinos, pudiendo obtener vinos de mayor calidad. Es necesario tener en cuenta que los tratamientos realizados en este trabajo se han realizado con uvas congeladas. Estas uvas congeladas tienen las células inactivas. En el caso de uvas frescas estos tratamientos podrían mostrar resultados diferentes, ya que en las uvas frescas las células siguen vivas y pueden comportarse de forma distinta. Sería de gran interés realizar estos tratamientos en uvas sin congelar, para confirmar los resultados o para obtener nuevas líneas de investigación interesantes en el campo de la Enología.

6. BIBLIOGRAFÍA

Aleixandre-Tudo, J. L., Buica, A., Nieuwoudt, H., Aleixandre, J. L., & du Toit, W. (2017). Spectrophotometric analysis of phenolic compounds in grapes and wines. *Journal of agricultural and food chemistry*, 65(20), 4009-4026.

Aleixandre-Tudo, J. L., & Du Toit, W. J. (2020). Evolution of phenolic composition during barrel and bottle aging. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 41(2), 233-237.

Aleixandre-Tudo, J. L., Lizama, V., Álvarez, I., Nieuwoudt, H., García, M. J., Aleixandre, J. L., & Du Toit, W. J. (2016). Effect of acetaldehyde addition on the phenolic substances and volatile compounds of red T empranillo wines. *Australian journal of grape and wine research*, 22(2), 205-214

Arnal, L. & Del Río, M.A. (2003). *Removing Astringency by Carbon Dioxide and Nitrogen-Enriched Atmospheres in Persimon Fruit cv. "Rojo brillante"*. *Journal of food science*, vol.68, nr 4, 1516-1518.

Benavent J.L.A., Álvarez C. M^a I. (2003). *Tecnología enológica*, Ed. síntesis, S.A. 1, 19-21.

Casassa, L. F., & Harbertson, J. F. (2014). Extraction, evolution, and sensory impact of phenolic compounds during red wine maceration. *Annu. Rev. Food Sci. Technol*, 5(1), 83-109.

Cheynier V., Moutounet M., Sarni-Manchado P. (2000). *Los compuestos fenólicos*. Fundamentos Científicos y Tecnológicos, 1st ed., Flanzy, C., Ed., AMV Ediciones y Ed. Mundi – Prensa, 114-136.

Claus, H., & Mojsov, K. (2018). Enzymes for wine fermentation: Current and perspective applications. *Fermentation*, 4(3), 52

Coetzee, C., Buica, A., & Du Toit, W. J. (2018). The use of SO₂ to bind acetaldehyde in wine: sensory implications. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 39(2), 1-6.

De Orduna, R. M. (2010). Climate change associated effects on grape and wine quality and production. *Food Research International*, 43(7), 1844-1855.

Garcia, L., Perrin, C., Nolleau, V., Godet, T., Farines, V., Garcia, F., ... & Saucier, C. (2022). Impact of Acetaldehyde Addition on the Sensory Perception of Syrah Red Wines. *Foods*, 11(12), 1693

Garrido-Banuelos, G., Buica, A., Schückel, J., Zietsman, A. J., Willats, W. G., Moore, J. P., & Du Toit, W. J. (2019). Investigating the relationship between grape cell wall polysaccharide composition and the extractability of phenolic compounds into Shiraz wines. Part I: Vintage and ripeness effects. *Food chemistry*, 278, 36-46.

Garrido-Banuelos, G., Buica, A., Schüchel, J., Zietsman, A. J., Willats, W. G., Moore, J. P., & Du Toit, W. J. (2019). Investigating the relationship between cell wall polysaccharide composition and the extractability of grape phenolic compounds into Shiraz wines. Part II: Extractability during fermentation into wines made from grapes of different ripeness levels. *Food chemistry*, 278, 26-35

Han, G., Webb, M. R., & Waterhouse, A. L. (2019). Acetaldehyde reactions during wine bottle storage. *Food chemistry*, 290, 208-215.

Y utiliza esto para justificar el experimento posterior. Sabemos que el acetaldehído puede provocar reacciones en el vino y queremos evaluar que es lo que pasa en uva verde y uva más madura

Hidalgo, J. (2018). *Tratado de enología*, Volumen I y II. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid.

Jones, G. V., & Webb, L. B. (2010). Climate change, viticulture, and wine: challenges and opportunities. *Journal of Wine Research*, 21(2-3), 103-106.

Mahajan, P. V., Caleb, O. J., Singh, Z., Watkins, C. B., & Geyer, M. (2014). Postharvest treatments of fresh produce. *Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, 372(2017), 20130309. Yin, X

Mayuoni, L., Tietel, Z., Patil, B. S., & Porat, R. (2011). Does ethylene degreening affect internal quality of citrus fruit?. *Postharvest Biology and Technology*, 62(1), 50-58.

Nel, A.P., van Rensburg, P., & Lambrechts, M.G. (2014). *The influence of different winemaking techniques on the extraction of grape tannins and anthocyanins*. *S. Afr. J. Enol. Vitic. vol.35 n.2 Stellenbosch*.

Ollat, N., Touzard, J. M., & van Leeuwen, C. (2016). Climate change impacts and adaptations: New challenges for the wine industry. *Journal of Wine Economics*, 11(1), 139-149.

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*, 77, 370-375.

Pittaria, E., Catarino, S., Andrade, M.C., & Ricardo-da-Silva, J.M. (2018). *Preliminary results on tartaric stabilization of red wine by adding different carboxymethylcelluloses*. *Ciencia Tec. Vitiv.* 33(1) 47-57.

Romero-Cascales, I., Ros-García, J. M., López-Roca, J. M., & Gómez-Plaza, E. (2012). The effect of a commercial pectolytic enzyme on grape skin cell wall degradation and colour evolution during the maceration process. *Food Chemistry*, 130(3), 626-631.

Sarneckis, C. J., Damberg, R. G., Jones, P., Mercurio, M., Herderich, M. J., & Smith, P. A. (2006). Quantification of condensed tannins by precipitation with methyl cellulose: development and validation of an optimised tool for grape and wine analysis. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 12(1), 39-49.

- Sheridan, M. K., & Elias, R. J. (2015). Exogenous acetaldehyde as a tool for modulating wine color and astringency during fermentation. *Food chemistry*, *177*, 17-22.
- Sheridan, M. K., & Elias, R. J. (2016). Reaction of acetaldehyde with wine flavonoids in the presence of sulfur dioxide. *Journal of agricultural and food chemistry*, *64*(45), 8615-8624.
- Smith, P. A., McRae, J. M., & Bindon, K. A. (2015). Impact of winemaking practices on the concentration and composition of tannins in red wine. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, *21*, 601-614.
- Teixeira, A., Eiras-Dias, J., Castellarin, S. D., & Gerós, H. (2013). Berry phenolics of grapevine under challenging environments. *International journal of molecular sciences*, *14*(9), 18711-18739.
- Tessmer, M.A., Besada, C., Hernando, I., Appezzato-da-Glória, B., Quiles, A., & Salvador, A. (2016). *Pérdida natural de astringencia durante la maduración de caqui. Comparación entre variedades astringentes y no astringentes. Levante Agrícola. Especial postcosecha*, 175-180.
- Vicens, A., Fournand, D., Williams, P., Sidhoum, L., Moutounet, M., & Doco, T. (2009). Changes in polysaccharide and protein composition of cell walls in grape berry skin (cv. Shiraz) during ripening and over-ripening. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *57*(7), 2955-2960
- Wei, R., Wang, L., Ding, Y., Zhang, L., Gao, F., Chen, N., ... & Wang, H. (2022). Natural and sustainable wine: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1-12.
- Yin, X. R., Shi, Y. N., Min, T., Luo, Z. R., Yao, Y. C., Xu, Q., ... & Chen, K. S. (2012). Expression of ethylene response genes during persimmon fruit astringency removal. *Planta*, *235*(5), 895-906.