



ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR DE INGENIERIA
AGRONÓMICA Y DEL MEDIO NATURAL

INFLUENCIA DE LA APLICACIÓN DE UN FUNGICIDA EN EL VIÑEDO EN LA COMPOSICIÓN DE VINOS DE MERSEGUERA Y GARNACHA TINTORERA. EFECTO DE FILTACIÓN Y ESTABILIZACIÓN POR FRÍO.



TRABAJO FIN DE MÁSTER

Presentado por:

Marta Filipa C. V. R. Pinto

Dirigido por:

Dra. Victoria Lizama Abad

Dra. Inmaculada Álvarez Cano

Valencia, Julio de 2012

INFLUENCIA DE LA APLICACIÓN DE UN FUNGICIDA EN EL VIÑEDO EN LA COMPOSICIÓN DE VINOS DE MERSEGUERA Y GARNACHA TINTORERA. EFECTO DE FILTRACIÓN Y ESTABILIZACIÓN POR FRÍO.

AUTORES

Marta Filipa Pinto, Victoria Lizama Abad, Maria Inmaculada Álvarez Cano.

RESUMEN

En este trabajo se ha estudiado el efecto de un fungicida de nueva generación, aplicado a uvas de las variedades Mersegera y Garnacha Tintorera durante la maduración, sobre la fermentación y composición final de los vinos elaborados. Se determinó la composición de los vinos después de la fermentación alcohólica y maloláctica (tintos), después de la clarificación, de la estabilización por frío, de la filtración, y al cabo de un mes de embotellado, comparando las muestras de referencia con las muestras tratadas. A partir de los resultados obtenidos fue posible concluir que no se aprecian diferencias significativas entre la composición y características físico-químicas de los vinos de uva tratada y los de uva de referencia, ni tampoco existen diferencias apreciables en la evolución de la fermentación alcohólica y maloláctica entre las distintas muestras. Por otro lado, los vinos filtrados presentan diferencias significativas estadísticamente relativamente a las otras muestras, conteniendo una menor acidez y una composición polifenólica inferior.

PALABRAS CLAVE: Merseguera, Garnacha Tintorera, fungicida, fermentación alcohólica y maloláctica, composición físico-química, filtración, clarificación, estabilización por frío y polifenoles.

ABSTRACT

The goal of this study was to determine the effects of a new generation fungicide, applied to the varieties Mersegera and Garnacha Tintorera during ripening, on fermentation kinetics and composition of the wine produced. Physical and chemical analysis were made to musts, wines after alcoholic and malolactic fermentation (red wine), after clarification, cold stabilization and filtration and also to the final bottled wines, always comparing reference samples with treated ones, for red and white vinification. From the obtained results, it was possible to conclude that there weren't significant differences between the composition and physicochemical characteristics of the treated wines and reference ones, nor were there significant differences on the evolution of alcoholic and malolactic fermentation between the different samples. Furthermore, there were statistically significant differences on the filtered wines, since these ones presented a lower acidity and a inferior polyphenolic composition, comparing to the non filtered ones.

KEY WORDS: Merseguera, Garnacha Tintorera, fungicide, alcoholic and malolactic fermentation, physicochemical composition, filtration, clarification, cold stabilization and polyphenol.

RESUM

Es va realitzar un estudi l'objectiu del qual era determinar els efectes d'un fungicida de nova generació, aplicat a les varietats Mersegera i Garnatxa Tintorera durant la maduració, sobre la fermentació i la composició final dels vins elaborats. Es van realitzar analítiques físiques i químiques al most, al vi després de la fermentació alcohòlica i malolàctica (negres), després de clarificació, estabilització per fred i filtració i al vi final després d'un mes embotellat, comparant les mostres de referència amb les mostres tractades tant pel que fa a la vinificació en vi negre com en blanc. A partir dels resultats obtinguts es va poder concloure que no s'aprecien diferències significatives entre la composició i característiques físic-químiques dels vins de raïm tractat i els de raïm de referència, ni tampoc existeixen diferències apreciables en l'evolució de la fermentació alcohòlica i malolàctica entre les diferents mostres. D'una altra banda, els vins filtrats presenten diferències significatives estadísticament, ja que contenen una menor acidesa i una composició fenòlica inferior.

PARAULES CLAU: Merseguera, Garnatxa Tintorera, fungicida, fermentació alcohòlica i malolàctica, composició fisicoquímica, filtració, clarificació, estabilització per fred i polifenols

INTRODUCCIÓN

Los fungicidas son un tipo de pesticidas concebidos para combatir las enfermedades causadas por hongos, y mientras algunos son específicos para determinados hongos, otros actúan de forma más general.

Las plagas más comunes de la vid son el mildiu (*Plasmopara viticola*), oidio (*Uncinula necator*) y el moho gris (*Botrytis cinerea*) (Cabras y Angioni, 2000; Garau *et al.*, 2009; González-Rodríguez *et al.*, 2009). Los fungicidas son usados intensivamente en la prevención y tratamiento de las enfermedades de la uva para vinificación. Entre ellos, la iprodiona, procimidona y vinclozolina son de uso común en la protección de la viña (García *et al.*, 1999; Sandra *et al.*, 2001), utilizándose también en los tratamientos de las plagas de la vid el captan y folpet (Cabras y Angioni, 2000; Cunha *et al.*, 2009) y el chlorthalonil (Patil *et al.*, 2009). El dicofol se utiliza ampliamente como un acaricida y se aplica también en la protección del viñedo (Soleás *et al.*, 2000). La utilización de fungicidas en la viticultura representa actualmente un arma fundamental para el control adecuado de las enfermedades que pueden causar pérdidas de cosecha y efectos negativos en la calidad de los vinos, aumentando el rendimiento y mejorando la calidad de los vinos cuando son empleados correctamente.

El uso correcto de los fungicidas no constituye una amenaza para la salud humana y el medio ambiente, y son una herramienta importante para el viticultor. Los tratamientos inadecuados de los cultivos, en cambio, pueden dar lugar a residuos de pesticidas indeseables en las uvas, que pueden ser transferidos al vino (González-Rodríguez *et al.*, 2009) y comprometer la seguridad de este producto (Correia *et al.*, 2000; Rose *et al.*, 2009). Además de los riesgos para la salud, que pueden ser causados por los residuos de los

pesticidas, también pueden modificar el desarrollo de la vinificación y la calidad sensorial de vino (Patil *et al.*, 2009).

Es esencial respetar la dosis recomendada para cada fungicida, esperando que los residuos de su aplicación sean degradados antes de recolectar la uva, así como utilizar solo los fungicidas autorizados por las normativas. Hay que tener en cuenta también, que los procesos utilizados en la elaboración del vino (prensado, fermentación, etc.) permiten reducir la cantidad de residuos de estos compuestos (Coscollá, 1993). Durante la vinificación, los vinos son sometidos a una serie de operaciones que reducen significativamente los niveles de residuos, por lo que sus contenidos en los vinos son significativamente menores que en las uvas (Cabras y Angioni, 2000; Cabras *et al.*, 1997; Flamini y Panighel, 2006; Navarro *et al.*, 1999; Otteneder y Majerus, 2005; Oliva *et al.*, 2007 a y b).

Por otro lado, existen algunos fungicidas potencialmente perjudiciales para el proceso de vinificación, como aquellos que debido a su uso incorrecto o exceso de cantidad aplicada, dan lugar a concentraciones de cobre, sulfamidas, tiazoles, etc., por encima de determinados niveles críticos. Sin embargo, son cada vez más los fungicidas que permiten un planteamiento ecológico con una buena eficacia, y que permiten una buena protección del cultivo, evitando impactos negativos y propiciando una agricultura sostenible.

Diversos estudios muestran que los residuos de productos químicos, especialmente fungicidas, presentes en las uvas de vinificación, pueden perjudicar el proceso de fermentación y afectar a la calidad del vino, ya que las levaduras son también microorganismos que pueden verse afectados por estos compuestos, y consecuentemente la fermentación alcohólica y maloláctica podrán alterarse. Se ha demostrado que la levadura *Saccharomyces cerevisiae* es sensible a la presencia de residuos de productos fitosanitarios, de tal forma que estos pueden retrasar, impedir o parar la fermentación alcohólica (Rozés, 2000 y Almeida, 2010). Si esto ocurre, el mosto queda desprotegido y consecuentemente puede ocurrir una colonización por otros microorganismos, tales como bacterias acéticas, originando un picado láctico y/o acético (Rozés, 2010 y Ribéreau-Gayon *et al.*, 1998; Vidal *et al.*, 2001; Oliva *et al.*, 2007 c).

Otros estudios ponen de manifiesto que la presencia de fungicidas puede alterar la concentraciones de ciertos compuestos responsables de la calidad sensorial del vino, en general, y del aroma, en particular (Darriet *et al.*, 2001; García *et al.*, 2004; Dugo *et al.*, 2004). Oliva *et al.* (2008), estudiando el efecto de varios residuos de fungicidas (famoxadona, fenhexamida, fluquinconazol, cresoxim-metilo, quinoxifeno y trifloxistrobina) en relación con el aroma de los vinos de Monastrell, observaron que todos los tratamientos fúngicos ensayados afectaron significativamente a la composición aromática de los vinos, así como a su evaluación sensorial, y atribuyeron estos hechos al efecto sobre la actividad de la levadura fermentativa, específicamente sobre su actividad glicosidasa, ya que ésta puede influir en la transformación de los terpenoides, así como en la actividad oxidativa de los lípidos, siendo los vinos procedentes de uvas tratadas con fluquinconazol y fenhexamida, los que mejor calidad aromática presentan. También pueden afectar los residuos de pesticidas a la composición ácida de los vinos y a su capacidad antioxidante (Oliva *et al.*, 2009 a, b). En cuanto a la composición fenólica, Oliva *et al.* (2005) observaron una gran diferencia entre la concentración de

polifenoles de los vinos control de Monastrell y los obtenidos en presencia de residuos de plaguicidas, así como en los compuestos fenólicos de bajo peso molecular, siendo los fungicidas azoxistrobina, cresoxim-metilo y pirimetanil los que más afectan a la composición polifenólica de los vinos, y el quinoxifen el que menos.

Estudios realizados en La Rioja (España) en uva Tempranillo (Santos, 1997), tratada con carbendazim, diclofluanida, iprodiona, procimidona y vinclozolina, no mostraron diferencias significativas en la densidad, el pH y la acidez total de los vinos, pero en cambio estos productos afectaron a la concentración total de polifenoles y al color.

Barba *et al.* (2009), estudiando el efecto de los fungicidas famoxadona, fenhexamida, fluquinconazol, cresoxim-metilo, y trifloxistrobina quinoxifeno en condiciones críticas (adición próxima a la vendimia), ponen de manifiesto su efecto sobre la concentración de antocianinas, ácidos hidroxicinámicos, flavonoles y trans-resveratrol. Además, la reducción en el contenido polifenólico es superior cuando se utilizan dos o más de estos fungicidas conjuntamente.

Contrariamente a la mayoría de los vinos blancos, los vinos tintos sufren una segunda fermentación, denominada maloláctica, que proporciona al vino finura y suavidad, ya que transforma el ácido málico, que es fuerte y da un sabor herbáceo desagradable juntamente con los taninos, en ácido láctico, que es más suave y untuoso. Las bacterias lácticas son más sensibles que las levaduras a la presencia de agentes extraños, como los productos fitosanitarios, y el sulfuroso, y su presencia puede impedir o dificultar la fermentación maloláctica, o hacer que ésta sea incompleta (Suarez Lepe, 1990 y Ribéreau-Gayon *et al.* 1998)

Después de las etapas de fermentación, el vino obtenido está cargado de materias sólidas en suspensión, restos vegetales, levaduras y otros microorganismos muertos o susceptibles de desarrollarse (Flanzy, 2000). En general, el consumidor rechaza los vinos que presenten turbidez, sea cual sea la edad del producto degustado. Por ello, es esencial clarificar y estabilizar el vino, con el objetivo de obtener un vino limpio y sin defectos en el flavor. Además, estas operaciones realizadas en vinos procedentes de uvas tratadas con fungicidas, contribuyen a la eliminación de aquellos residuos que no se han degradado durante la fermentación.

Los vinos, sobre todo los jóvenes, presentan una riqueza particular en ácido tartárico y sus sales son susceptibles de dar lugar a precipitados en forma de cristales (Blouin, 1992). La estabilización por frío es una técnica física que permite eliminar estas sales, provocando de forma preventiva una cristalización de los elementos en sobresaturación que son inestables y mejorando el aspecto del producto final.

La filtración por membrana (amicróbica o microfiltración) tiene como objetivo retener los turbios y microorganismos de los mostos o vinos, haciéndolos pasar por materiales filtrantes en forma de membrana, con porosidades comprendidas entre 1,20 a 0,45 micras. Sin embargo, este tipo de filtración puede también retener compuestos deseables en el vino, como polifenoles y materia colorante, dando origen a vinos con menos cuerpo y estructura (Flanzy 2000). Sin embargo, parece que la materia colorante es más afectada que los taninos, dando origen a decoloraciones ligeras en los vinos al comienzo del ciclo de filtración (Feuillat, 1995)

Debido al probado efecto de la adición de fungicidas en la uva, es imprescindible testar y analizar detalladamente en el vino el efecto de nuevos productos de posible aplicación al viñedo. Este estudio se realizó con el objetivo de verificar si existirán diferencias significativas entre los vinos elaborados a partir de uvas donde ha sido aplicado un fungicida de nueva generación de la familia de las quinolinas, y los vinos cuya uva utilizada no fue tratada con fungicidas. Para ello se han utilizado uvas de la variedad Merseguera y Garnacha Tintorera, con la finalidad de comprobar el efecto del fungicida tanto en vinos blancos como en tintos. Las conclusiones relativas a la existencia o no de diferencias significativas se basarán en la valoración física, química y organoléptica de los vinos, en distintas fases de la vinificación.

MATERIALES Y MÉTODOS

El tratamiento antifúngico se realizó un mes antes de la vendimia, con las dosis estimadas previamente para garantizar su efecto y respetando los plazos de seguridad. Una vez vendimiada la uva, el proceso de elaboración del vino se realizó por triplicado para cada muestra para obtener más información acerca del efecto del fungicida sobre la fermentación. Las muestras correspondientes a la uva tratada fueron identificadas con una 'T' y las muestras de referencia con una 'R', juntamente con un número identificativo de la réplica, o sea, del depósito (1, 2 ó 3). Así, teníamos 6 muestras para tintos y 6 muestras para blancos, identificados como T1; T2; T3; R1; R2; R3.

Antes de la filtración, previa al embotellado, se mezclaron los mostos de los tres depósitos de cada tipo de muestra, ya que no existían diferencias significativas entre los tres replicados, obteniéndose 4 vinos, dos blancos y dos tintos, correspondientes a los vinos de referencia y a los vinos tratados.

Vinificación en blanco

Inicialmente se realizó un muestreo de uva blanca (variedad Merseguera) con la finalidad de forma a estimar su momento óptimo de vendimia.

Tras la entrada de la uva a bodega, ésta es conducida a la despalladora-estrujadora, eliminando el raspón y rompiendo ligeramente los granos. A continuación se realizó un prensado de la uva, repartiendo el mosto obtenido de cada tipo de uva (tratada y de referencia) en los tres depósitos correspondientes y se analizó el mosto para realizar correcciones si fuera necesario. En este momento se efectuó el sulfitado, en cantidades suficientes para evitar posibles oxidaciones y desarrollos microbianos, y así, asegurar una perfecta protección del vino, pero en la mínima dosis aconsejable. Para ello, el anhídrido sulfuroso (SO_2) se adiciona a razón de 40 mg/L, en forma de metabisulfito potásico.

El desfangado posterior fue estático y se realizó en una cámara durante 4 días ($T^a=4^{\circ}\text{C}$), eliminando los turbios por gravedad y permitiendo obtener un vino más aromático. Posteriormente, se procedió al trasiego del mosto a los depósitos siempre llenos de acero inoxidable, y se corrigió con ácido tartárico y con nutrientes, para asegurar una buena fermentación, y con azúcar para

conseguir un grado alcohólico próximo a 12, ya que el grado alcohólico probable era muy bajo. Los tres depósitos de blancos con las uvas tratadas se rellenan con 20 L, 19 L y 19 L y los de referencia con 25 L, 26 L y 25 L.

A continuación, se inoculó la levadura *Saccharomyces cerevisiae* (Vintage White, Enartis) a una dosis de 20 g/hL, y para seguir la cinética de fermentación se controlaron la temperatura (14°C) y la densidad diariamente.

Concluida la fermentación, se procedió a analizar el contenido en azúcares reductores y se determinó la concentración de sulfuroso, para corregirlo, pues es esencial la presencia de sulfuroso libre sobre 40 mg/L.

Posteriormente, los vinos blancos se dejan en reposo a 14 °C, para que sedimenten parte de las levaduras muertas que quedan en suspensión y se procede a un trasiego a garrafas de cristal, eliminando el aire. Para provocar la precipitación parcial de los cristales de bitartrato potásico en suspensión, las garrafas de cristal se introducen en una cámara de refrigeración a 4 °C durante siete días y a continuación se analizaron los vinos.

Seguidamente se clarificaron los vinos con gelatina (5 g/hL) y bentonita (25 g/hL), y posteriormente se procedió a su filtración. Se mezclaron equitativamente los replicados de cada tipo de muestra, se corrigió el sulfuroso, se embotelló y se realizó la conservación a 14 °C. Un mes después del embotellado, se volvieron a analizar los vinos.

Vinificación en tinto

Inicialmente y para establecer la fecha de vendimia, se analizaron los índices de madurez de la uva de la variedad Garnacha Tintorera.

Una vez alcanzada la madurez óptima, se vendimió la uva y se transportó hacia la bodega, repartiéndose la uva de cada tratamiento en tres depósitos de 50 litros. Se realizó un despalillado-estrujado de la uva de cada depósito, seguido de un encubado de 30 kg de pasta en cada depósito, que se analizó para establecer su composición inicial con el objetivo de hacer correcciones si necesario., y se sulfitó a razón de 40 mg/L.

El mosto se inoculó con *Saccharomyces cerevisiae* (Ferm ES 448, Enartis) y durante la fermentación-maceración se controló la temperatura mediante camisas de refrigeración, a 25°C. La maceración se realizó mediante bazuqueos manuales diarios, con el fin de favorecer la extracción de componentes fenólicos.

Después de la maceración, se procedió al descube y prensado, así como a la determinación de la concentración de azúcares reductores. Posteriormente, se realizó la fermentación maloláctica, inoculando 0,16 mL/L las bacterias lácticas *Oenococcus oeni* (Viniferm OE 104, Agrovín), comprobándose previamente que la concentración de sulfuroso era baja. Para seguir la cinética de la maloláctica se realizaron cromatografías en papel (Blouin, 1992).

Después de concluida la fermentación maloláctica, se procedió al trasiego de los vinos a garrafas de cristal, a la adición de sulfuroso (35 mg/L) y a la conservación de las garrafas en cámara a 4°C hasta la adición de los clarificantes. Una semana después del trasiego se analizan los vinos y posteriormente estos se clarifican con albúmina de huevo (10 g/hL), se trasiegan, se mezclan los replicados, se corrige el sulfuroso, se filtran y se

embotellan los vinos, conservandolos a una temperatura de 18°C. Un mes después del embotellado se volvieron a analizar los vinos.

Analíticas aplicadas a los mostos y vinos

Se realizan analíticas por triplicado a las uvas, a los mostos, y a los vinos después de la fermentación alcohólica y maloláctica, después de la filtración y al cabo de un mes de embotellado, tanto en las muestras de referencia como en las tratadas, para los vinos blancos y para los tintos.

Los análisis llevados a cabo tanto en los mostos y/o vinos fueron los siguientes: nitrógeno fácilmente asimilable; turbidez; potasio; azúcares reductores; pH; acidez total; acidez volátil; sulfuroso libre y combinado; grado alcohólico; intensidad colorante; índice de polifenoles totales; antocianos; taninos condensados; índice de gelatina; índice PVPP e índice de DMACH.

La densidad y temperatura de los vinos se midieron diariamente. El control de la densidad y de la temperatura informa si existe una parada de la fermentación y permite reaccionar en el menor período de tiempo posible en caso de que esto ocurra. La determinación de la densidad fue realizada por aerometría (O.I.V., 1990) y sufre un descenso con el desarrollo de la fermentación, debido a la transformación de los azúcares en alcohol.

La determinación de anhídrido sulfuroso, tanto libre como combinado, es esencial para realizar un adecuado sulfitado y correcciones posteriores y para ello se utilizó el método de Rakine (O.I.V., 1990).

La determinación de la turbidez se realiza en el mosto y en el vino, mediante medición directa empleando un turbidímetro HI 93703-C (O.I.V., 1990).

El nitrógeno fácilmente asimilable es un macronutriente esencial para el crecimiento y metabolismo de las levaduras y en las uvas este está presente como amonio y α -aminoácidos. Concentraciones insuficientes de este compuesto en el mosto se suelen asociar a fermentaciones lentas o paradas y al desarrollo de olores desagradables. Cuando el contenido de nitrógeno asimilable por las levaduras está por debajo de los 150 mg/L (umbral de "carencia absoluta"), el contenido de aminoácidos asimilables se reduce a la mitad y, por ello, resulta imprescindible corregir los mostos en base a 200 mg/L de nitrógeno con sulfato amónico. Para determinar la concentración de nitrógeno fácilmente asimilable se utilizó el método de Sørensen con formaldehído (Henick- Kling, 1996).

El análisis de la concentración en azúcares reductores nos informa del contenido en azúcares que poseen su grupo carbonilo. Estos se analizan por el método de Fehling, gracias a su acción reductora sobre la solución cuproalcalina (Cenzano *et al.*, 2003).

La acidez total representa la suma de todos los ácidos valorables presentes y se determina por valoración con NaOH 1/4.9 N hasta pH neutro utilizando un pHmetro Crisón GLP-21 (O.I.V., 1990).

El pH juega un papel fundamental en las características del vino pues, además de interferir en el color, ejerce un efecto pronunciado sobre el gusto (Somers, 1977). Se mide directamente con un pHmetro GLP-21 (O.I.V., 1990).

La acidez volátil engloba los ácidos pertenecientes a la serie acética. Su determinación se realiza por el método García Tena, por destilación y posterior valoración con una solución alcalina estándar (Barceló, 1976).

La determinación de grado alcohólico se realizó por ebulloimetría utilizando el método de Barus (Rakine, 1997).

Determinación de compuestos polifenólicos

Todos los análisis se hacen por espectrofotometría, determinando la absorbancia de las muestras a diferentes longitudes de onda.

La Intensidad Colorante (I.C.) representa la suma de la absorbancia a 420, 520 y 620 nm (O.I.V., 1990).

La determinación del Índice de Polifenoles Totales (IPT) se establece por la absorbancia del grupo fenol a 280 nm (O.I.V., 1990).

Los antocianos son los principales responsables de la coloración rojazuada de los vinos y su determinación se basa en el cambio de absorbancia a 520 nm ocasionado por la adición de ácido clorhídrico (Ojeda *et al.*, 2002).

Los taninos son responsables del sabor amargo, astringencia, parte de la componente amarilla del color, y de la sensación de estructura o cuerpo. Para la cuantificación de taninos condensados totales se empleó el método basado en su conversión en antocianidinas por calentamiento en medio ácido (Ribéreau-Gayon y Stonestreet, 1966).

El índice de gelatina estima la cantidad de taninos astringentes, es decir, el porcentaje de taninos capaces de reaccionar con las proteínas, y se determina por el método de Glories (1978).

El índice de Polivinilpirrolidona (IPVPP) indica el porcentaje de antocianos que está combinado con taninos, lo que indirectamente indica el grado de estabilidad del color del vino. La determinación de este índice se basa en la fijación de los antocianos sobre la polivinilpirrolidona (Blouin, 1977).

Para evaluar el grado de polimerización de los taninos se utilizó el método de *p*-dimetilaminocinamaldehído (DMACH) propuesto por Vivas *et al.* (1994). El grado de condensación de las proantocianidinas será tanto más alto cuanto más bajo sea el índice DMACH (Blouin, 1992).

Efecto de la clarificación, estabilización por frío y filtración

Para averiguar los efectos de la clarificación, filtración y estabilización por frío en los vinos elaborados, se realizaron análisis de acidez y composición fenólica a cuatro muestras de vino distintas: sin clarificar y sin estabilizar por frío; estabilizada por frío; estabilizada por frío y filtrada; estabilizada por frío y sujeta a dos filtraciones. Se han utilizado los vinos previamente elaborados (R y T), tanto blancos como tintos. Se emplearon filtraciones por membrana con tamaños de poro de 0,7 micras (primera filtración) y 0,45 micras (segunda filtración).

Análisis sensorial

Con el objetivo de evaluar los vinos elaborados desde el punto de vista del aspecto, olfato y gusto, y establecer si existen diferencias organolépticamente detectables entre ellos, se realizan pruebas de análisis sensorial un mes

después del embotellado. Se emplean pruebas triangulares de juicio forzado (UNE 87-006-92), siguiendo la norma AFNOR (2007), y se prepara un número de juegos con las seis posibilidades: ABB-BAA-AAB-BBA-ABA-BAB. Se realizan tres pruebas y en cada una se presenta a cada juez tres muestras en idénticas condiciones. Esta prueba es discriminatoria y permite establecer si existen diferencias entre dos o más muestras, pero no la magnitud ni el sentido de la diferencia. Para lograr la sensibilidad deseada, se establece emplear los parámetros de $\alpha=0,2$; $\beta=0,2$; $P_d=40\%$, donde α es la probabilidad de indicar que hay diferencia cuando no la hay; β es la probabilidad de indicar que no hay diferencia cuando sí la hay y P_d , indica el valor en que las muestras pueden distinguirse desde el punto de vista organoléptico. Sustituyendo dichos valores en la tabla correspondiente (UNE 87-006-92) se establece que se necesitan 12 jueces cualificados, y cada juez tendrá que hacer 3 pruebas para obtener 36 evaluaciones. Además, con los valores establecidos de α , β y P_d , y sustituyendo en la tabla de “máximo nº de respuestas correctas necesaria para la similitud” (UNE 87-006-92), se aceptará que no hay diferencias significativas a un nivel de confianza del 80%, si el nº de respuestas correctas es menos o igual a 15.

Análisis estadístico de los resultados.

El tratamiento estadístico fue llevado a cabo con el programa informático STATGRAPHICS Plus 5.1 for Windows. Se realizó un análisis de la varianza (ANOVA) para comprobar si existían diferencias significativas debidas al tratamiento con fungicida, a la filtración y a la estabilización por frío.

RESULTADOS

Composición de las uvas

Los resultados obtenidos en el muestreo de las uvas de Merseguera y Garnacha Tintorera, antes del proceso de vinificación, se resumen en la Tabla 1.

TABLA 1. Composición de la uva blanca y tinta en el muestreo

	Merseguera		Garnacha Tintorera	
	Tratada	Referencia	Tratada	Referencia
Azúcares (g/L)	147,0 ± 6	149,2 ± 5	224,4 ± 5,9	206,27 ± 4,3
Grado Alcohólico Probable	8,46 ± 0,3	8,5 ± 0,3	13,2 ± 0,3	12,3 ± 0,3
Acidez Total (g/L tartárico)	3,61 ± 0,2	2,92 ± 0,2	7,78 ± 0,2	9,19 ± 0,2
pH	3,55 ± 0,1	3,56 ± 0,1	3,55 ± 0,1	3,56 ± 0,1

La uva Merseguera presentaba color amarillo oscuro debido a las altas temperaturas (mediados de septiembre), baja concentración de azúcar y un bajo valor de acidez (Tabla 1). No obstante, se aconsejó a vendimiarla cuanto antes, pues retrasar la vendimia no iba a suponer el incremento de azúcares y además era importante no sobrepasar el plazo de seguridad del fungicida. Por otro lado, la uva tinta presenta una elevada acidez, lo que es característica de la variedad Garnacha Tintorera, y un grado alcohólico

probable aceptable, por lo que se recomendó vendimiarla lo antes posible, para que no siguiera aumentando la concentración de azúcares hasta un nivel que pudiera afectar la viabilidad de las levaduras.

Composición de los mostos

Los mostos blancos fueron analizados después del prensado y mostraron que existían diferencias entre ellos para la acidez total y la concentración de potasio y de nitrógeno fácilmente asimilable (Tabla 2), por lo que se procede a su corrección, añadiendo 34 g/L azúcares (para alcanzar 12° de graduación alcohólica); 2 g/L de ácido tartárico; y 192 mg/L de nitrógeno fácilmente asimilable para el mosto tratado y 148 mg/L para el de referencia.

TABLA 2. Composición del mosto blanco después del prensado.

	Tratado	Referencia
Azúcares (g/L)	175,5 ± 1,5	176,0 ± 1
Acidez Total (g tartárico/L)	2,65 ± 0,2	2,69 ± 0,2
pH	3,65 ± 0,1	3,63 ± 0,1
Turbidez	173 ± 6,7	156 ± 7,8
Potasio (mg/L)	968,3 ± 1,1 a	883,3 ± 4,0 b
N₂ fácilmente asimilable	98,6 ± 1,0 a	110,0 ± 1,0 b

*distinta letra indica que existen diferencias significativas entre los valores, al 95% de significancia.

**la ausencia de letras indica que no existen diferencias significativas entre los valores, al 95% de significancia

Los mostos tintos fueron igualmente analizados, antes del inicio de la fermentación alcohólica (Tabla 3). Estos mostos presentan una diferencia ligera en la acidez total, sin embargo, la concentración de azúcares es similar entre las muestras y replicados, y por ello no es necesario corrección. Tal como acontecía con los mostos blancos, es posible observar diferencias en la cantidad de potasio entre las muestras, cuya causa puede ser los tratamientos realizados en el campo. Así, en el caso de los tintos, solo se hace la corrección del nitrógeno fácilmente asimilable. Con la finalidad de igualar la concentración de T2 (190 mg/L), se añade 125, 30, 40, 92 y 111 mg/L de sulfato amónico, en los depósitos T1, T3, R1, R2, y R3, respectivamente.

TABLA 3. Composición del mosto tinto antes de la fermentación alcohólica.

	Tratado			Referencia		
	T1	T2	T3	R1	R2	R3
Grado Alcohólico Probable	13,3 ± 0,1	13,6 ± 0,1	13,6 ± 0,1	13,2 ± 0,1	13,7 ± 0,1	13,5 ± 0,1
Azúcares (g/L)	233,4 ± 3	238,2 ± 3	238,2 ± 3	233,4 ± 3	240,3 ± 3	237,2 ± 3
Acidez Total (g/L ex. ácido tartárico)	7,86 ± 0,15	7,86 ± 0,15	7,79 ± 0,3	7,86 ± 0,3	7,86 ± 0,1	7,91 ± 0,3
pH	3,29 ± 0,1	3,35 ± 0,1	3,36 ± 0,1	3,29 ± 0,1	3,32 ± 0,1	3,33 ± 0,1
Turbidez	181,3 ± 2,0	199,0 ± 2,0	199,0 ± 0,1	168 ± 5,3	151,0 ± 2,0	151,0 ± 1,0
Potasio (mg/L)	1800 ± 20a	1615 ± 25b	1665 ± 26b	1455 ± 25c	1510 ± 26c	1560 ± 27c
N₂ asimilable	156,8 ± 2a	190,4 ± 2b	182 ± 3b	179,2 ± 3b	165,2 ± 2a	159,6 ± 4a

*distinta letra indica que existen diferencias significativas entre los valores, al 95% de significancia.

**la ausencia de letras indica que no existen diferencias significativas entre los valores, al 95% de significancia.

***letras iguales indican que no existen diferencias significativas entre los valores, al 95% de significancia.

Seguimiento de la fermentación

Tal como se ha referido, el seguimiento de la cinética de la fermentación alcohólica, a través de la medición diaria de temperatura y densidad, es esencial para detectar un posible riesgo de parada de fermentación, o si existen diferencias entre las distintas muestras. Ni entre los vinos blancos ni entre los tintos se apreciaron diferencias en la cinética de fermentación en las muestras tratadas y las de referencia (Figura 1 y Figura 2).

La fermentación alcohólica se dio por terminada cuando las densidades de los vinos rondaban los 993-990 g/L. Las fermentaciones alcohólicas ocurridas en los distintos depósitos han tardado el mismo tiempo, por lo que no se aprecian diferencias entre las muestras tratadas y de referencia, ni entre las tres replicas.

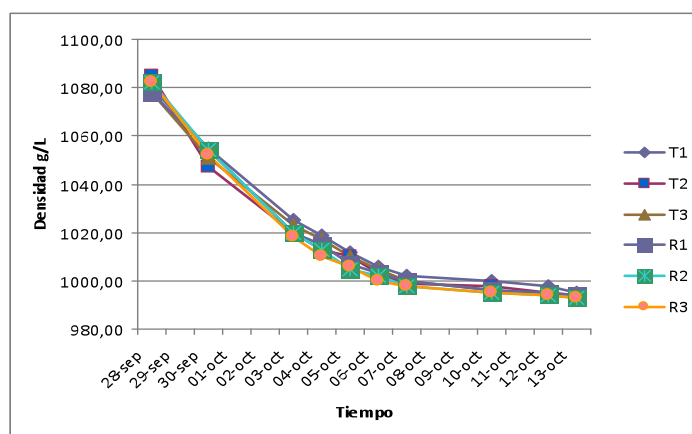


Figura 1 - Evolución de la densidad durante la fermentación alcohólica de los mostos blancos.

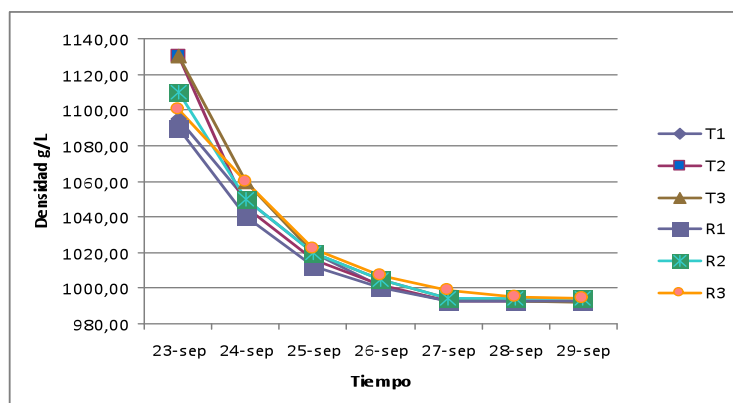


Figura 2 - Evolución de la densidad durante la fermentación alcohólica de los mostos tintos.

Posteriormente a la fermentación alcohólica, tiene lugar la fermentación maloláctica en los vinos tintos. La duración fue de 16-17 días, tanto en las muestras de referencia como en las tratadas, lo que demuestra que el fungicida aplicado no influye en la cinética de esta fermentación, ya que no afecta a la actividad de las bacterias lácticas (*Oenococcus oeni*) ni a su

consecuente transformación del ácido málico en ácido láctico.

Composición de los vinos después de la fermentación

Analizando la composición de los vinos blancos después de la fermentación alcohólica, es posible observar que todos los parámetros son similares para los vinos tratados y los de referencia, no variando significativamente entre las réplicas de cada uno (Tabla 4). Así, se puede verificar que no existen diferencias entre las vinificaciones, lo que pone de manifiesto que aparentemente el fungicida de nueva generación utilizado no afecta a la composición química de estos vinos blancos.

Los mostos fueron sulfitados en la misma concentración pero existe una ligera diferencia en los resultados de sulfuroso libre obtenidos, siendo estos superiores en los vinos tratados. Sin embargo, la cantidad de sulfuroso total es idéntica para las dos muestras, lo que lleva a pensar que estas diferencias pueden resultar de variaciones mínimas durante la fermentación alcohólica, cuya consecuencia es una mayor o menor producción de acetaldehído, dejando menor o mayor cantidad de sulfuroso libre.

TABLA 4. Composición del vino blanco después de la fermentación alcohólica

Blancos	Tratado			Referencia		
	T1	T2	T3	R1	R2	R3
Azúcar red. (g/L)	3,30 ±0,2	3,12 ±0,2	3,12 ±0,1	3,12 ±0,1	3,12 ±0,2	3,12 ±0,2
Acidez Total (g /L ex. ácid. tartárico)	5,62 ±0,1	5,62 ±0,1	5,62 ±0,1	6 ±0,2	5,62 ±0,2	6 ±0,2
Acidez Volátil (g acético/L)	0,462±0,0	0,363±0,0	0,396±0,0	0,462±0,0	0,495±0,0	0,462±0,0
pH	3,20 ±0,1	3,24 ±0,1	3,19 ±0,1	3,20 ±0,1	3,21 ±0,1	3,18 ±0,1
Sulfuroso Total (mg/L)	83,2 ±5	96 ±6	90,1 ±6	96,1 ±6	88,2 ±5	90,2 ±6
Sulfuroso Libre (mg/L)	32 ±5 a	38,4 ±6 a	36 ±3 a	30,2 ±6 b	28,8 ±2 b	29,4 ±4 b
Grado Alcohólico	12,1 ±0,1	11,5 ±0,1	11,3 ±0,1	12,1 ±0,1	11,9 ±0,1	11,6 ±0,1

*distinta letra indica que existen diferencias significativas entre los valores, al 95% de significancia.

**la ausencia de letras significa que no existen diferencias significativas entre los valores, al 95% de significancia.

***letras iguales indican que no existen diferencias significativas entre los valores, al 95% de significancia.

La composición de los vinos tintos después de la fermentación se recoge en la Tabla 5. Tal como se observa, en los vinos tintos no se aprecian diferencias estadísticamente significativas entre los parámetros convencionales (azúcares, acidez, pH, sulfuroso, grado alcohólico). La composición polifenólica presenta ligeras diferencias entre las muestras tratadas y de referencia, aunque estas diferencias no son estadísticamente significativas en los ANOVA realizados. Como la materia prima no es totalmente homogénea y la maceración se lleva a cabo por bazuqueos

manuales, la extracción de polifenoles será algo distinta en unos depósitos que en otros, resultando una concentración ligeramente diferente.

TABLA 5. Composición del vino tinto después de la fermentación maloláctica

	Tratado			Referencia		
	T1	T2	T3	R1	R2	R3
Azúcar red. (g/L)	2,2 ±0,2	2,2 ±0,2	2,1 ±0,1	2,2 ±0,1	2,2 ±0,3	2,8 ±0,1
Acidez Total (g/L)	5,70 ±0,1	5,48 ±0,1	5,62 ±0,2	5,70 ±0,2	5,85 ±0,1	5,92 ±0,2
Acidez Volátil (g/L)	0,66 ±0,1	0,69 ±0,1	0,59 ±0,3	0,56 ±0,1	0,63 ±0,1	0,56 ±0,1
pH	3,50 ±0,1	3,90 ±0,1	3,89 ±0,1	3,85 ±0,1	3,82 ±0,1	3,77 ±0,1
Sulf. Total (mg/L)	48,0 ± 3	44,8 ± 3	48,0 ± 4	41,6 ± 2	48,0 ± 2	48,0 ± 1
Sulf. Libre (mg/L)	32,0 ± 3	32,0 ± 3	35,2 ± 2	28,8 ± 1	38,4 ± 2	32 ± 1
Grado Alcohólico	13,3 ±0,1	13,7 ±0,1	13,5 ±0,1	13,3 ±0,1	13,2 ±0,1	13,2 ±0,1
IC	24,45 ±0,2	24,68 ±0,3	24,57 ±0,1	21,92 ±0,1	22,47 ±0,1	24,38 ±0,1
A420	7,85 ±0,0	8,09 ±0,1	8,08 ±0,0	6,74 ±0,1	7,26 ±0,0	7,69 ±0,0
A520	13,39 ±0,2	13,23 ±0,1	13,18 ±0,1	11,51 ±0,1	12,24 ±0,1	13,59 ±0,1
A620	3,21 ±0,0	3,36 ±0,0	3,32 ±0,0	2,66 ±0,0	2,98 ±0,0	3,09 ±0
IPT	94,69 ±1,9	99,84 ±1,4	98,36 ±2,1	91,05 ±2,3	91,43 ±1,6	95,54 ±0,8
Antocianos (mg/L)	930±48,0	1006 ±22	974 ±41	907 ±42	914 ±30	1006 ±10
Taninos (g/L)	2,11 ±0,3	2,89 ±0,2	2,79 ±0,1	2,81 ±0,4	2,62 ±0,1	2,85 ±0,2
Í. Gelatina (%)	63,97 ±2,0	63,10 ±2,0	58,78 ±9,2	62,08±13,4	59,96 ±1,9	64,59 ±4,5
Í. PVPP (%)	25,88 ±3,9	24,44 ±1,5	33,74 ±1,1	25,93 ±1,9	34,63 ±3,2	26,80 ±2,7
Í. DMACH (%)	49,89 ±0,8	42,37 ±0,1	49,71 ±1,9	35,23 ±0,3	39,72 ±0,9	37,72 ±1,8

**la ausencia de letras significa que no existen diferencias significativas entre los valores, al 95% de significancia.

Composición de los vinos después de la filtración

Como después de la fermentación no se observaron diferencias significativas en las tres réplicas de cada muestra, tanto en los vinos tintos como en los blancos, se procede a mezclar las réplicas antes de realizar las operaciones de estabilización.

Se determina la composición de estos vinos antes de la clarificación, después de la estabilización por frío, y después de la filtración con 0,7 y con 0,45 micras, con el objetivo de determinar como afectan estas operaciones a la composición de los vinos.

El descenso de la acidez resultante de la estabilización por frío es sobre todo debido a la precipitación de bitartrato potásico y su consecuente eliminación, pues este tiene un carácter ácido y es un componente que posee una importante concentración en vinos jóvenes. Para el caso de los vinos blancos (Tabla 6), no se observaron diferencias significativas para la precipitación de bitartrato, ni para ninguno de los procedimientos de filtración en el pH ni la acidez total.

Los valores del IPT en el vino tinto (Tabla 7) van disminuyendo a medida que es sometido a las distintas operaciones de estabilización, debido a que todas ellas producen pérdida o retención de polifenoles, disminuyendo el

color, antocianos, taninos, etc., de los vinos en relación a sus valores antes de clarificar y filtrar, no encontrándose diferencias significativas para los tratamientos realizados. Sin embargo, hay que tener en cuenta que para la I.C. e IPT de los vinos “Tratado” y “Referencia”, aparecen diferencias significativas en esta etapa del proceso. Dichas diferencias son debidas a la ligera heterogeneidad entre la materia prima de los depósitos y a que la extracción de compuestos polifenólicos se realiza mediante un bazuqueo manual. En el caso de la acidez total de los vinos tintos, se observan diferencias significativas con respecto al vino antes de someterlo al proceso de estabilización por frío, pero el proceso de filtración no provoca diferencias significativas para ninguno de los parámetros estudiados.

TABLA 6. Composición de los vinos blancos sujetos a distintos tratamientos de estabilización

		AC	F	F+F	F+FF
pH	T	3,11 ± 0,010	2,87 ± 0,007	2,85 ± 0,007	2,85 ± 0,007
	R	3,05 ± 0,007	2,91 ± 0,007	2,81 ± 0,007	2,81 ± 0,007
Acidez Total (g tartárico/L)	T	5,06 ± 0,05	4,31 ± 0,05	4,28 ± 0,05	4,28 ± 0,05
	R	5,38 ± 0,03	4,69 ± 0,05	4,63 ± 0,03	4,63 ± 0,03

AC - Antes de la clarificación y estabilización por frío

F – solo estabilización por frío

F+F – estabilización por frío + filtración (0,7 micras)

F+FF – estabilización por frío + filtración (0,7 micras) + filtración (0,45 micras)

*distinta letra indica que existen diferencias significativas entre los valores, al 95% de significancia.

**la ausencia de letras significa que no existen diferencias significativas entre los valores, al 95% de significancia.

TABLA 7. Vinos tintos sujetos a distintos tratamientos de estabilización

		AC	F	F+F	F+FF
pH	T	3,79 ± 0,0	3,82 ± 0,0	3,825 ± 0,0	3,825 ± 0,0
	R	3,75 ± 0,0	3,75 ± 0,0	3,78 ± 0,0	3,78 ± 0,0
Acidez Total (g tartárico/L)	T	5,03 ± 0,1 a	4,24 ± 0,1 b	4,22 ± 0,0 b	4,22 ± 0,0 b
	R	5,12 ± 0,0 a	4,26 ± 0,0 b	4,23 ± 0,0 b	4,23 ± 0,0 b
IPT	T	92,32 ± 0,8 A	83,56 ± 0,8 A	80,63 ± 0,8 A	77,71 ± 1,2 A
	R	79,04 ± 1,0 B	79,465 ± 0,9 B	78,19 ± 1,1 B	76,29 ± 1,1 B
IC	T	18,33 ± 0,2 A	16,65 ± 0,1 A	15,74 ± 0,0 A	15,71 ± 0,0 A
	R	16,59 ± 0,0 B	14,69 ± 0,0 B	14,14 ± 0,0 B	14,17 ± 0,0 B
Antocianos (mg/L)	T	801,28 ± 10	784,8 ± 28	768,8 ± 16	768,5 ± 27
	R	746 ± 10	722,8 ± 30	719,8 ± 22	717,4 ± 34
Taninos (g/L)	T	2,99 ± 0,2	2,59 ± 0,4	2,18 ± 0,1	2,26 ± 0,5
	R	2,82 ± 0,2	2,74 ± 0,1	2,14 ± 0,1	2,4 ± 0,2
Í. Gelatina (%)	T	71,28 ± 0,2	75,19 ± 3,0	67,86 ± 4,0	69,10 ± 1,0
	R	70,40 ± 2,0	70,56 ± 3,0	72,59 ± 8,0	54,60 ± 1,0
Í. PVPP (%)	T	51,21 ± 2,0	49,87 ± 0,3	47,95 ± 8,0	44,61 ± 3,0
	R	54,01 ± 4,0	43,47 ± 9,0	51,89 ± 0,1	47,92 ± 2,0
Í. DMACH (%)	T	39,67 ± 0,4	39,62 ± 0,4	32,97 ± 0,1	32,47 ± 0,1
	R	49,05 ± 0,2	41,72 ± 0,1	50,56 ± 0,4	42,80 ± 0,5

AC - Antes de la clarificación y estabilización por frío

F – solo estabilización por frío

F+F – estabilización por frío + filtración (0,7 micras)

F+FF – estabilización por frío + filtración (0,7 micras) + filtración (0,45 micras)

*distinta letra indica que existen diferencias significativas entre los valores, al 95% de significancia.

**la ausencia de letras significa que no existen diferencias significativas entre los valores, al 95% de significancia.

***letras iguales indican que no existen diferencias significativas entre los valores, al 95% de significancia.

****letras mayúsculas distintas indican diferencias significativas entre los valores referencia y tratado, al 95% de significancia.

Composición de los vinos al mes de embotellado

Se determinó la composición polifenólica de los vinos al mes de su embotellado, observándose que los vinos blancos no presentan diferencias significativas en lo que concierne a los parámetros convencionales, entre las muestras de referencia y las tratadas (Tabla 8). Solo se observa una ligera diferencia en la cantidad de sulfuroso libre, cuya causa más probable es su mayor o menor combinación con acetaldehído, como se ha referido antes.

TABLA 8. Composición de los vinos blancos al mes de embotellados

	Tratado	Referencia
Azúcares Reductores (g/L)	3,2 ± 0,1	3,1 ± 0,2
Acidez Total (g tartárico/L)	5,51 ± 0,1	5,51 ± 0,1
Acidez Volátil (g acético/L)	0,462 ± 0,1	0,495 ± 0,1
pH	3,02 ± 0,1	2,99 ± 0,1
Sulfuroso Total (mg/L)	101,3 ± 3	105,1 ± 3
Sulfuroso Libre (mg/L)	34,3 ± 2,0 a	29,3 ± 1,0 b
Grado Alcohólico	11,9 ± 0,1	11,9 ± 0,2

*distinta letra indica que existen diferencias significativas entre los valores, al 95% de significancia.

**la ausencia de letras significa que no existen diferencias significativas entre los valores, al 95% de significancia.

En la Tabla 9 observamos que no hay diferencias en los parámetros convencionales, existiendo diferencias significativas en la intensidad colorante y en el índice de polifenoles totales de las muestras de referencia y tratadas, tal y como se había encontrado en el momento del embotellado.

TABLA 9. Composición de los vinos tintos al mes de embotellados

	Tratado	Referencia
Azúcares Reductores (g/L)	2,1 ± 0,1	2,3 ± 0,1
Acidez Total (g tartárico/L)	5,01 ± 0,2	5,01 ± 0,3
Acidez Volátil (g acético/L)	0,63 ± 0,1	0,66 ± 0,1
pH	3,83 ± 0,1	3,76 ± 0,1
Sulfuroso Total (mg/L)	75,3 ± 4	84,5 ± 2
Sulfuroso Libre (mg/L)	38,4 ± 2	35,2 ± 3
Grado Alcohólico	13,5 ± 0,1	13,5 ± 0,1
IC	18,58 ± 0,2 a	16,25 ± 0,2 a
IPT	90,97 ± 1,1 b	78,05 ± 0,9 b
Antocianos (mg/L)	879,2 ± 40	829,2 ± 39
Taninos Condensados (g/L)	2,79 ± 0,1	2,73 ± 0,6
I. Gelatina (%)	77,96 ± 5,9	72,35 ± 1,9
I. PVPP (%)	20,85 ± 3,6	18,09 ± 1,4
I. DMACH (%)	43,91 ± 1,3	45,45 ± 1,2

*distinta letra indica que existen diferencias significativas entre los valores al 95% de significancia.

**la ausencia de letras significa que no existen diferencias significativas entre los valores, al 95% de significancia.

Análisis sensorial

En el análisis sensorial de los vinos blancos, de los 36 test se han obtenido 21 respuestas acertadas a la pregunta: “¿cuál muestra es diferente?” (valor superior a 15), por lo que según la norma existen diferencias perceptibles entre los vinos tratados y los de referencia. Los catadores destacaron que las diferencias apreciadas eran mínimas, solo observables en una primera impresión y que al volver a catar esas mismas diferencias dejaban de ser perceptibles. Esta circunstancia puede ser debida a la distinta concentración de sulfuroso libre, ya que este compuesto puede interferir en el gusto.

En el caso de los vinos tintos, se actúa de la misma forma, obteniéndose, en la prueba triangular 22 respuestas acertadas (valor superior a 15), lo que según la norma significa que existen diferencias perceptibles entre los vinos de referencias y los sujetos a tratamiento. Los catadores han relatado que las diferencias existentes son muy ligeras y se pueden atribuir a la distinta composición polifenólica, tanto a su concentración como a la forma en que se encuentran los polifenoles (astringencia de los taninos). Como la uva tratada era ligeramente más ácida que la de referencia, tendría probablemente taninos más astringentes o secantes.

CONCLUSIONES

No se encuentran diferencias en la composición de uvas y mostos que puedan ser imputadas a la utilización del producto fungicida, a excepción del contenido en potasio, que es superior en las uvas tratadas, y en el contenido en nitrógeno fácilmente asimilable, que para la variedad Merseguera es superior en las muestras de referencia, y para la variedad Garnacha Tintorera en las tratadas.

El fungicida objeto de este estudio no afecta al desarrollo de la *Saccharomyces cerevisiae*, ya que no se encuentran diferencias en la cinética de la fermentación alcohólica, encontrándose que la evolución de la densidad es semejante en los distintos depósitos. Por otro lado, el grado alcohólico alcanzado es proporcional a la concentración inicial de azúcares presentes en la uva, lo que indica que la fermentación se desarrolló de forma normal y sin diferencias entre las muestras. La duración de la fermentación maloláctica y la composición posterior de los vinos tampoco fue afectada por el uso del fungicida.

La mayor diferencia encontrada en los vinos blancos es en la concentración de sulfuroso libre, que presenta una mayor combinación con acetaldehído en los vinos de referencia. En los vinos tintos es posible observar algunas diferencias al nivel de la composición polifenólica, pero estas no son significativas y pueden ser explicadas por las variables, sobre todo humanas (bazuqueo) y de materia prima (heterogeneidad) en el proceso de vinificación, más concretamente en la etapa de maceración.

Al someter a los vinos a distintas operaciones de estabilización (clarificación, estabilización por frío y filtración), aparecen diferencias significativas en el contenido polifenólico y acidez. La estabilización por frío tiene como consecuencia la precipitación del ácido tartárico y su consecuente

eliminación del vino, por lo que se reduce la acidez, mientras que la filtración retiene en el filtro distintos compuestos, dependiendo sobre todo del tamaño del poro, lo que consecuentemente da lugar a un vino con menor composición polifenólica y menor estructura.

El análisis sensorial muestra diferencias organolépticas significativas, que pueden ser explicadas por la diferente cantidad de sulfuroso libre en los blancos y distinta composición polifenólica en los vinos tintos.

REFERENCIAS

Aerny, J. 1985. "Définition de la qualité de la vendange". *Revue Suisse Viticulture, Arboriculture, Horticulture, Nyon*, v.17, n.4. Dirección URL <www.scielo.br>. [Consulta: Mayo 2012].

Almeida, G. 2010. "Cultura da macieira no Rio Grande do Sul: análise situacional e descrição varietal". Embrapa Uva e Vinho, Rio Grande do Sul, Brasil. Dirección URL: <<http://www.cnpqv.embrapa.br/>>. [Consulta: Abril 2012].

Barceló, G. 1976. *Metodología de análisis de vinos y derivados*. SEPSA, Blouin, J. 1992. "Techniques d'analyse des moûts et des vins". Dujardin-Salleron. Paris.

Barba, A. Mulero, J. Payá, P. Cayuela, J.M. Cámara, M.A. Oliva. J. 2009. "Compuestos fenólicos de bajo peso molecular y antocianos en vinos Monastrell. Influencia de los fungicidas en su contenido". In: *Nuevos Horizontes en la Viticultura y Enología*, Servicio de Publicaciones. Universidad de Vigo (Ed.), 527-530, Ourense (Spain).

Cabras, P. Angioni, A. 2000. "Pesticide residues in grapes, wine and their processing products". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(4), 967–973.

Cenzano, J. Vicente, A. Tejero, G. 2003. "Análisis de vinos, mostos y alcoholes". Mundi-Prensa, AMV Ediciones.

Correia, M. Delerue-Matos, C. Alves, A. 2000. "Multi-residue methodology for pesticide screening in wines." *Journal of Chromatography A*, 889, 59–67.

Correia, M. Delerue-Matos, C. Alves, A. 2001. "Development of a SPME-GC-ECD methodology for selected pesticides in must and wine samples". *Journal of Analytical Chemistry*, 369, 647–651.

Coscollà, R. 1993. Residuos de plaguicidas en alimentos vegetales. Mundi-Prensa. Madrid, España.

Cunha, S. C. Fernandes, J. O. Alves, A. Oliveira, M. 2009. "Fast lowpressure gas chromatography–mass spectrometry method for the determination of multiple pesticides in grapes, musts and wines". *Journal of Chromatography A*, 1216, 119–126.

Feuillat, M. 1995. "La clarification des moûts en vinification en blanc ou débouillage". *Rev. Fr. OEnol.*

Flamini, R. Panighel, A. 2006. "Mass spectrometry in grape and wine chemistry. Part II: The consumer protection". *Mass Spectrometry Reviews*, 25, 741–774.

Flanzy, C. 2000. "Enología: Fundamentos científicos y tecnológicos". Ediciones A. Madrid y Mundi-Prensa. Madrid.

Gallice, W. 2011. "Caracterização espectroscópica multivariada do potencial antioxidante de vinhos"; *Química Nova*, vol. 34, nr. 3; São Paulo, Brasil. Dirección URL <www.scielo.br> [Consulta: Abril 2012].

Garau, V. L. Abreu, S. M. Caboni, P. Angioni, A. Alves, A. Cabras, P. 2009. "Residue free wines: Fate of some quinone outside inhibitor (QoI) fungicides in the winemaking process". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 2329–2333.

García, M. A. Melgar, M. J. Fernández, M. I. 1999. "Multiresidue determination of fungicides in wine". *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 62, 717–722.

González-Rodríguez, R. M. Cancho-Grande, B. Torrado-Agrasar, A. Simal-Gándara, J. Mazaira-Pérez, J. 2009. "Evolution of tebuconazole residues through the winemaking process of Mencía grapes". *Food Chemistry*, 117, 529–537.

Henick-Kling, T. Edinger, W. Larson-Kovach, I. 1996. "Survey of available nitrogen for yeast growth in New York grape musts". *Viticultural and Enological Sciences*.

Hidalgo, J. 2010. "Enología", 2ª edición. Ediciones Mundi-Prensa. México.

Jackson, R. 1994. "Wine Science" 2ª ed. Academic Press. California, USA.

- Kuskoski, M. 2005. "Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos", Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos, vol. 25, nr. 4. Campinas. Dirección URL <www.scielo.br>. [Consulta: Abril 2012].
- Moreno, J. Peinado R. 2012. "Enological Chemistry". 1ª edición, Academic Press, Elsevier. San Diego, USA.
- Navarro, S. Barba, A. Oliva, J. Navarro, G. Pardo, F. 1999. "Evolution of residual levels of six pesticides during elaboration of red wines. Effect of wine-making procedures in their disappearance". Journal of Agricultural and Food Chemistry, 47, 264–270.
- Ojeda H. Andary C. Kraeva E. Carbonneau A. Deloire A. 2002. "Influence of pre and post-veraison water deficit on the synthesis and concentration of skin phenolic compounds during berry growth of *Vitis vinifera L.*", cv Shiraz. Am. J. of Enol. and Vitic. 53: 261-267.
- Oliva, J. Barba, A. San Nicolás, F.T. Payá, P. 2005. "Efectos de residuos de fungicidas en la composición fenólica de vinos tintos (var. Monastrell)". Tecnología del vino, 23, 37-41.
- Oliva, J. Payá, P. Cámara, M.A. Barba, A. 2007a. "Removal of famoxadone, fluquinconazole and trifloxystrobin residues in red wines: Effects of clarification and filtration processes". J. Environ. Sci. Health, Part B, 42, 775 -781.
- Oliva, J. Payá, P. Cámara, M.A. Barba, A. 2007b. "Removal of pesticides from white wine by the use of fining agents and filtration". Com. Agric. Appl. Biol. Sc., 72, 2, 171-180.
- Oliva, J. Cayuela, J.M. Payá, P. Martínez-Cacha, A.;Cámara, M.A. Barba, A. 2007c. "Influence of fungicides on grape yeast content and its evolution in the fermentation". Com. Agric. Appl. Biol. Sc., 72, 2, 181-189.
- Oliva, J. Mulero, J. Payá, P. Cámara, M.A. Barba, A. 2009a. Influence of several fungicides on the antioxidant activity of red wines Monastrell. J. Environ. Sci. Health, Part B, B44, 6, 546-552.
- Oliva, J. Payá, P. Cayuela, J.M. Martínez-Cacha, A. Cámara, M.A. Barba, A. 2009c. "Fungicidas y vino: Influencia en el contenido de ácidos orgánicos.", In: Nuevos Horizontes en la Viticultura y Enología, Ed. Universidade de Vigo, 339-342, Servicio de Publicaciones, Universidad de Vigo, Vigo (España).
- Oliva, J. Amaya, A. Payá, P. Salinas, M.R. Barba, A. 2008. "Effect of the use of recent commercial fungicides [under good and critical agricultural practices] on the aroma composition of Monastrell red wines". Analytica Chimica Acta 6 1 7, 107–118.
- Patil, S. H. Banerjee, K. Dasgupta, S. Oulkar, D. P. Patil, S. B. Jadhav, M. R. Savant, R.H. Adsule, P. G. Deshmukh, M. B. 2009. "Multiresidue analysis of 83 pesticides and 12 dioxin-like polychlorinated biphenyls in wine by gas chromatography-time-of-flight mass spectrometry". Journal of Chromatography A, 1216, 2307–2319.
- Peynaud, E. 1989. "Enología Práctica". Editora Mundi-Prensa, Madrid.
- Pivetta, M. 2010. "Resíduos de fungicidas podem dificultar o processo de fermentação alcohólica" – A Vindimia. Dirección URL: <<http://www.avindima.com.br/>>. [Consulta: Abril 2012].
- Rakine, B. 1997. "Manual Práctico de Enología", 3ª edición. Editora ACRIBA S.A. Zaragoza – España.
- Ribéreau-Gayon, P. 1998. "Traité d'Œnologie: chimie du vin, stabilisation et traitements", vol. 2. Dunod, Paris.
- Ribéreau-Gayon, P. Dayan, A. 2003. "Tratado de Enología: Microbiología del vino. Vinificaciones", Ediciones Mundi- Prensa. Madrid.
- Rizzon, L. Zanuz, M. Miele, A. 1998. "Evolução de acidez durante a vinificação de uvas tintas de três regiões vitícolas do Rio Grande do Sul"; Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos, vol 18, nr. 2; Campinas, Brasil. Dirección URL <www.scielo.br>. [Consulta: Abril 2012]
- Rose, G. Lane, S. Jordan, R. 2009. "The fate of fungicide and insecticide residues in Australian wine grape by-products following field application". Food Chemistry, 117, 634–640.
- Rozés, N. 2000. "Conocimientos actuales sobre paradas de fermentación". Enólogos.
- Sandra, P. Tienpont, B. Vercammen, J. Tredoux, A. Sandra, T. David, F. 2001. "Stir bar sorptive extraction applied to the determination of dicarboximide fungicides in wine". Journal of Chromatography A, 928, 117–126.
- Santos, C. 1997. "Aplicación de fungicidas antibotróficos en vid: eficacia, residuos y consecuencias enológicas". Ph. D. Dissertation, Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos, Universidad Politécnica de Madrid (Spain).

Soleas, G. J. Yan, J. Hom, K. Goldberg, D. M. 2000. "Multiresidue analysis of seventeen pesticides in wine by gas chromatography with mass-selective detection". Journal of Chromatography A, 882, 205–212.

Somers, T.C. 1977. "Le rapport entre les teneurs en potasse de la vendange et la qualité relative des vins rouges australiens" *International symposium on the quality of the vintage*. Cape Town. Dirección URL <www.scielo.br>. [Consulta: Mayo 2012].

Suarez Lepe, J. A. Iñigo Leal, B. 1990. "Microbiología enológica - fundamentos de vinificación". Ediciones Mundi Prensa. Madrid, España.

Teixeira, H. Gonçalves, M.G. Rocès, N. Ramos, A. San Romão, M.V. 2002. "Lactobacillic acid accumulation in the plasma membrane of *Oenococcus oeni*: a response to ethanol stress". Microbial Ecology, vol. 43, nr 1. Dirección URL: <www.springerlink.com>. [Consulta: Abril 2012].

Tonietoo, V. 2010. "L'effect du climat viticole sur la typicité des vins rouges". Embrapa Uva e Vinho, Rio Grande do Sul, Brasil. Dirección URL: <<http://www.cnpuv.embrapa.br/>>. [Consulta: Abril 2012].

Valls, J. Lampreave, M. Nadal, M. Arola, L. 2000. "Importancia de los compuestos fenólicos en la calidad de los vinos tintos de crianza". Unidad de Enología, Departamento de Bioquímica y Biotecnología – Universidad Rovira i Virgili, Tarragona (España). Dirección URL: <www.scielo.br>. [Consulta: Abril 2012].

Vitali, M. Guidotti, M. Giovinazzo, R. Cedrone, O. 1998. "Determination of pesticide residues in wine by SPME and GC/MS for consumer risk assessment". Food Additives and Contaminants, 15, 280–287.

Vidal, M.T. M. Poblet, M. Constanti, A. Bordons. 2001. "Inhibitory Effect of Copper and Dichlofluanid on *Oenococcus oeni* and Malolactic Fermentation". Am. J. Enol. Vitic. 52, 223-229.

Versari, A. Boulton, R. B. Parpinello, G. P. 2008. "Food Chemistry". Elsevier. Dirección URL: <<http://www.journals.elsevier.com/>>. [Consulta: Mayo 2012].

Wang, H. et al. 1997. "Oxygen Radical Absorbing Capacity of Anthocyanins". American Chemical Society, Boston. Dirección URL: <<http://pubs.acs.org/>>. [Consulta: Mayo 2012].

Zamora, F. 2003. "Elaboración y crianza del vino tinto: Aspectos científicos y prácticos". Ediciones Mundi-Prensa. Madrid, España.