

ESTUDIO DEL EFECTO DIFERENTES TÉCNICAS DE ELABORACIÓN DE BEBIDAS FERMETADAS A PARTIR DE NARANJA Y MANDARINA

Cano Yuste, L; García Esparza, M.J.

RESUMEN

La elaboración de bebidas alcohólicas procedentes del zumo de naranja y de mandarina, se plantea como alternativa a la industrialización de los cítricos ofreciendo al consumidor nuevos productos. En este sentido el objetivo de este estudio ha sido determinar la influencia de distintas operaciones finales en la elaboración del vino de naranja y mandarina (adición de diferentes clarificantes, adición de sales de cobre y maceración con corteza de naranja y mandarina) sobre las características fisicoquímicas, parámetros de color y composición volátil de los vinos elaborados. Los vinos de mandarina clarificados con bentonita presentan menor concentración de compuestos volátiles y este efecto es significativo para los compuestos acetato de isoamilo, 2 feniletanol, alcohol isoamílico, decanoato de etilo y citronerol. Sin embargo en los vinos de naranja no se han obtenido los mismos resultados ya que el tipo de clarificante no afecta significativamente al perfil volátil. La adición de sales de cobre y cortezas de naranja y mandarina afectan negativamente al perfil volátil de los vinos.

PALABRAS CLAVE: vino, cítricos, clarificación

RESUM

L'elaboració de begudes alcohòliques procedents del suc de taronja i de mandarina, es planteja com alternativa a la industrialització dels cítrics oferint al consumidor nous productes. En aquest sentit l'objectiu d'aquest estudi ha sigut determinar l'influència de distintes operacions finals en l'elaboració del vi de taronja i mandarina (addició de diferents aclariments, addició de sals de coure i maceració amb corfa de taronja i mandarina) sobre les característiques fisicoquímiques, paràmetres de color i perfil volàtil dels vins elaborats. Els vins de mandarina aclarits amb bentonita presenten menor concentració de compostos volàtils i aquest efecte és significatiu per als compostos acetat d'isoamilo, 2 feniletanol, alcohol isoamílico, decanoato d'etil i citronerol. No obstant en els vins de taronja no s'han obtingut els mateixos resultats ja que el tipus d'aclaraixan-te no afecta significativament el perfil volàtil. L'adició de sals de coure i corfes de taronja i mandarina afecten negativament al perfil voràtil dels vins.

PARAULES CLAU: vi, cítrics, aclariment

ABSTRACT

The production of alcoholic drinks proceeding from the juice of orange and of mandarin, it appears as alternative to the industrialization of the citrus fruits offering new products to the consumer. In this respect the aim of this study has been determined the influence of different final operations in the production of the wine of orange and mandarin (addition of different clarifying, addition of mineral salts of copper and maceration with bark of orange and mandarin) on the physicochemical characteristics, parameters of color and volatile profile elaborated wines. The wines of mandarin clarified with bentonita present minor concentration of volatile compounds and this effect is significant for the compounds acetate of isoamilo, 2 feniletanol, alcohol isoamílico, decanoato of ethyl and citronerol. Nevertheless in the wines of orange the same results have not been obtained so the type of clarifying does not concern significantly the volatile profile. The addition of you copper salts of copper and barks of orange and mandarin they concern negatively the volatile profile of the wines.

KEY WORDS: wine, citrics, tining

1. INTRODUCCIÓN

La naranja (*Citrus sinensis*) y la mandarina (*Citrus reticula*) son los cítricos más conocidos y consumidos en el mundo. Estas variedades son cultivadas en zonas tropicales y subtropicales donde se dan las condiciones y suelos adecuados para ello. En el caso concreto de España, se puede decir que es el máximo productor de cítricos de la Unión Europea y uno de los mayores en el mundo según el Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias y la FAO.

La mayoría de la producción se dedica a consumo en fresco, elaboración de zumos, concentrados o no, y mermeladas (Pino y Queris, 2011). Sin embargo, por razones económicas y de mercado sería interesante estudiar nuevas alternativas para su industrialización, ofreciendo al consumidor nuevos productos. Una posibilidad es la elaboración de bebidas alcohólicas procedentes del zumo (Ferreyra et al., 2009), como es el caso del vino de fruta.

Atendiendo a este producto, más allá de la uva y de la manzana, como frutas más utilizadas y conocidas en su elaboración y comercialización de bebidas fermentadas a partir de zumos de frutas (Selli et al., 2008), el concepto de la palabra vino se amplía a otras frutas posibles. Sin embargo, según la legislación española (Ley 24/2003, de la Viña y del Vino) se define "vino" como el alimento natural obtenido exclusivamente por fermentación alcohólica, total o parcial, de uva fresca, estrujada o no, o de mosto de uva. Siendo esta definición excluyente, no pudiendo utilizarse en productos que no se ajusten estrictamente a la definición. No obstante, en el Reglamento (CE) nº 1234/2007 la palabra «vino» se utiliza para productos distintos, si está acompañada por un nombre de fruta en forma de denominaciones compuestas, para la comercialización de productos obtenidos a partir de la fermentación de frutas distintas de la uva.

La falta de concreción de este producto en la legislación conduce a una ambigüedad y confusión en lo que es y lo que se entiende como tal. Por ejemplo, destaca el caso del «Vino Naranja del Condado de Huelva» (BOE 12 septiembre 2011) que en su denominación emplea la palabra vino de naranja cuando se trata de un vino blanco cuya maceración ha sido llevada a cabo con cortezas de naranja.

En cuanto a vinos cítricos, en el ámbito científico se cuenta con una mayor trayectoria. Ya en los trabajos de Von Loesecke, Mottern y Pulley (1936) se recoge la posibilidad de elaborar vinos a partir de cítricos, del mismo modo que se elaboran a partir de uva.

Los aromas del vino se clasifican según su origen en: primarios o varietales, propios de la variedad antes de la fermentación; secundarios o fermentativos, consecuencia de la fermentación alcohólica; y terciarios, originados en el envejecimiento en bodega y/o botella (Morro et al., 2009). Durante la elaboración se debe tener en cuenta la influencia de los parámetros físico-químicos en las características sensoriales de los vinos (Úbeda et al., 2000), así como la acción de las levaduras durante el proceso fermentativo que modifica el aroma del zumo de fruta (Selli, 2003).

En los vinos de fruta los componentes aromáticos son especialmente importantes ya que contribuyen en la calidad final del producto (Pino y Queris, 2011). El aroma fresco y característico se debe a la presencia de diversos compuestos volátiles y las relaciones de interdependencia entre ellos (Selli, 2007) que hacen que los descriptores de olor del vino de naranja y su extracto se describan como: afrutado, cítrico, naranja, verde/cubierta de hierba, humo, floral, vainilla, alcohol y picante, de acuerdo con los descriptores utilizados por el autor antes mencionado (2008).

Asimismo, otro factor que se considera importante, es la presencia de compuestos responsables del aroma en las pieles de las frutas, como ampliamente se ha estudiado en las prácticas vinícolas, cuya técnica se caracteriza por un periodo de contacto más largo entre el zumo y las pieles de la uva. Por lo general, proporciona buenos resultados, dependiendo de la variedad de la uva, la temperatura y el tiempo (Selli, 2003, 2006a, b). Sin embargo, la escasa disponibilidad de datos sobre la tecnología de elaboración y las características físico-químicas y sensoriales particulares del vino de naranja y mandarina imposibilitan cotejar los resultados con productos similares. Por lo tanto, se hace necesario adaptar las prácticas enológicas y comparar los resultados del producto elaborado, haciendo uso de esta técnica en caso de la corteza de naranja o mandarina, con los vinos de uva y con otros vinos de otras frutas.

Al igual que la materia prima, los parámetros físico-químicos, las prácticas vitivinícolas y las levaduras empleadas, afectan la calidad sensorial del vino resultante; también influye el proceso de elaboración y concretamente la etapa de clarificación. La clarificación es una etapa muy relevante en la elaboración de vinos, ya que puede tener un impacto en la calidad del producto, tanto en el aroma como en el color y la estabilidad física (Barón et al., 1997; Morris y Main, 2007; Olivero et al., 2011). La clarificación es necesaria en vinos para reducir o eliminar la concentración de uno o más compuestos indeseables, y con ello evitar problemas como la quiebra proteica, turbidez o colores no deseados. El origen de las proteínas es diverso, ya que pueden proceder de la propia fruta, de las levaduras por autólisis y de los productos de clarificación (Vanrell et al., 2004). Ahora bien, al eliminar parte de las proteínas, el vino pierde estructura y untuosidad, además las proteínas son fijadores de aromas. En la industria enológica es muy común el uso de bentonita, la cual elimina las proteínas con mayor punto isoeléctrico. También se adhieren compuestos de carga positiva como antocianinas y otros compuestos fenólicos y nitrogenados (Morris y Main, 2007). La decisión sobre la dosis de bentonita a utilizar es muy importante porque según muestran los trabajos de Guillou et al., (1998) y Lambri et al., (2008) afecta a la concentración de los compuestos volátiles en los vinos. Otros clarificantes frecuentemente usados son las gelatinas y el polivinilpolipirrolidona (PVPP); las primeras son usadas para la clarificación, estabilización y reducción de la turbidez de los vinos; y el segundo, forma complejos con compuestos fenólicos y polifenólicos por adsorción y atrae a las catequinas de bajo peso molecular (Morris y Main, 2007).

Por último, no se puede olvidar que el vino, como producto vivo, puede sufrir alteraciones capaces de modificar negativamente sus caracteres

organolépticos. El origen de estas anomalías puede ser químico, físico-químico o microbiológico, y puede afectar al aspecto visual, a los caracteres olfativos, a los gustativos, o bien afectando a varios a la vez (Aleixandre, 2006). En estudios previos en la elaboración de este tipo de bebidas se han encontrado casos en los que el producto, pasado un tiempo en botella, ha tenido problemas de reducción dando aromas e incluso sabores desagradables que hacen de la bebida un producto muy poco comercial.

Para evitar la aparición de olores de reducción, consecuencia de la presencia de sustancias azufradas susceptibles de generar olores desagradables, se adiciona sulfato de cobre antes del embotellado y previo a la filtración. El cobre actúa secuestrando las moléculas con grupo tiol (Zamora, 2010).

Por otro lado, debido a la tendencia actual del mercado a elaborar vinos muy afrutados, y debido a la baja intensidad aromática junto a la baja variedad de aromas de este tipo de bebidas fermentadas, la maceración del vino resultante de la filtración con corteza de la naranja se plantea como una alternativa para la mejora sensorial de los vinos cítricos elaborados.

El objetivo de este estudio ha sido determinar la influencia de distintas operaciones finales en la elaboración del vino de naranja y mandarina (adición de diferentes clarificantes, adición de sales de cobre y maceración con corteza de naranja y de mandarina) sobre las características fisicoquímicas, parámetros de color y concentración de compuestos aromáticos, en vinos de naranja y mandarina.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Materia prima

El estudio se ha realizado a partir de naranjas de la variedad Valencia (11,5°Brix) y mandarinas de la variedad Clementinas (12,5°Brix) procedentes de Sagunto (Valencia)

Las naranjas fueron recolectadas en febrero 2013 y las mandarinas en noviembre de 2012.

2.2. Proceso de elaboración bebidas fermentadas

La elaboración de las bebidas fermentadas comienza con la recolección de las naranjas y mandarinas en cajas de 25 Kg. Posteriormente, la fruta se exprime para obtener el zumo y mediante bombeo se lleva a los depósitos de acero inoxidable.

A cada muestra de zumo se le adicionó el azúcar necesario para obtener el grado alcohólico establecido (9,5-10 °A), teniendo en cuenta que se pretende elaborar un vino con 25 g/L de azúcar residual aproximadamente.

Una vez está el zumo en los depósitos, se inoculan las levaduras *Sccharomycescerevisae*, (20g/hL) y se adicionan enzimas pectolíticos (5g/hL) y nutrientes fermentativos (corteza de levadura, tiamina y fosfato biamónico) a razón de 30g/hL. La fermentación alcohólica se realizó a 15°C durante 14 días.

Concluida la fermentación se procede al descube. El vino obtenido, se somete a una clarificación para lo cual se han ensayado dos clarificantes: bentonita (5g/hL) y protomix (20g/hL) (bentonita, PVPP y celulosa).

Terminada la clarificación se realizan varias filtraciones pasando desde 4µm hasta 0,5µm para posteriormente proceder al embotellado en botellas de cristal de 75cL que se conservaron a 20°C.

Previo a la filtración y en el caso de los vinos a los cuales se les ha añadido *Revelarom*, el cobre se adicionó después de la clarificación a razón de 10g/hL. En el caso de los vinos que han macerado con las cortezas (20g/hL), después de la filtración se dejó macerar con las cortezas durante un día a 15°C.

En la tabla 1 se recoge la materia prima, los clarificantes y los tratamientos realizados en las diferentes muestras, así como nomenclatura de los vinos

TABLA 1. Nomenclatura y características de los tratamientos aplicados

Materia Prima	Clarificante	Tipo	Vinos
Mandarina	Bentonita	Testigo	1 (MBT)
		Cobre	2 (MBC)
		Cobre + corteza	3 (MCC)
	Protomix	Testigo	4 (MPT)
		Cobre	5 (MPC)
		Cobre + corteza	6 (MPCC)
Naranja	Bentonita	Testigo	7 (NBT)
		Cobre	8 (NBC)
		Cobre + corteza	9 (NBCC)
	Protomix	Testigo	10 (NPT)
		Cobre	11 (NPC)
		Cobre + corteza	12 (NPCC)

2.3. Métodos analíticos

2.3.1. Parámetros físico-químicos

La determinación analítica de los parámetros físico-químicos tales como acidez total, azúcares reductores, grado alcohólico y pH se realizó según los métodos que aparecen en el Reglamento Oficial de la Unión Europea (O.I.V., 1979).

2.3.2. Parámetros relacionados con color

Se ha utilizado el método establecido por la Comisión Internacional de L'Eclairage (CIE-Lab, 1986), basándose en la determinación de valores triestímulo: L*, a* y b*. Por otra parte, las coordenadas a* y b* pueden transformarse en las coordenadas esféricas H* (Tono) y C* (Croma o Saturación).

Para los cálculos se tuvieron en cuenta como condiciones estándar un observador de CIE 1964 10° (ángulo de percepción de un observador humano) y un iluminante D₆₅ (luz del día).

Para las medidas de color primero se centrifugaron las muestras a 4000rpm en la centrifuga VWR modelo CT6E y a continuación se procedió a la medida de color en el colorímetro Minolta CM 3600d.

2.3.3. Parámetros relacionados con compuestos volátiles

El método de extracción utilizado es el que propone Dolores Herranz (1999) y que se basa en el propuesto por Cocito et al. (1995), con ciertas modificaciones realizadas por la autora mencionada con el objeto de optimizar la técnica.

Se toma 1mL de patrón interno y se afora con el vino a 100mL y se adicionan 30mL de disolvente, dietiléter y n-pentano (en proporción 2:1). 10 minutos en baño de ultrasonido a 20°C. Se separan las fases por decantación. Se vuelven a adicionar 10mL de disolvente y se lleva 10 minutos a ultrasonidos a 20°C y se decantan las fases. Se vuelve a repetir una última vez la adición de 10mL de disolvente, el baño en ultrasonido y la decantación, quedando en la fase etérea los compuestos volátiles.

A continuación se reúnen las fases etéreas obtenidas en diferentes etapas del tratamiento de muestra y se tratan con 4 g de sulfato de magnesio, actuando éste como deshidratante. Entonces se filtra el volumen obtenido con un filtro de papel. Después se concentra la muestra hasta un volumen final de 1 mL.

La determinación de compuestos volátiles se realiza por cromatografía de gases (GC). Se inyecta 1µL del extracto de cada aroma en el cromatógrafo Hewlett Packard modelo 6890 series equipado con detector de llama de ionización. La columna capilar ZB- WAX Plus (Phenomenex) de 60 m de longitud, 0,25 mm de diámetro interno instalada en el cromatógrafo de gases.

Las condiciones de trabajo han sido: temperatura de inyector y detector 300°C, gas portador hidrogeno. Relación Split de 1:75, flujo de hidrógeno de 25mL/min, flujo de aire 250mL/min, presión de nitrógeno en cabeza de inyector de 15 p.s.is. El cromatograma de referencia se establece inyectando 1µL de disolución patrón. La disolución patrón se prepara de acuerdo con el método empleados por los autores mencionados anteriormente. Todas las extracciones y determinaciones analíticas se han realizado por duplicado.

2.4. Análisis estadístico

El tratamiento estadístico se ha llevado acabo con el programa *STATGRAPHICS plus 5.1*. Se ha realizado un análisis de la varianza (ANOVA) para determinar la influencia de los distintos clarificantes y de las diferentes prácticas tecnológicas. El análisis estadístico empleado es Tukey con niveles de significancia del 95% ($p < 0,05$) y 99% ($p < 0,01$). También se ha realizado un análisis de componentes principales (PCA) con este mismo programa.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Parámetros físico-químicos

En la Tabla 1 se muestran los valores medios de los parámetros convencionales de los vinos antes de la clarificación y de la adición de sulfato de cobre y maceración con corteza de naranja y de mandarina dependiendo el tipo de vino.

TABLA 2. Valores medios de los parámetros físico-químicos en los vinos de mandarina y naranja.

	VINO DE MANDARINA	VINO DE NARANJA
pH	3,78 ± 0,10	3,75 ± 0,03
Acidez total. Expresada en Á.c Cítrico (g/L)	5,78 ± 0,15	5,44 ± 0,05
Azúcares reductores	24,27 ± 0,15	25,83 ± 1,18
° Alcohólico	9,80 ± 0,11	9,65 ± 0,11

3.2. Color

Es la primera percepción importante que se aprecia y, junto con la turbidez son rasgos personalizadores de un determinado vino, que ejercen una influencia significativa en los parámetros de calidad que aplica el consumidor a la hora de escoger un producto (Aleixandre, 2006).

Los resultados se expresaron como valores de L*, a* y b*. Donde L corresponde a luminosidad con un rango de 0-100, donde 0 es negro y 100 es el blanco perfecto. Los valores de "a" hacen referencia al color verde cuando la medición es negativa y color rojo cuando es positiva. Para la variable "b" el color es amarillo cuando la medición proporciona un dato positivo y azul cuando es negativo. Los valores para a y b, van desde 60 hasta -60 (Víctor, 2006). Los parámetro C* (saturación) y H* (tono) se calculan a partir de a* y b* (ecuación 1 y ecuación 2), y junto con L* definen las coordenadas de un espacio cilíndrico que contiene los tres atributos psico-físicos básicos del color: luminosidad, saturación y tonalidad (Casassa y Sari, 2006).

Como se menciona en el artículo referenciado anteriormente, las coordenadas Cie-Lab permiten una definición más precisa del color que la otorgada por los parámetros de Glories (mediciones de absorbancia a 420, 520 y 620nm y la suma de las mismas).

$$H^* = \arctan \frac{b^*}{a^*} \quad (1)$$

$$C^* = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}} \quad (2)$$

Según los datos obtenidos de los parámetros a*, los vinos tienden hacia un color verdoso; y según los datos del parámetro b* hacia un color amarillo, en todas las muestras analizadas.

Una vez analizado estadísticamente si se aprecian diferencias significativas en los diferentes tipos de vinos, tanto de naranja como de mandarina, se puede observar en las tablas 3 y 4 que tanto sí que la hay, para casi la totalidad de los parámetros a un 95% de confianza y que tanto el factor del tipo tratamiento realizado al vino (adición de cobre y la maceración con las cortezas) como el clarificante empleado ejercen un efecto sinérgico.

TABLA 3. Parámetros Cielab para mandarina según el clarificante y el tratamiento de vino

Clarificante	BENTONITA			PROTOMIX			ANOVA		
	Testigo	Cobre	Cobre+ Corteza	Testigo	Cobre	Cobre+ Corteza	T	C	T*C
L*	98,735 ± 0,109 a	97,105 ± 0,003 b	96,473 ± 0,099 c	98,687 ± 0,017 a	96,875 ± 0,008 b	97,272 ± 0,009 c	2657,08 **	49,68 **	152,29 **
a*	-2,688 ± 0,016 a	-2,214 ± 0,005 b	-2,759 ± 0,008 c	98,687 ± 0,017 a	-2,213 ± 0,011 b	-2,129 ± 0,005 c	1223,24 **	16862,47 **	4441,97 **
b*	10,956 ± 0,096 a	11,122 ± 0,007 b	14,210 ± 0,025 c	9,321 ± 0,008 a	12,006 ± 0,003 b	10,286 ± 0,005 c	5752,54 **	7401,14 **	5220,87 **
C*	11,281 ± 0,090 a	11,341 ± 0,006 a	14,475 ± 0,023 b	9,507 ± 0,008 a	12,208 ± 0,004 b	10,504 ± 0,005 c	5875,50 **	9214,54 **	6066,50 **
H*	-1,330 ± 0,001 a	-1,374 ± 0,001 b	-1,379 ± 0,001 c	-1,373 ± 0,001 a	-1,388 ± 0,001 b	-1,367 ± 0,001 c	798,33 **	485,23 **	597,62 **

T: Tratamiento; C: Clarificante; ns: no hay diferencias significativas; * p < 0.05; ** p < 0.01
Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas al 95%.

TABLA 4. Parámetros Cielab para naranja según el clarificante y el tratamiento de vino

Clarificante	BENTONITA			PROTOMIX			ANOVA		
	Testigo	Cobre	Cobre+ Corteza	Testigo	Cobre	Cobre+ Corteza	T	C	T*C
L*	96,981 ± 0,007 a	93,997 ± 0,007b	96,312 ± 0,021 c	97,057 ± 0,017 a	94,234 ± 0,020b	96,552 ± 0,042 c	38035,16 **	410,86 **	35,79 **
a*	-2,138 ± 0,002 a	-2,396 ± 0,003b	2,577 ± 0,009 c	-2,179 ± 0,002 a	-2,553 ± 0,007b	-2,721 ± 0,004 c	18815,97 **	2987,53 **	308,64 **
b*	11,295 ± 0,003 a	24,841 ± 0,008b	14,531 ± 0,009 c	11,223 ± 0,007 a	23,911 ± 0,010b	13,981 ± 0,016 c	4030124,62 **	17101,43 **	3933,32 **
C*	11,496 ± 0,003 a	24,956 ± 0,008b	14,758 ± 0,011 c	11,432 ± 0,007 a	24,047 ± 0,010b	14,243 ± 0,016 c	3734253,65 **	14766,43 **	3590,83 **
H*	-1,384 ± 0,001 a	-1,475 ± 0,001b	-1,395 ± 0,001 c	-1,379 ± 0,001 a	-1,464 ± 0,001b	-1,379 ± 0,001 c	100594,93 **	3510,86 **	370,50 **

T: Tratamiento; C: Clarificante; ns: no hay diferencias significativas; * p < 0.05; ** p < 0.01
Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas al 95%.

3.3. Influencia de la clarificación y de la adición de cobre y de corteza de naranja y mandarina sobre la fracción volátil de los vinos.

Las Tablas 5 y 6 muestran los 13 compuestos volátiles identificados en los vinos cítricos elaborados pertenecientes a diferentes familias químicas. Con la finalidad de evaluar el comportamiento de cada compuesto individualmente en relación a la clarificación y tratamientos aplicados, se ha realizado un ANOVA multifactor considerando los factores “Clarificación” y “Tratamiento”. Las Tabla muestran los valores medios obtenidos para cada compuesto, así como los grupos homogéneos y la significación del análisis resultado del ANOVA.

Para un mismo compuesto volátil, los valores de las filas con la misma letra indican que no existen diferencias significativas entre los vinos obtenidos, y con distinta letra que existen diferencias significativas al 95%.

Como se observa en las Tablas 5 y 6, las variables introducidas en el proceso, es decir la adición de sulfato de cobre y la maceración con corteza de mandarina o de naranja dependiendo del vino, influye significativamente sobre la concentración de muchos de los compuestos volátiles analizados, pero este efecto es distinto según el clarificante utilizado y la materia prima de partida.

Es importante señalar que en los vinos elaborados a partir de zumo de mandarina y clarificados con Protomix, la adición de cobre y la maceración con corteza de mandarina no tiene un efecto significativo sobre el perfil aromático de estos vinos, como muestra la tabla 4.

Los resultados muestran que en el vino de naranja, la adición de sulfato de cobre para eliminar los posibles olores a reducción, provoca una pérdida de volátiles, aunque esta es solo significativa en el caso de los compuestos: etilisovaleriato y alcohol isoamílico. Al comparar estos vinos con los que se adiciona además corteza de naranja, también hay una disminución significativa de la concentración de etilisovaleriato, lactato de etilo, decanoato de etilo, dietilglutarato, β -pineny 2 feniletanol.

En los vinos elaborados a partir de mandarina (y clarificados con bentonita) se observa el efecto contrario, la adición de cobre provoca un aumento significativo en muchos de los compuestos analizados como muestra la Tabla 4. Esto podría explicarse porque en este caso, el vino testigo presenta unas concentraciones muy bajas de compuestos volátiles, debido posiblemente a una mala conservación antes de los tratamientos ya que no ocurre lo mismo en los vinos clarificados con Protomix.

En los vinos que además se adiciona la corteza de mandarina, lo mismo que ocurría en los vinos de naranja, se produce una pérdida significativa de volátiles: etilisovaleriato de etilo, acetato de isoamilo, lactato de etilo, dietilglutarato, y 2 feniletanol. Estos compuestos son importantes porque contribuyen al aroma del vino, así el 2-feniletanol es el único alcohol varietal que puede contribuir positivamente al aroma ya que posee un característico olor a rosas (Palomo, 2005) y el conjunto de ésteres representan los aromas afrutados característicos de los vinos jóvenes.

TABLA 5. Valores medios de los compuestos volátiles (mg/L) y resultado del ANOVA estadístico (grupos homogéneos: letras; F-ratio y significación estadística) según clarificación y tratamiento con cobre y cortezas en el vino de mandarina.

Clarificante	Bentonita			Protomix			ANOVA F ratio		
	Testigo	Cobre	Cobre + corteza	Testigo	Cobre	Cobre + corteza	T	C	T*C
Etilisovaleriato	1,024 ± 0,256 a	6,122 ± 0,117 b	1,038 ± 0,050 a	6,090 ± 0,411 a	6,955 ± 1,146 a	3,574 ± 0,787 a	4,63 ns	5,81ns	1,11 ns
β-pinen	0,040 ± 0,004 a	0,472 ± 0,078 b	0,526 ± 0,032 b	0,505 ± 0,038 a	0,555 ± 0,031 a	0,447 ± 0,107 a	19,79**	20,81**	22,14**
Acetato de isoamilo	0,476 ± 0,109 a	8,610 ± 0,128 b	4,945 ± 0,603 c	8,708 ± 0,232 a	9,810 ± 2,064 a	8,202 ± 2,400 a	12,31**	30,77**	7,49*
Alcohol Isoamílico	0,021 ± 0,002 a	0,905 ± 0,111 b	0,663 ± 0,028 b	0,974 ± 0,101 a	0,968 ± 0,035 a	0,887 ± 0,048 a	44,28**	114,67**	50,30**
Acetato de hexilo	0,057 ± 0,016 a	0,856 ± 0,029 b	0,816 ± 0,018 b	0,949 ± 0,063 a	0,968 ± 0,049 a	0,853 ± 0,124 a	49,29**	94,31**	58,44**
Lactato de etilo	0,278 ± 0,093 a	7,986 ± 1,368 b	2,139 ± 0,507 a	6,021 ± 0,292 a	7,900 ± 1,329 a	6,973 ± 1,143 a	16,83**	25,43**	6,82*
Decanoato de etilo	0,057 ± 0,010 a	0,427 ± 0,064 a	0,126 ± 0,078 a	0,633 ± 0,059 a	0,631 ± 0,161 a	0,840 ± 0,126 a	0,50 ns	10,08*	0,95 ns
Citronerol	0,069 ± 0,011 a	2,272 ± 0,765 b	0,975 ± 0,005 ab	2,040 ± 0,167 a	2,378 ± 0,686 a	2,967 ± 0,288 a	8,85*	28,41**	6,05*
Dietilglutarato	0,921 ± 0,105 a	11,446 ± 1,198 b	24,422 ± 0,239 c	10,793 ± 0,050 a	11,168 ± 0,509 a	10,718 ± 0,304 a	443,50**	18,16**	451,33**
γ-Octolactona	0,336 ± 0,045 a	1,412 ± 0,196 a	3,513 ± 0,249 a	2,045 ± 0,242 a	2,643 ± 0,182 a	1,526 ± 0,158 a	1,23 ns	0,21 ns	2,76 ns
2-Feniletanol	0,500 ± 0,047 a	28,431 ± 5,765 b	3,148 ± 0,225 a	25,120 ± 1,037 a	27,711 ± 4,394 a	25,099 ± 3,881 a	24,97**	61,17**	16,92**
Ácido Decanoico	0,098 ± 0,029 a	0,542 ± 0,045 ab	0,585 ± 0,177 b	0,285 ± 0,043 a	0,183 ± 0,058 a	0,451 ± 0,005 a	2,43 ns	0,71 ns	1,72 ns
Vainillina	0,013 ± 0,005 a	0,439 ± 0,036 a	0,119 ± 0,069 a	0,000 ± 0,000 a	0,681 ± 0,064 a	0,346 ± 0,155 a	1,79 ns	0,40 ns	0,12 ns

T: Tratamiento; C: Clarificante; ns: no hay diferencias significativas; * p < 0.05; ** p < 0.01
Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas al 95%.

TABLA 6. Valores medios de los compuestos volátiles (mg/L) y resultado del ANOVA estadístico (grupos homogéneos: letras; F-ratio y significación estadística) según clarificación y tratamiento con cobre cortezas en el vino de naranja.

Compuesto volátil	Clarificante Bentonita			Clarificante Protomix			ANOVA F ratio		
	Testigo	Cobre	Cobre + corteza	Testigo	Cobre	Cobre + corteza	T	C	T*C
Etilisovaleriato	6,181 ± 0,634 a	9,975 ± 1,113 b	0,804 ± 0,175 c	5,050 ± 0,114 ab	9,797 ± 1,130 b	0,806 ± 0,089 a	26,42**	0,18 ns	0,12 ns
β-pinen	0,479 ± 0,004 a	0,520 ± 0,109 a	0,460 ± 0,058 a	0,430 ± 0,009 ab	0,180 ± 0,055 a	0,504 ± 0,048 b	1,41 ns	2,89 ns	2,91 ns
Acetato de isoamilo	8,941 ± 0,663 a	7,667 ± 1,479 ab	4,566 ± 0,627 b	7,815 ± 0,412 a	7,617 ± 1,761 ab	4,307 ± 0,294 b	16,53**	0,65 ns	0,31 ns
Alcohol Isoamílico	0,943 ± 0,027 a	0,580 ± 0,122 b	0,542 ± 0,079 b	0,858 ± 0,022 a	0,635 ± 0,121 ab	0,545 ± 0,063 b	21,31**	0,04 ns	0,74 ns
Acetato de hexilo	0,868 ± 0,057 a	0,588 ± 0,128 a	0,669 ± 0,132 a	0,777 ± 0,012 a	0,712 ± 0,198 a	0,720 ± 0,104 a	2,21 ns	0,16 ns	0,82 ns
Lactato de etilo	8,073 ± 0,669 a	6,966 ± 0,724 a	2,364 ± 0,135 b	7,196 ± 0,932 a	6,422 ± 0,423 a	2,246 ± 0,625 b	39,83**	0,97 ns	0,18 ns
Decanoato de etilo	0,797 ± 0,034 a	0,660 ± 0,155 a	0,257 ± 0,011 b	0,795 ± 0,091 a	0,411 ± 0,081 a	0,252 ± 0,006 b	4,73 ns	0,35 ns	0,32 ns
Citronerol	2,537 ± 0,457 a	2,054 ± 0,640 a	1,262 ± 0,118 a	2,689 ± 0,308 a	1,689 ± 0,472 ab	1,013 ± 0,101 b	13,60**	0,44 ns	0,46 ns
Dietilglutarato	10,880 ± 0,111 a	9,321 ± 1,379 a	27,422 ± 2,965 b	10,561 ± 0,670 a	11,671 ± 0,461 a	25,485 ± 1,546 b	114,71**	0,00 ns	1,61 ns
γ-Octolactona	2,781 ± 0,206 ab	2,183 ± 0,565 a	4,683 ± 0,842 b	2,815 ± 0,219 a	0,000 ± 0,000 b	3,946 ± 0,480 a	46,23**	12,34*	5,63*
2-Feniletanol	26,703 ± 1,955 a	21,583 ± 2,481 a	4,002 ± 0,748 b	25,847 ± 3,243 a	25,051 ± 1,009 a	3,423 ± 0,631 b	77,85**	0,18 ns	0,76 ns
Ácido Decanoico	0,495 ± 0,001 a	0,339 ± 0,110 a	0,582 ± 0,103 a	0,502 ± 0,093 a	0,221 ± 0,313 a	0,715 ± 0,060 a	6,19*	0,01 ns	0,71 ns
Vainillina	0,518 ± 0,009 a	0,399 ± 0,086 a	0,315 ± 0,066 a	0,326 ± 0,077 a	0,182 ± 0,058 a	0,000 ± 0,000 a	3,77 ns	9,41*	0,23 ns

T: Tratamiento; C: Clarificante; ns: no hay diferencias significativas; ns: no hay diferencias significativas; * p < 0.05; ** p < 0.01
Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas al 95%.

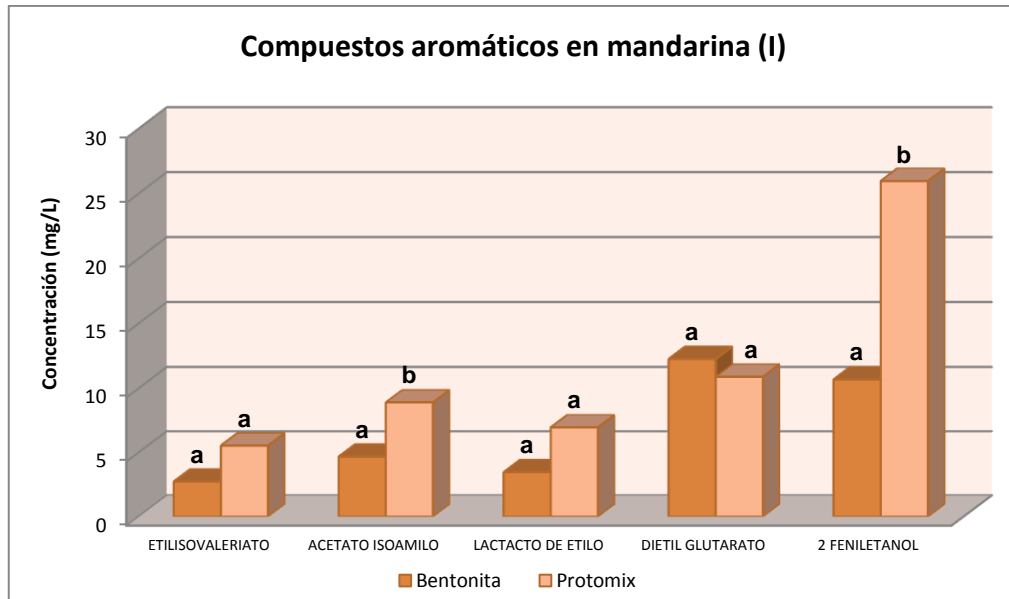


FIGURA 1. Representación gráfica de la concentración de compuestos volátiles en vinos de mandarina según el tipo de clarificante. Letras distintas en la misma indican diferencias significativas al 95%.

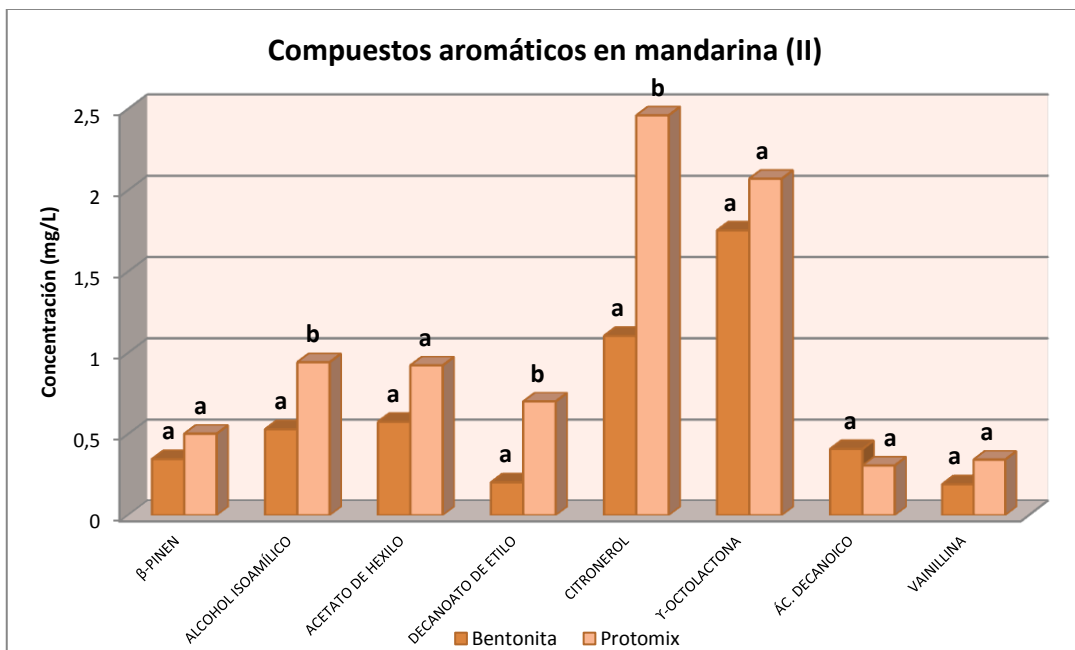


FIGURA 2. Representación gráfica de la concentración de compuestos volátiles en los vinos de mandarina según el tipo de clarificante. Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas al 95%.

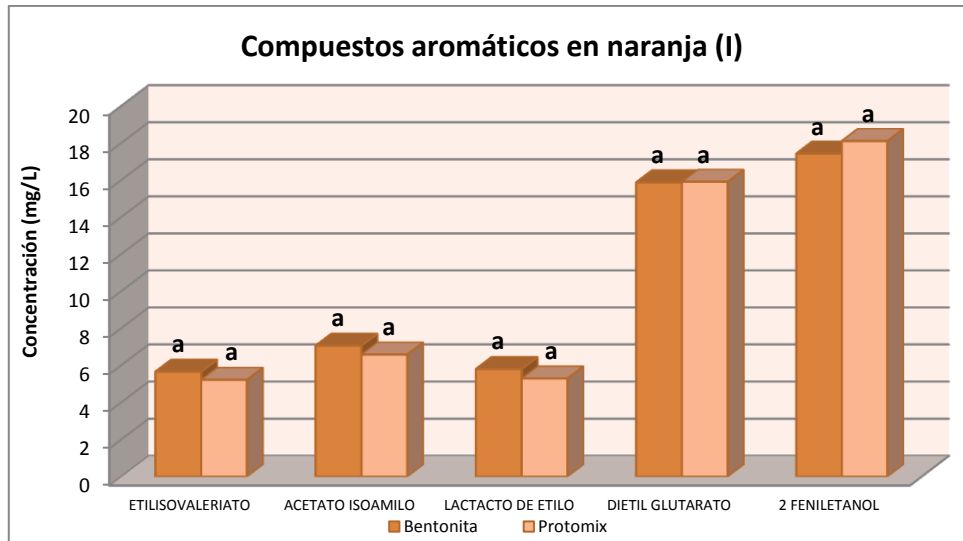


FIGURA 3. Representación gráfica de la concentración de compuestos volátiles en vino de naranja según el tipo de clarificante. Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas al 95%.

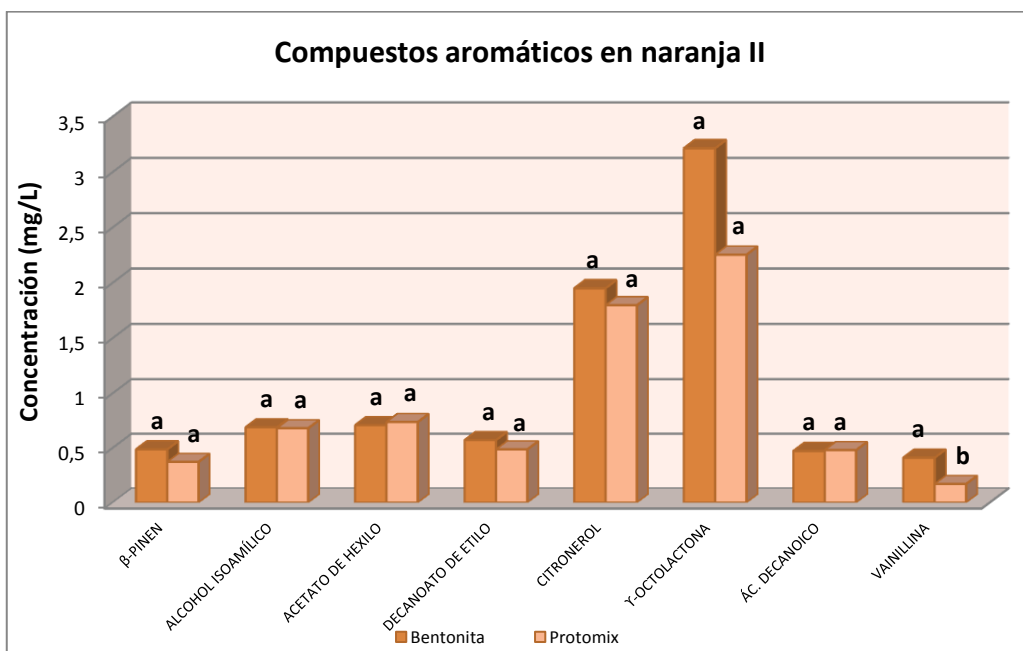


FIGURA 4. Representación gráfica de la concentración de compuestos volátiles en vino de naranja según el tipo de clarificante. Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas al 95%.

Los gráficos 1 y 2 muestran el efecto de la clarificación sobre la composición volátil de los vinos de mandarina elaborados. Se observa que los vinos clarificados con bentonita presentan menor concentración de compuestos volátiles y este efecto es significativo para los compuestos acetato de isoamilo, 2 feniletanol, alcohol isoamílico, decanoato de etilo y citronerol. Es importante señalar que acetato de isoamilo, responsable del olor a banana y pera, es uno de los ésteres más importantes desde el punto

de vista sensorial, aunque se hidroliza con el paso del tiempo (RamSey y Ough, 1980) y el 2-feniletanol constituye uno de los alcoholes superiores más importantes y se relaciona con el olor a rosa (Dubois, 1994) al igual que el citronerol.

Sin embargo en los vinos de naranja no se han obtenido los mismos resultados ya que el tipo de clarificante no afecta significativamente a la concentración de los compuestos volátiles estudiados como muestran los gráficos 3 y 4.

El efecto de la bentonita puede explicarse porque esta es capaz de interaccionar también con las moléculas responsables del aroma del vino (Lubbers et al., 1995). Su capacidad por fijarlos varía de una bentonita a otra, pero puede llegar a ser del 25%, una cantidad nada menospreciable. Se puede afirmar que el empleo de la bentonita afecta a las sensaciones olfativas y gustativas apreciadas en el vino reduciendo la calidad sensorial (Martínez-Rodríguez y Polo, 2003). Mientras que el mecanismo de la acción desproteinizante de las bentonitas se da mediante un intercambio de cationes, en el caso de los compuestos aromáticos la fijación tiene lugar por mecanismos de adsorción en los que intervienen enlaces débiles tipo puente de hidrógeno o interacciones hidrofóbicas.

Después de la observación individual de cada compuesto, se ha realizado un análisis PCA con la finalidad de evaluar el efecto que, sobre la fracción volátil total, tiene la adición de cobre y la maceración con corteza de naranja y mandarina con los dos tipos de clarificantes ensayados. La Figura 5 muestra la disposición de los distintos compuestos aromáticos en el plano, en función de los dos primeros ejes principales (Componente 1 y Componente 2). Los compuestos aromáticos se sitúan aleatoriamente a lo largo de los ejes principales, tanto en su parte positiva como en su parte negativa.

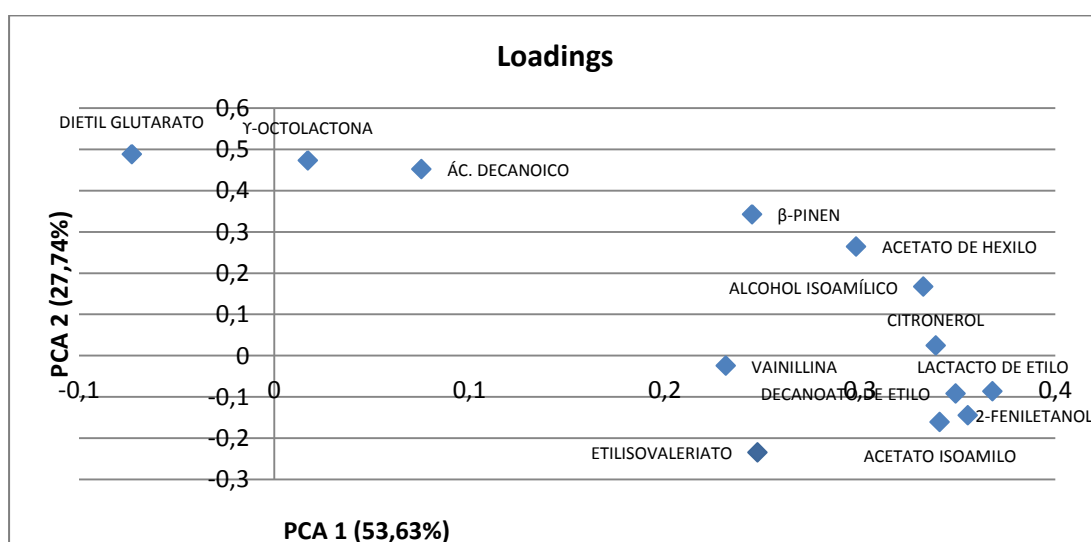


FIGURA 5. Resultado del Análisis de Componentes Principales. Gráfico de cargas (loadings).

En la Figura 6 se ve la proyección de los resultados de los tratamientos con cobre y cobre más cortezas, representándose la primera componente frente a la segunda. La distribución presenta diferencias según el tratamiento. En el gráfico de puntuaciones se ve una clara diferenciación entre los tratamientos con cobre y cobre más cortezas. Se observa que el tratamiento con cobre se sitúa en el eje izquierdo, por el contrario el testigo y el tratamiento con cobre más cortezas se distribuyen en la parte derecha del plano.

En la figura 7 se ve la proyección de los datos teniendo en cuenta la materia prima y en el gráfico 8 considerando el clarificante. Como se puede apreciar claramente, en el gráfico de puntuaciones no se ve una clara diferenciación por materia prima ni por clarificante.

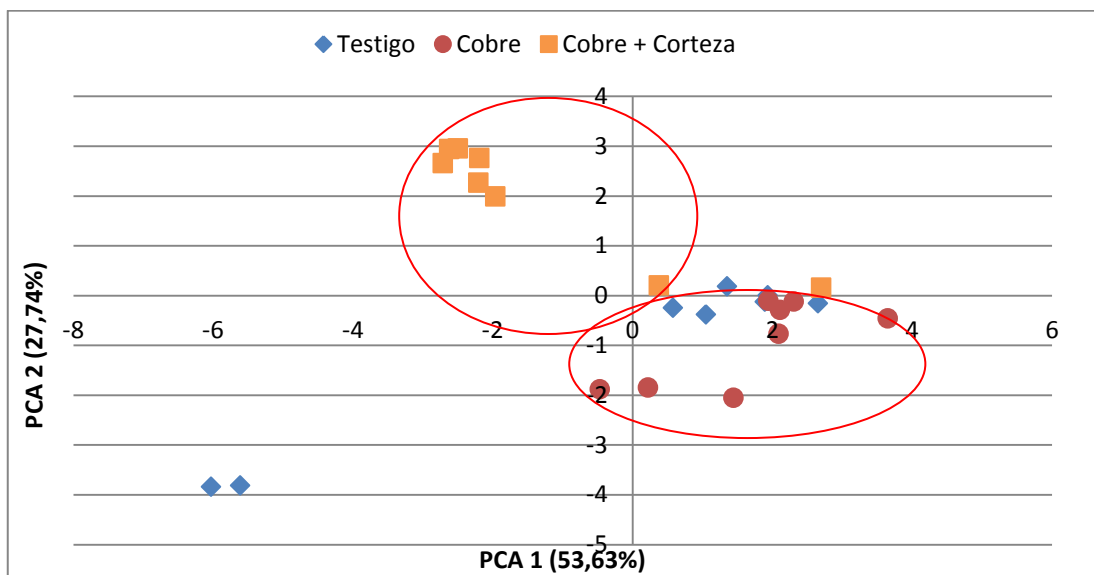


FIGURA 6. Análisis de los componentes principales. Representación de scores en el plano formado por los componentes principales PC1 y PC2 en función del tipo de tratamiento.

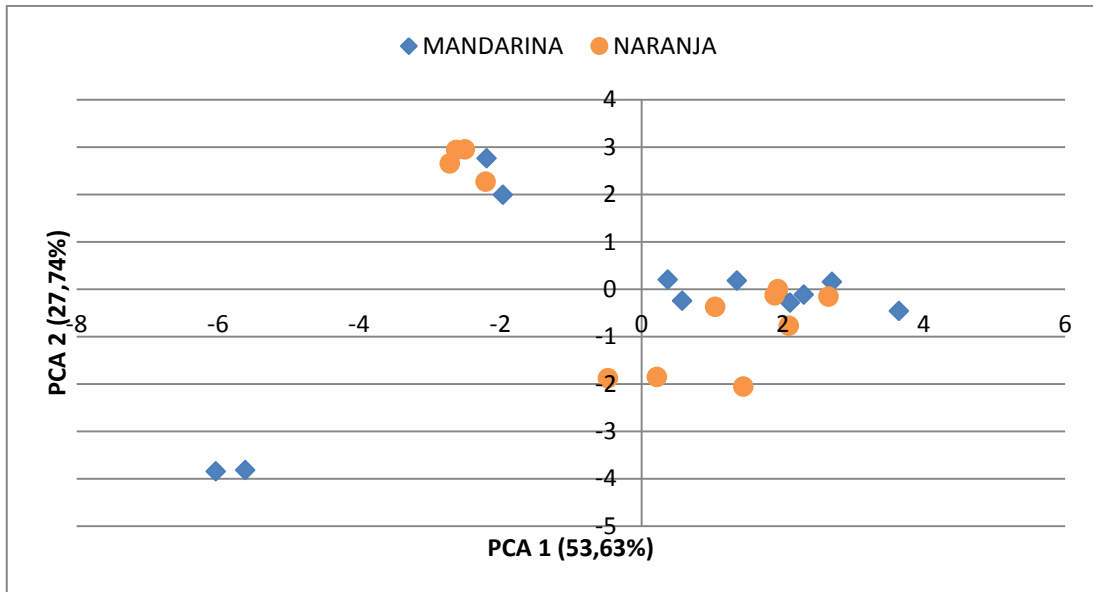


FIGURA 7. Análisis de los componentes principales. Representación de scores en el plano formado por los componentes principales PC1 y PC2 en función de la materia prima utilizada.

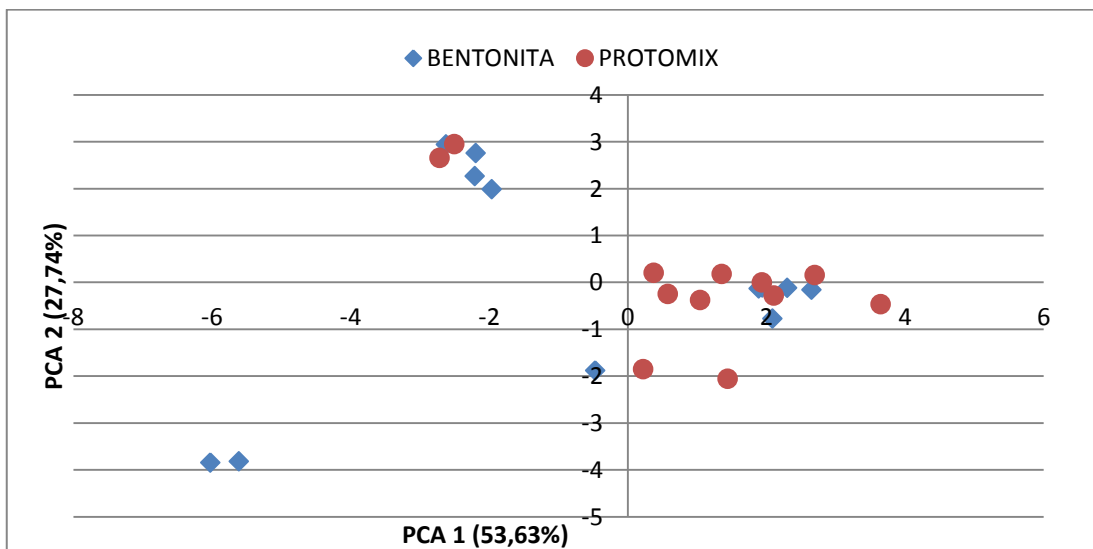


FIGURA 8. Análisis de los componentes principales. Representación de scores en el plano formado por los componentes principales PC1 y PC2 en función del clarificante.

4. CONCLUSIONES

El vino de naranja es una alternativa emergente para la elaboración y comercialización en el mercado de un nuevo producto cuya trayectoria es corta en el campo de la investigación. Es importante continuar investigando en lo referente a los vinos cítricos, especialmente en nuestro país donde los trabajos se han centrado fundamentalmente en el vino de uva.

Los resultados del estudio muestran que la adición de sulfato de cobre a los vinos para evitar aromas de reducción produce una pérdida significativa de algunos compuestos como etilisovalerato y el alcohol isoamílico.

La adición de sulfato de cobre más corteza de naranja y mandarina a los vinos tiene un efecto negativo sobre su composición volátil ya que estos presentan concentraciones menores de: etilisovalerato, acetato de isoamilo, lactato de etilo, dietilglutarato, y 2 feniletanol, compuestos que contribuyen favorablemente al aroma del vino. Esto puede ser debido a algún fenómeno de adsorción.

En cuanto al efecto de los clarificantes ensayados, los resultados han mostrado que el Protomix permite obtener vinos más ricos en compuestos volátiles frente a la bentonita, sobretodo en el caso del vino de mandarina.

En fin, las referencias presentadas en este trabajo de investigación pretenden servir de aportaciones concretas y modestas al ámbito de estudio del vino de naranja, en la confianza de su continuación y progreso para la mejora y expansión de este producto en el entorno científico, legal, comercial y social.

5. REFERENCIAS

- Aleixandre Benavent J.L.2006. La cultura del vino. Cata y degustación. UPV.
- Barón, R.; Mayen, M.; Merida, J.; Medina, M.; 1997. Changes in phenolic compounds and colour in pale Sherry wines subjected to fining treatments.Z *LebensmUntersForsch A*, 205: 474-478
- Casassa, F.; Sari, S. 2006. Aplicación del Sistema Cie-Lab a los vinos tintos. Correlacion con algunos parámetros tradicionales. *Revista Enologia*NºIII.
- C.I.E. 1986. Colorimetrie, 2nd ed. Publication C.I.E N°15, 2. Viena: Central Bureau of the ComisionInternationale de L'Eclairage.
- Dubois, P. 1994. Les arômes des vins et leursdéfauts. *RevueFrançaised'Oenologie*, nº 145, 27-39; y nº 146, 39-50.
- FAO (2012) Frutos cítricos frescos y elaborados. Estadísticas anuales 2012. CCP:CI/ST/2012
- Ferreyra, M.M.; Schwab, M.C.; Gerard, L.M.; Zapata, L.M.; Davies, C.V.; Hours, R.A. 2009. Fermentacion alcohólica de jugo de naranja con *S. cerevisiae*. *Ciencia, Docencia y Tecnologia*, N°39, Año XX

- Guillou, C.; Aleixandre, J.L.; Garcia, M.J.; Lizama, V. 1998. Influence de la clarification sur les caractéristiques analytiques et sensorielles du vin sec de muscat. *J. Int. Sci. Vigne Vin*, 32, n°2, 111-119
- Lambri M., Dordoni R., Silva A. y Manara M. "Impiego di bentonite su mosto e vino di una cultivar aromatica", [en línea]. *Infowine - Rivista internet di viticoltura ed enología*. N7/2. (2008) Dirección URL: <<http://www.dalcin.com/ita/news/ITA/bentoniteVinidea.pdf>>. [Consulta: 08 Sept. 2013]
- Loesecke, H.W.; Mottern, H. H.; Pulley, G. N. 1936. Wines, Brandies, and Cordials from Citrus Fruits. *Industrial and Engineering Chemistry*, Vol. 28, No. 10
- Lubbers, S.; Charpentier, C.; Feuillat, M. 1996. Etude de la retention de composés d'arome par les bentonites en mout, vin et milieux modèles. *Vitis*, 35 (1), 59-62
- Lubbers, S.; Guerreau, J.; Feuillat, M. 1995. A study on the efficiency of protein removal of commercial bentonites on must and wines of Chardonnay and Sauvignon vine varieties. *Bulletin de l'OIV* 68 (769-770), 224-244
- Martínez-Rodríguez, A. J.; Polo, M. C. 2003. Effect of the addition of bentonite to the tirage solution on the nitrogen composition and sensory quality of sparkling wines. *Food Chemistry*, 81, 383-388.
- Mena, P.; Gironés-Vilaplana, A., Martí, N.; García-Viguera, C. 2011. Pomegranate varietal wines: Phytochemical composition and quality parameters. *Food Chemistry*, 133 108-115
- Morris J.R. y Main G.L. "Agentes Clarificantes para vino", [en línea]. *Mundo Alimenticio*. (2007) Dirección URL: <http://www.alimentariaonline.com/media/MA018_CLARIVINO_F.pdf>. [Consulta: 08 Sept. 2013]
- Morro V.; García MJ.; Álvarez I.; Lizama V. y Aleixandre JL. "Estudio comparativo de los compuestos volátiles de vinos de tempranillo sometidos a maceración prefermentativa en frío", [en línea]. *Universitat Politècnica de València*. (2009) Dirección URL: <<http://hdl.handle.net/10251/13006>> [Consulta: 08 de Sept. 2013]
- Olivero, R. E.; Aguas, Y.; Cury, K. 2011. Evaluation of effect of various strains of yeast (Montrachet, K1-V1116, EC-1118, 71B-1122 y IVC-GRE) and clearer on the sensory attributes orange wine (Citrus sinensis). *Rev. Colomb. Biotecnol.*, Vol. XIII No. 1 163-171
- Pino, J.A.; Queris, O. 2011. Analysis of volatile compounds of mango wine. *Food Chemistry*, 125 1141-1146
- Resolución de la Dirección General de Industria y Mercados Alimentarios (de 25 de agosto de 2011), por la que se publica la Orden de 6 de julio de 2011, de la Consejería de Agricultura y Pesca de la Junta de Andalucía, por la que se reconoce el nivel de protección de vino aromatizado con Denominación de Origen al «Vino Naranja del Condado de Huelva».
- Selli, S. 2007. Volatile constituents of orange wine obtained from moro oranges (Citrus sinensis [L.] osbeck). *Journal of Food Quality*, 30 330-341
- Selli, S.; Cabaroglu, T.; Canbas, A. 2003. Flavour components of orange wine made from a Turkish cv. Kozan. *International Journal of Food Science & Technology*, Volumen 38, issue 5, pages 587-593

- Selli, S.; Canbas, A.; Cabaroglu, T.; Erten, H.; Lepoutre, J.P.; Gunata, Z. 2006. Effect of skin contact on the free and bound aroma compounds of the white wine of *Vitisvinifera* L. cvNarince. *Food Control*, 17 75–82. Referencia “a”
- Selli, S.; Canbas, A.; Cabaroglu, T.; Erten, H.; Günata, Z. 2006. Aroma components of cv. Muscat of Bornova wines and influence of skin contact treatment.*Food Chemistry*, 94 319–326. Referencia “b”
- Selli, S.; Cabaroglu, T.; Canbas, A.; Erten, H.; Nurgel, C. 2003.Effect of skin contact on the aroma composition of the musts of *Vitisvinifera* L. cv. Muscat of Bornova and Narince grown in Turkey.*Food Chemistry*, 81 341-347
- Selli, S.; Canbas, A.; Varlet, V.; Kelebek, H.; Prost, C.; Serot, T. 2008. Characterization of the Most Odor-Active Volatiles of Orange Wine Made from a Turkish cv. Kozan (*Citrus sinensis* L. Osbeck). *J. Agric. Food Chem*, 56, 227–234
- Selli, S.; Kürkçüoğlu, M.; Kafkas, E.; Cabaroglu, T.; Demirci, D.; Baser, K.H.C.; Canbas, A. 2003.Volatil flavor components of mandarin wine obtained from clementines (*Citrus reticula* Blanco) extracted by solid-phase microextraction. *FlavourFragr. J.* 19: 413-416
- Ubeda, J.F.; Gonzalez, F.; Gonzalez, M.A. 2000.Evaluation of the formation of volatiles and sensory characteristics in the industrial production of white wines using different commercial strains of the genus *Saccharomyces*.*Food Control*, 11 143-147
- Vanrell G.; Canals R.; Canals J.M.; y Zamora F. 2004. “Influencia de la clarificación sobre la fracción proteica del vino blanco; Efecto preventivo sobre la quiebra proteica y consecuencias organolépticas (aroma, espuma,...)”, [en línea]. *Unidad de Enología del Centro de Referencia en Tecnología de Alimentos de la Generalidad de (CeRTA). Departamento de Bioquímica y Biotecnología. Facultad de Enología de Tarragona. Universidad Rovira i Virgili.*(2004) Direccion URL: <<http://garnachaderioja.es/ingles/pdf/texto.pdf>>. [Consulta: 08 Sept. 2013]
- Víctor M.J. “Evaluación de la estabilidad del vino de naranja (*Citrus sinensis*) usando un agente y una enzima clarificante”, [en línea]. *Zamorano: Escuela Agrícola Panamericana.* (2006)
 DirecciónURL: <<http://hdl.handle.net/11036/783#sthash.hOBpCCVM.E7kIPK2m.dpuf>>. [Consulta: 08 Sept. 2013]
- Zamora F. “El potencial de oxidorreducción en enología”, [en línea]. *Acenología.* (2010)
 Dirección URL: <http://www.acenologia.com/cienciaytecnologia/potencial_oxido_reduccion_cien0210.htm>. [Consulta: 08 Spet. 2013]