



UNIVERSIDAD
POLITECNICA
DE VALENCIA

ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR DE
INGENIERÍA AGRONÓMICA Y DEL MEDIO
NATURAL

TRABAJO FIN DE MÁSTER EN ENOLOGÍA

Predicción del „pinking“ en los vinos
blancos

Autora:
Irene Martínez Berzosa

Tutora:
M^a Inmaculada Álvarez Cano

Curso académico:
2015/2016
Valencia, Julio 2016

RESUMEN

El "efecto pinking" es un fenómeno oxidativo del vino que se caracteriza por una evolución del color de los vinos blancos hacia una tonalidad gris-rosácea. Puede tener lugar a causa de una ligera oxidación después de un bombeo o filtración, durante los tratamientos de estabilización o después del embotellado. Este problema es relativamente reciente y se relaciona con las técnicas de vinificación modernas. La causa viene dada por la reacción de las proantocianinas con el oxígeno después de la fermentación. En este trabajo se contrastan distintas técnicas predictivas del „pinking“, aplicandolas a los vinos blancos de la bodega Finca Constancia, para establecer la tendencia que tienen estos vinos a sufrir este fenómeno. Los vinos susceptibles se tratan posteriormente con distintos productos clarificantes, para comprobar la eficacia de estos productos en la corrección del problema. Las técnicas predictivas utilizadas resultan eficaces para valorar el riesgo de “pinking”; pero, en cambio, no todas las técnicas curativas ensayadas consiguen evitar que con el tiempo se produzca este defecto.

Palabras clave: pinking, vino blanco, polifenoles

Autora:
Irene Martínez Berzosa

Tutora:
M^a Inmaculada Álvarez Cano

Valencia, Julio 2016

RESUM

L'efecte "pinking" és un fenomen oxidatiu del vi que es caracteritza per una evolució del color dels vins blancs cap a una tonalitat grisa-rossàcea. Pot ocórrer gràcies a una lleugera oxidació després d'un bombeig o filtraci, durante els tractaments d'estabilització o després del embotellat. Aquest problema és relativament recent i es relaciona amb les tècniques de vinificació modernes. La causa ve donada per la reacció de les proantocianines amb l'oxígen després de la fermentació. En aquest treball es contrasten diferents tècniques predictives del "pinking" aplicant-les als vins blancs de la bodega Finca Constancia, per establir la tendència que tenen els vins a sofrir aquest fenomen. Els vins susceptibles es tracten posteriorment amb diferents productes carificants, per comprovar la eficàcia de aquestes productes amb la correcció del problema. Les tècniques predictives utilitzades resulten útils per valorar el risc de "pinking"; però, en canvi, no totes les tècniques curatives assajades aconseguen evitar amb el temps que tinga lugar aquest defecte.

Paraules claus: pinking, vins blancs, polifenols.

Autora:
Irene Martínez Berzosa

Tutora:
M^a Inmaculada Álvarez Cano

València, Julio 2016

ABSTRACT

The "pinking effect" is an oxidative phenomenon of wine characterized by an evolution of color of white wines to a gray-pinkish hue. It may be due because to a slight oxidation after pumping or filtration, during stabilization treatments or after bottling. This problem is relatively recent and is related to modern winemaking techniques. The cause is given by the reaction of oxygen with proanthocyanins after fermentation. In this work different predictive techniques of "pinking" are contrasted, applying them to the white wines of the Finca Constancia winery to establish the tendency of these wines to suffer this phenomenon. Susceptible wines are subsequently treated with various fining products, to test the effectiveness of these products in correcting the problem. Predictive techniques used are effective in assessing the risk of "pinking"; but, however, not all get tested healing technique eventually prevent this defect occurs.

Key words: pinking, white wines, polyphenols.

Author:

Irene Martínez Berzosa

Tutor:

M^a Inmaculada Álvarez Cano

Valencia, July 2016

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Efecto pinking	1
1.2. Compuestos fenólicos	2
1.3. Oxígeno	2
1.4. Hiperoxidación	5
1.5. Estabilidad de los vinos blancos	6
2. JUSTIFICACIÓN DEL TRABAJO Y OBJETIVOS	7
3. MATERIAL Y MÉTODOS	8
3.1. Materia prima	8
3.2. Clarificantes	9
3.3. Procedimiento experimental	10
3.4. Determinaciones analíticas	12
3.5. Tratamiento estadístico	14
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	15
4.1 DETERMINACIÓN DEL RIESGO DE PINKING DE LOS VINOS	15
5. CONCLUSIONES	29
5.1. DETERMINACIÓN DEL RIESGO DE PINKING DE LOS VINOS	29
5.2. EFECTO DE LOS CLARIFICANTES EN LA ATENUACIÓN DEL EFECTO PINKING	29
6. BIBLIOGRAFÍA	31

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Valores de las absorbancias de 405 a 600 nm en los vinos sin tratar.....	15
Tabla 2. Valores de las absorbancias de 405 a 600 nm en los vinos hiperoxidados	16
Tabla 3. Incremento de la absorbancias en los vinos después de la hiperoxidación	16
Tabla 4. Incremento de los parámetros CIELab después del tratamiento por hiperoxidación	18
Tabla 5. Concentración de catequina en los vinos antes y después de ser sometidos al proceso de hiperoxidación, y incremento de éstas durante al final del proceso	20
Tabla 6. Concentración de polifenoles totale en los vinos antes y después de ser sometidos al proceso de hiperoxidación, e incremento de éstos durante al final del proceso.....	21
Tabla 7. Espectro visible de los distintos tratamientos del vino 102 antes y después de oxidarlo.....	23
Tabla 8. Diferencia de color en los vinos tratados con los clarificantes antes y despues de la hiperoxidación (letras distintas indican diferencias al 95%)	25
Tabla 9. Concentración de catequina en los vinos tratados antes y después de ser sometidos al proceso de hiperoxidación, e incremento de éstas durante al final del proceso.....	27
Tabla 10. Concentración de polifenoles totales en los vinos tratados antes y después de ser sometidos al proceso de hiperoxidación, e incremento de éstos durante al final del proceso.....	28

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Mecanismo de activación de la molécula de oxígeno, formación de una especie más reactiva (Danilewicz, 2003).	4
Figura 2. Reacción de Fenton (Danilewicz, 2003).	4
Figura 3. Escala Oxidativa y productos primarios de oxidación (Waterhouse y Laurie, 2006).....	5
Figura 4. Curvas representativas de vinos con y sin efecto pinking.....	11
Figura 5. Representación del espacio CIELAB.....	13
Figura 6. Incremento de la absorbancias en los vinos después de la hiperoxidación.....	17
Figura 7. Gráficas parabólicas del espectro visible de los vinos 399, P52 y Sinfonía. ...	17
Figura 8. Representación de la diferencia de color en los vinos antes y después de hiperoxidarlos	18
Figura 9. Representación de los incremento de a* y b* en el espacio bidimensional....	19
Figura 10. Cambio de color en las copas de los vinos hiperoxidados.	19
Figura 11. Productos utilizados en los tratamientos curativos	22
Figura 12. Representación del espectro visible entre 480 y 550 nm para el vino 102 ..	23
Figura 13. Aspecto visual del vino 102, terminada la clarificación.	24
Figura 14. Diferencia del color (Δa^* y Δb^*) para el vino 102, tratado con los cuatro clarificantes.....	26

1. INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

Los vinos blancos, que aparentemente pueden parecer estables después de realizada su estabilización, pueden sufrir modificaciones en su estado de oxidación-reducción, ocasionando alteraciones en el color de los mismos. Aún si dos colores parecen los mismos a una persona, se pueden encontrar diferencias ínfimas cuando son evaluados con un instrumento de medición de color. Si el color de una muestra no cumple con el estándar, la satisfacción del consumidor se ve comprometida y la cantidad de trabajo y costes aumenta. Es por ello que resulta muy interesante identificar diferencias de color entre una muestra y el estándar antes de la producción.

1.1. Efecto pinking

La alteración a menudo se produce durante el embotellado un vino, ya que durante este proceso se inicia la exposición con el oxígeno. El efecto pinking es a menudo costoso de corregir porque el vino tiene que ser eliminado de la botella. El problema es más significativo cuando se utilizan botellas de vidrio transparente, porque el color es más evidente que cuando se utilizan botellas de color verde. Curiosamente, el pinking ha aparecido incluso con el empleo de los procedimientos de protección en el proceso de elaboración del vino blanco, tales como el uso de sulfitos en prensa, fermentación a baja temperatura, y el uso de gas inerte (nitrógeno, dióxido de carbono). Algunos informes sugieren que la introducción de oxígeno durante la fermentación puede reducir el defecto en los vinos terminados, pero puede inducir cambios en el sabor que puede o no ser deseable en un vino particular.

Este cambio de color no suele afectar a otras características sensoriales, como olor o sabor. Si el proceso de oxidación continúa, el vino comenzará a tornarse marrón. El precursor del cromóforo rosa es el primer componente en oxidarse y lo hace antes de que ocurra el pardeamiento. El pardeamiento está asociado más con la oxidación, pero puede llegar a producir cambios indeseables en el olor y el sabor. La causa de este efecto ha sido controvertida, pero las propiedades fisicoquímicas de los compuestos de tonalidad rosa indican que estos compuestos y sus precursores son compuestos fenólicos.

En 1972, *Singleton* señaló que el pinking podía ser inducido utilizando un agente oxidante. En 1974, *Wildenradt* y *Singleton* demostraron que el peróxido de hidrógeno se produce naturalmente en vinos después de la oxidación, por lo que el peróxido de hidrógeno podría ser responsable de la detección del efecto. En 1977, *Simpson* utiliza peróxido de hidrógeno para evaluar la susceptibilidad de picado en los vinos blancos y concluye que 75 mg/L es la mejor concentración para inducir el defecto.

Las medidas de prevención y curación del pinking han consistido tradicionalmente en llevar a cabo la clarificación con diversos agentes. *Simpson* (1977) observó que el PVPP podría eliminar los compuestos de color rosa y sus precursores. La

polivinilpolipirrolidona (PVPP) es un agente sintético que precipita los polifenoles de bajo peso molecular debido a los enlaces de hidrógeno de los grupos carbonilo del PVPP y de los grupos fenólicos. La clarificación con PVPP puede eliminar los componentes más pequeños que están asociados con el color sin que afecten significativamente a otras propiedades sensoriales, pero un inconveniente del PVPP es su elevado coste. *Tobes* (1980), en cambio, señaló que si bien el PVPP reduce el riesgo de pinking, su eficacia no es muy elevada.

1.2. Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos tienen gran importancia en los vinos, ya que estas sustancias intervienen en los caracteres organolépticos y en algunas de las transformaciones que sufre el vino durante su elaboración y envejecimiento. Sus propiedades son determinantes en la evolución de los vinos en el tiempo, y su presencia y concentración determina los diferentes sistemas de vinificación y operaciones tecnológicas que se emplean (*Mármol et 2009*). Además, los compuestos fenólicos son los principales reactantes del vino que pueden ser oxidados en presencia de oxígeno, un proceso que inicia una cadena de transformaciones químicas que dan lugar al deterioro del vino (*Waterhause y Laurie, 2006*).

Durante la fermentación ocurren sustanciales pérdidas de fenoles (*Du Plessis y Uys, 1968*), posiblemente como resultado de interacciones con proteínas y adsorción superficial de las levaduras. A pesar de la gran disminución de fenoles que esto trae consigo, los mostos que presentan un alto contenido fenólico producirán vinos con una alta concentración fenólica.

Dentro de la fracción fenólica, las leucoantocianinas, tienen un importante rol en la aparición de coloración rosácea en vinos blancos. Esto se debe a su rápida conversión en sales de flavilio, de color rojo, en presencia de oxígeno (*Singleton, 1982*). Estos flavenos pueden formarse por la lenta deshidratación de las leucoantocianinas. Con la presencia de oxígeno durante el almacenaje de los vinos blancos, las leucoantocianinas y las sales de flavilio que se forman, se convierten en pigmentos parduzcos.

1.3. Oxígeno

Las uvas mediterráneas tienen especificidades que las tornan especialmente sensibles a las reacciones de oxidación y de pardeamiento. Estas características son la elevada madurez celular de la pulpa, con una importante concentración en ácidos fenoles oxidables y los pH elevados (*Delteil, 1998b*).

Los mecanismos implicados en estas reacciones fueron desarrollados en distintas publicaciones (*Cheynier et Fulcrand 1998; Delteil, 1998b*).

Para minimizar este efecto hay que proteger estos mostos y uvas del oxígeno, especialmente hasta que la fermentación produzca suficiente cantidad de carbónico.

El oxígeno no reacciona directamente con el sulfuroso. Por lo tanto el sulfuroso actúa

sobre la disolución del oxígeno en el mosto. El sulfuroso es eficaz porque bloquea desde el comienzo las reacciones en cadena que dan compuestos pardos o que destruyen la mayoría de los aromas varietales (*Delteil, 1999*). En bodega, es ilusorio querer impedir el contacto de las uvas y el mosto con el aire. Por el contrario, un sulfitado homogéneo y fraccionado del mosto debe asegurar permanentemente una presencia mínima y eficaz del sulfuroso (*Delteil, 1998a*). Es lo que llamamos la protección “interna” del mosto (*Delteil, 1999*). En el caso de una vendimia mecánica, la protección debe comenzar desde la tolva de la cosechadora (*Delteil, 1998a*). El agregado de anhídrido carbónico en las uvas y en el mosto son eficaces como complemento del sulfuroso; lo convierten en más eficaz limitando los contactos con el aire. Es lo que llamamos la protección “externa” (*Delteil, 1999*), que no puede reemplazar a la protección “interna” pero la completa.

El oxígeno tiene un papel muy importante en el comportamiento de los polifenoles, ya que está relacionado con los siguientes aspectos:

1. Modificación de los compuestos fenólicos produciendo pinking y pardeamiento y modificación del color, de mostos y vinos (oxidación de fenoles).
2. El oxígeno afecta positivamente a la evolución y envejecimiento del vino (disminución de la astringencia, estabilización de los fenoles).
3. Modificación de la fracción aromática, ya que está involucrado en la evolución de los aromas y formación de compuestos ligados al envejecimiento. También está relacionado con la disminución de los aromas varietales y el desarrollo de notas oxidativas.
4. Efecto sobre el crecimiento y la multiplicación de levaduras y otros microorganismos (*Zironi et 2006*).

La oxidación es el proceso químico por el cual un electrón es removido de un átomo, o grupo de átomos, a través de reacciones que pueden o no implicar adición de oxígeno o la pérdida de hidrógeno (*Waterhouse y Laurie, 2006*).

En los vinos tintos se puede producir una mayor oxidación que en blancos, sin que se noten efectos, dado que tienen una mayor carga fenólica (*Singleton, 1987*). Existen dos tipos de oxidaciones, las enzimáticas, que afectan principalmente a los mostos y están mediadas casi en su totalidad por las enzimas orto-difenol-oxido-reductasa (PPO) proveniente de los tejidos vegetales (afecta principalmente a mostos porque el etanol la inhibe) y por la lacasa (que proviene de uvas botrytizadas, no la inhibe el etanol ni el SO₂, se puede desnaturalizar con el empleo de calor), ambas enzimas requieren de sustrato y oxígeno.

Las oxidaciones no enzimáticas (oxidaciones químicas) son las que afectan mayoritariamente a los vinos (*Zironi et al., 2006. Mármol et al., 2009*). En estado normal (Triplete), el oxígeno posee una configuración electrónica que le confiere una reactividad moderada para ligarse con otras moléculas, pero en presencia de metales catalizadores, como el hierro y cobre, aumenta considerablemente su reactividad, pudiendo interactuar con moléculas del vino (*Danilewicz, 2003*).

El oxígeno disuelto en el vino cede un electrón formando un ión superóxido (O_2^-), que en el vino se encuentra bajo la forma de hidroxiperoxilo (HO_2^-). Esta reacción demanda un catalizador para que se lleve a cabo (por ejemplo un metal como el hierro). Al ceder un segundo electrón, se genera peróxido, que en el vino se encuentra como peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y es mucho más estable que el superóxido (Danilewicz, 2003) (Figuras 1 y 2).

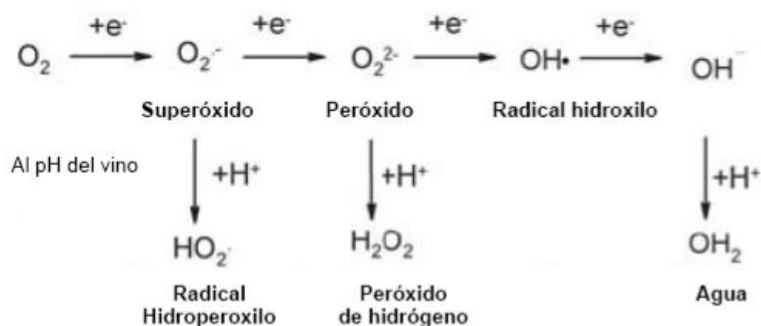


Figura 1 Mecanismo de activación de la molécula de oxígeno, formación de una especie más reactiva (Danilewicz, 2003).

En el año 1894, Fenton plantea que la generación de radicales altamente reactivos, radicales hidroxilo (OH^\bullet), se generan por la catálisis del peróxido de hidrógeno (H_2O_2) en presencia de hierro.

Danilewicz (2003) plantea que por efecto catalítico de iones metálicos se consigue la oxidación de algunas sustancias presentes en el vino, y que esta reacción sería la responsable de la generación de especies reactivas de oxígeno que pueden oxidar el etanol hacia sustancias que son indeseadas en el vino.

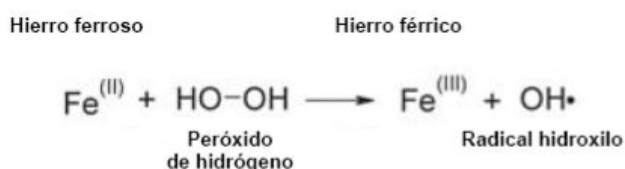


Figura 2. Reacción de Fenton (Danilewicz, 2003).

La figura 3 muestra las reacciones en cadena que se producen en el vino desde que es activado el oxígeno por un metal catalizador, generando radicales hidroxilo, que son los responsables de la oxidación fenólica, llegando a la producción de quinonas y peróxido de hidrógeno. Esta reacción continúa con la escala de reducción al activarse el peróxido de hidrógeno por la acción de un metal de transición, formando nuevos radicales hidroxilos que fomentan la oxidación (Waterhouse y Laurie, 2006).

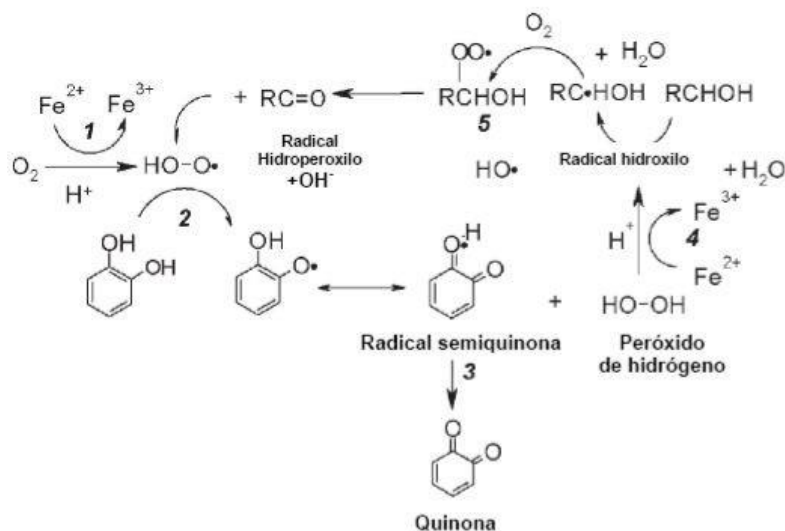


Figura 3. Escala Oxidativa y productos primarios de oxidación (Waterhouse y Laurie, 2006)

1.4. Hiperoxidación

Existen dos estrategias en la gestión de las interacciones entre el oxígeno y el vino. Por una parte la protección “total” del vino al contacto con el aire (técnicas de hiperreducción) y por otro lado la oxigenación controlada del vino (micro o hiperoxidación). Ambos enfoques se utilizan en vinificación con diferentes implicancias tecnológicas y diferentes efectos en el producto final (Zironi et al., 2006).

En la producción de vino blanco no es deseable la presencia de polifenoles ya que cuando se oxidan provocan pinking y pardeamiento en el vino y una alteración del aroma. La oxidación previa de los polifenoles provoca que estos polimericen y precipiten al fondo de la cuba permitiendo su fácil eliminación. Este proceso, denominado hiper-oxidación de mostos, mejora la estabilidad del color y ciertos aromas en los vinos blancos.

Uno de los principales problemas en la elaboración del vino blanco es el contacto del mosto y del vino con el oxígeno del aire en las diversas secciones de elaboración. Resulta difícil evitar este contacto durante las etapas de procesamiento, conservación y almacenamiento. El oxígeno disminuye aromas, destruye el afrutado y oscurece el color (Peynaud, 1977). Según Singleton (1987), la concentración del oxígeno disuelto en un vino saturado alcanza los 8,6 mg/L, pero la cantidad de oxígeno que un vino puede consumir va a depender de la concentración y tipo de fenoles en solución.

En el proceso de vinificación, el control de la temperatura junto con la protección con gas inerte asegurarán la retención de una significativa proporción de los compuestos fenólicos del mosto, incluyendo los compuestos más oxidables (Simpson, 1980; Somers y Pocock, 1991). Actualmente se están empleando varias técnicas para evitar y/o disminuir la tendencia al pinking y al pardeamiento u oscurecimiento de vinos blancos, tales como métodos más suaves de prensado de la uva, mejora en el desfangado de los

mostos, mantenimiento en atmósferas de gases inertes, y en los últimos años, tratamientos de hiperoxidación de los mostos. También se emplean adsorbentes, que son sustancias muy afines con los compuestos fenólicos, reduciéndolos en el vino, los más empleados son la polivinilpirrolidona (PVPP) y el caseinato de potasio (Mármol et al., 2009).

Para algunos, los vinos pardeados denotan la presencia de acetaldehído libre. El acetaldehído dentro de los aldehídos y cetonas, es el compuesto más importante en el vino. Posee un grupo funcional CHO que tiene gran afinidad química con otras moléculas. Su presencia, producto de la oxidación del etanol, está muy ligada a fenómenos de oxidorreducción. Además participa en la evolución de los vinos tintos durante el período de conservación, facilitando la copolimerización de los compuestos fenólicos (antocianinas y catequinas) (Riberau-Gayon et al., 2003). El acetaldehído o etanal (CH_3CHO) puede provenir de la oxidación directa del etanol en presencia de catalizador (Fe y Cu) o bajo la acción de levaduras micodérmicas; puede provenir también de una débil disociación del SO_2 libre. Se puede comprobar en un vino tinto fuertemente oxidado, la necesidad de agregar una dosis de SO_2 superior a la dosis teóricamente necesaria, para combinar todo el acetaldehído presente y hacer desaparecer el pardeamiento (Riberau-Gayon et al., 1976).

1.5. Estabilidad de los vinos blancos

La estabilidad de los vinos, con respecto al sabor, limpidez, color y aroma, es dependiente de las relaciones de varios componentes entre los cuales se incluyen los metales, proteínas y sustancias fenólicas (Singleton, 1987). Las reacciones de oxidación no-enzimática (enturbiamientos) son dependientes de las reacciones proteína-polifenol y de las interacciones con los metales, SO_2 y compuestos proteicos, los cuales tienden a formar complejos con Fe y Cu.

Algunos métodos utilizados para prevenir el contacto del oxígeno con el vino son:

- Antioxidantes, tratamientos térmicos y remoción de polifenoles han sido métodos propuestos para prevenir el oscurecimiento de los vinos blancos (Vaimakis y Roussis, 1997).
- Evitar la exposición al oxígeno. Esto significa un control riguroso de la totalidad del proceso de vinificación desde el prensado hasta el embotellado. Si bien es posible reducir en gran parte el oxígeno que entra en contacto con el vino, no es deseable excluirlo totalmente.
- Utilizando agentes antioxidantes. El uso de agentes reductores como el SO_2 es otra técnica posible, éste posee un muy buen efecto antioxidante.
- Eliminando los polifenoles que causan el pardeamiento. La eliminación de los polifenoles, mediante el uso de agentes de clarificación es el que otorga mejores resultados, pero es imprescindible un grado de selectividad y efectividad en su utilización.

2. JUSTIFICACIÓN DEL TRABAJO Y OBJETIVOS

2. JUSTIFICACIÓN DEL TRABAJO Y OBJETIVOS

El efecto "pinking" no se trata de un nuevo defecto en los vinos, pero desde hace unos pocos años, ha tomado relevada importancia en el sector enológico, debido a la incesante búsqueda de la calidad del producto final.

Actualmente el color de los vinos blancos, es uno de los parámetros de calidad más valorado para los enólogos y consumidores. Por ello, se hace necesario un estudio en profundidad sobre este efecto de oxidabilidad, del cuál, actualmente no existen muchos estudios científicos y que además podría confundirse con otro tipo de oxidación, como es el pardeamiento.

El objetivo del presente trabajo es conocer cómo afecta el efecto "pinking" a diferentes tipos de vinos blancos de Finca Constancia. Para ello se realizan diferentes ensayos, para conocer el grado de oxidabilidad en que se encuentran cada uno de los vinos y, posteriormente se estudia y se valoran diferentes alternativas para solucionar el problema, empleando productos específicos de diferentes casas comerciales y así encontrar la mejor solución para corregir dicho defecto sin que la calidad del producto final se vea afectada.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3. MATERIAL Y MÉTODOS

A continuación se detallan las metodologías empleadas y la selección de muestras objeto del estudio.

3.1. Materia prima

Previamente al ensayo, se estudian detalladamente las muestras que se seleccionan para la realización del trabajo, con el fin de obtener un amplio rango de resultados y conclusiones. Por ello, se ha elegido una gran diversidad de vinos blancos de Finca Constancia. A continuación se describen las características de cada uno de ellos.

Para el primer análisis en el que se determinará que vinos pueden llegar a desarrollar pinking se eligen un total de diez muestras:

- Vino embotellado. Parcela 52 2014. (Denominado P52). Se trata de un vino elaborado con la variedad verdejo. Es un vino muy especial, ya que es una mezcla de tres vinos que han sido elaborados de manera diferente, pero todos ellos en contacto con sus lías finas. Una parte ha fermentado en barrica de 500 L de roble francés y posteriormente permanece en crianza sobre lías durante seis meses. Otra parte ha fermentado en una tina de 10.000 L de roble francés. Y la tercera parte ha fermentado en un depósito de acero inoxidable. Ha sido clarificado con PVPP y ácido ascórbico.
- Vino embotellado. Sinfonía 2014 (Denominado Sinfonía). Se trata de un vino elaborado con la variedad Chardonnay. Es un vino muy especial ya que tiene una crianza en barrica con sus lías finas durante 6 meses. Ha sido clarificado con PVPP pero no con ácido ascórbico.
- Vino sin clarificar. Tina 2015 (Denominado Tina). Se trata de un vino elaborado con la variedad verdejo. Actualmente se encuentra sin clarificar, en una tina de 10.000L. Este vino es uno de los que forma parte del Parcela 52.
- Vino sin clarificar. Barricas 2015 (Denominado Barricas). Se trata de un vino elaborado con la variedad verdejo. Actualmente se encuentra sin clarificar en barricas de 500L. Este vino es otro de los que forma parte del Parcela 52.
- Vino sin clarificar. Depósito en rama 2015 (Denominado 102). Se trata de un vino elaborado con la variedad verdejo. Actualmente se encuentra sin clarificar en depósito de acero inoxidable de 10.000 L. Este vino también forma parte del Parcela 52.
- Vino embotellado. Altozano 2015 con tapón de corcho (Denominado A15C). Se trata de un vino blanco joven elaborado con las variedades verdejo y Sauvignon Blanc. Ha sido clarificado con proteína vegetal, PVPP y ácido ascórbico.
- Vino embotellado. Altozano 2015 con tapón de rosca (Denominado A15R). Se trata de un vino blanco joven elaborado con las variedades verdejo y Sauvignon

Blanc. Ha sido clarificado con proteína vegetal, PVPP y ácido ascórbico.

- Vino embotellado. Altozano 2014 con tapón de corcho (Denominado A14). Se trata de un vino blanco joven elaborado con las variedades verdejo y Sauvignon Blanc. Ha sido clarificado con proteína vegetal, PVPP y ácido ascórbico.
- Vino listo para embotellar. Altozano 2015 (Denominado 3101). Se trata de un vino blanco joven elaborado con las variedades verdejo y Sauvignon Blanc. Ha sido clarificado con proteína vegetal, PVPP y ácido ascórbico y actualmente se encuentra en depósito de acero inoxidable, previo al embotellado.
- Vino sin clarificar. Altozano 2015 (Denominado 399). Se trata de un vino blanco joven elaborado con las variedades verdejo y Sauvignon Blanc. Actualmente se encuentra en rama, sin clarificar.

Las cinco primeras muestras, son vinos blancos que han estado en contacto con sus lías durante y después de la fermentación y algunas de ellas con crianza en madera de roble. Se han elegido para estudiar si este tipo de elaboración influye en el efecto pinking, ya que esos vinos contienen más carga polifenólica.

Las cinco últimas son vinos blancos jóvenes, desfangados y con menos carga polifenólica. La finalidad es conocer como afecta el tiempo embotellado y el tipo de cierre (corcho y rosca).

En ambos grupos se analizan tanto vinos embotellados, como sin clarificar y en depósito.

Los vinos que están en rama (sin clarificar) como: tina, barricas, depósito en rama 102 y depósito en rama 399, han sido filtrados previamente, para evitar interferencias.

3.2. Clarificantes

E1. Polymust V: Es la asociación de una proteína vegetal, específicamente seleccionada para su fuerte reactividad frente a los compuestos fenólicos, y de PVPP para la prevención de la oxidación de los vinos blancos y rosados por la eliminación sobre mostos de compuestos fenólicos susceptibles de capturar los aromas y de alterar el color de los vinos.

E2. Polymust Press: Preparación, libre de alérgenos, que asocia PVPP, bentonita y proteína vegetal destinado al tratamiento preventivo de oxidación de mostos blancos y rosados (eliminación de compuestos fenólicos oxidables y oxidados (quinonas) conservación del contenido en glutatión y limitación de los fenómenos de pardeamiento o «pinking»), a trabajos de afinamiento de los vinos tintos de prensa (reducción de la carga microbiana, clarificación, estabilización duradera de la materia colorante y reducción de la astringencia, del verdor y de las notas metálicas).

E3. Galovin + Elevage Glu: Galovin es un tanino gálico que tiene una alta reactividad frente a las proteínas, reduciendo la actividad de la lacasa y de la tirosinasa frente a los antocianos y los polifenoles. Se emplea sobre todo en mostos y vinos blancos

corrigiendo la alteración del color. Elevage Glu, coadyuvante de afinado a base de preparados de paredes celulares naturalmente ricas en glutatión, permite regular el estado óxido-reductor de los vinos. Este coadyuvante limita su tendencia al pardeamiento y evita la pérdida de los aromas varietales. Esta se puede producir por la reactividad de las quinonas del vino mediante el mecanismo de adición nucleófila con algunos compuestos aromáticos.

En paralelo, se previenen también los problemas de reducción en depósito, ocasionados en fermentaciones problemáticas sin gestión de oxígeno o mediante un contacto prolongado con las lías.

E4. Vinificateur: Evita la acentuación de la intensidad colorante y asegura una mejor estabilidad del color, al mismo tiempo que preserva las cualidades organolépticas del vino. Complejo de montmorillonitas sódicas con un amplio espectro de absorción pero también selectivo con respecto a las proteínas, a las actividades oxidásicas y a los polifenoles.

Polivinilpolipirrolidone (PVPP), para eliminar compuestos fenólicos susceptibles de ser oxidados o polimerizados, que pueden comprometer con el tiempo el color, la limpidez y las cualidades organolépticas de los vinos (33 %).

3.3. Procedimiento experimental

El estudio del efecto "pinking" se ha realizado en Finca Constancia, empleando la técnica de espectrofotometría mediante la utilización de un autoanalizador, y por colorimetría en la Universidad Politécnica de Valencia mediante la técnica de CIEIAB empleando el equipo Minolta. El protocolo de toma y preparación de muestras es idéntico.

Tras el estudio en profundidad de diferentes métodos de análisis para determinar el "efecto pinking", en Finca Constancia se ha establecido el siguiente protocolo:

Se toma una alícuota de 60 mL de muestra por duplicado (una será el testigo y la otra el ensayo) y se introducen en frascos de vidrio opaco de 60 mL.

La sensibilidad al pinking depende de la variedad, potencial redox del vino, del nivel de polifenoles, enzimas oxidásicas, sistema de elaboración etc.

A una muestra de 60 mL de vino se le añaden 0,75 mL de agua oxigenada al 0,3% para inducir su hiperoxidación. Durante las 24 horas en las que el vino debe estar en contacto con el peróxido de hidrógeno, las muestras se deben guardar en la oscuridad. La muestra testigo se guarda tapada y la oxidada abierta, ya que lo que se pretende es provocar la oxidación del vino.

Tras 24 horas se miden ambos (testigo y muestra tratada) a diferentes longitudes de onda comprendidas entre 405 y 600 nm siguiendo el método de análisis establecido por *Simpson et al. (1977)*, que establece que si el vino no es susceptible de presentar dicho efecto, la curva será una parábola perfecta, y si el vino presenta pinking habrá un pico fuera de dicha parábola a 500 nm, como se puede ver en las graficas a continuación

(Figura 4). Además del espectro de absorbancias, a las muestras testigo y tratadas se les determina el espectro CIELAB.

Debido a que la oxidación previa de los polifenoles provoca que estos polimericen y precipiten al fondo, se ha decidido analizar también la concentración de catequinas y polifenoles totales en los vinos antes y después de aplicarles la disolución de peróxido de hidrógeno.

Una vez conocidos los resultados del efecto pinking, es decir, conociendo los vinos que sean potencialmente susceptibles de sufrir oxidación, se procederá a emplear productos comerciales, para conocer la efectividad de los mismos.

Después de emplear las acciones correctivas, se procederá a filtrar el vino nuevamente y a realizar el mismo protocolo de análisis, para comparar resultados.

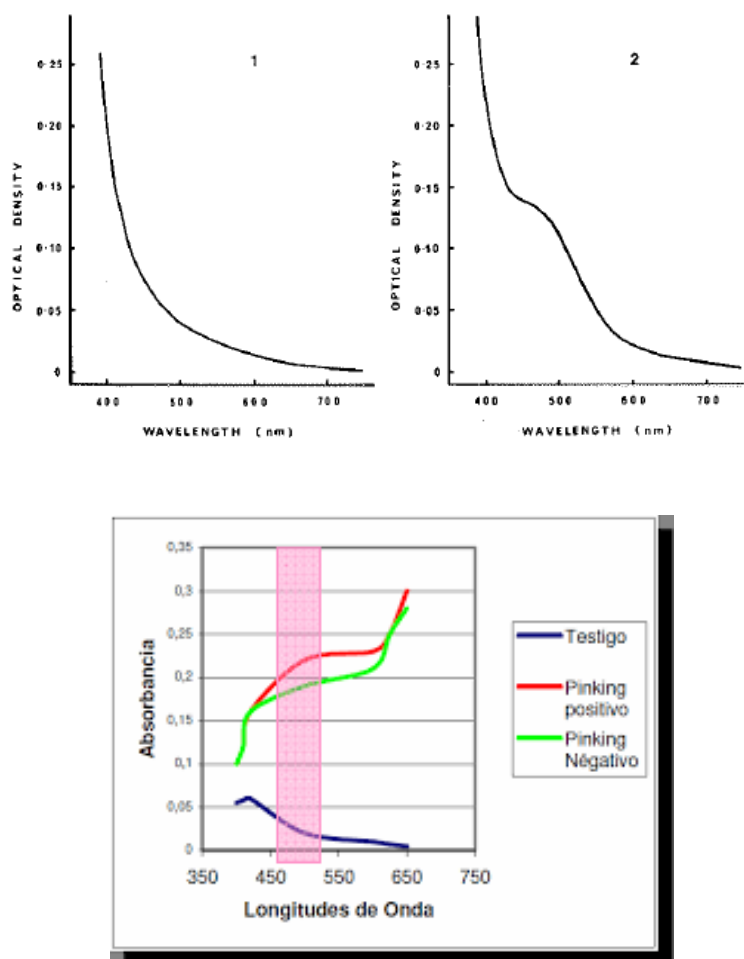


Figura 4. Curvas representativas de vinos con y sin efecto pinking

3.4. Determinaciones analíticas

3.4.1. Espectro visible (*Glories, 1978*).

El color del vino es uno de los atributos fundamentales para su caracterización, apreciación y calidad. El color nos ofrece información sobre el aspecto, tonalidad, intensidad y posibles virtudes o defectos que el vino en cuestión pueda tener, así como el modo en el que ha sido elaborado o la evolución que ha experimentado a lo largo del tiempo.

La determinación consiste en medir las absorbancias de las muestras desde 405 a 600 nm, para obtener su espectro visible.

3.4.2. Concentración de Polifenoles Totales (*Ribéreau-Gayon, 1979*).

Valora la totalidad de los compuestos polifenólicos presentes en la muestra. La determinación de polifenoles totales se basa en la medición de la densidad óptica del vino en un medio fuertemente ácido. Se determina a 280 nm, densidad óptica en la que absorbe el anillo fenólico.

Los polifenoles totales se miden a 280 nm y se determina su concentración con una recta patrón de ácido gálico (MDA_CHEM-842649, Merk).

3.4.3. Catequinas (*Pompei y Peri, 1971*).

Las catequinas son compuestos fenólicos (flavan-3-ol o flavanoles), representados por una extensa familia compuesta por las diferentes formas isoméricas de la catequina: catequina, epicatequina, catequinaatequina; (+)-galocatequina y (-)-galocatequina; (+)-epigalocatequina y (-)-epigalocatequina. La condensación de las catequinas y epicatequinas da lugar a los taninos condensados o procianidinas (proantocianidinas), la condensación se produce en las posiciones seis y ocho de los flavanoles, por tanto cuanto más polimerizados estén los taninos, el número de posiciones libres en 6 y 8 disminuye con el aumento del número de moléculas polimerizadas. El método de cuantificación de catequinas se fundamenta en la capacidad de la vainillina para reaccionar selectivamente con las posiciones seis y ocho de las moléculas de flavanoles, formando un compuesto de adición que, por eliminación de agua, forma un cromóforo rojo. Por tanto, la reacción de la vainillina con las procianidinas da coloraciones menos intensas cuanto más elevado sea el grado de polimerización de los taninos, ya que son menores los puntos de ataque libres.

El procedimiento consiste en determinar la absorbancia a 500 nm del vino tratado con vainillina y sin tratar. Para expresar los resultados en concentración de catequina se realiza una recta de calibrado y se interpola en la recta la diferencia entre las dos absorbancias.

3.4.4. Espacio de color CIElab. Minolta. (1993). Precise color communication.

El espacio de color L*a*b* (también llamado CIELAB) es actualmente uno de los espacios más populares para medir el color de los objetos y se utiliza ampliamente en casi todos los campos. En este espacio, L* indica luminosidad y a* y b* son las coordenadas de cromaticidad. En la Figura se muestra el diagrama de cromaticidad de a*, b*. En este diagrama, a* y b* indican direcciones de colores: +a* es la dirección del rojo, -a* es la dirección del verde, +b* es la dirección del amarillo y -b* es la dirección del azul. El centro es acromático; a medida que los valores de a* y b* aumentan y el punto se separa del centro, la saturación del color se incrementa (Figura 5).

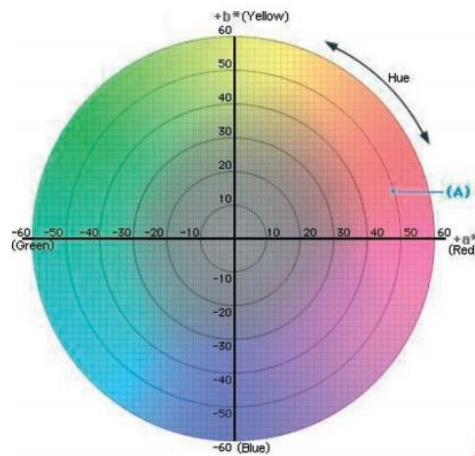


Figura 5. Representación del espacio CIELAB

Un espacio de color en el cual las distancias iguales en el diagrama de coordenadas se corresponden con diferencias iguales en el color percibido. La diferencia de color de ΔE^*_{ab} en el espacio de color L*a*b*, que indica el grado de diferencia de color pero no la dirección, se define mediante la siguiente ecuación:

$$\Delta E^*_{ab} = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2}$$

donde ΔL^* , Δa^* , Δb^* : Diferencia en los valores L*, a* y b* entre el color del ensayo y el color del testigo.

La diferencia de color es definida como la comparación numérica de una muestra con el estándar. Indica las diferencias en coordenadas absolutas de color y se la conoce como Delta (Δ). Deltas por L* (ΔL^*), a* (Δa^*) y b* (Δb^*) pueden ser positivas (+) o negativas (-). La diferencia total, Delta E (ΔE^*), sin embargo, siempre es positiva.

Éstas son expresadas como:

ΔL^* = diferencia en luz y oscuridad (+ = más luminoso, - = más oscuro)

Δa^* = diferencia en rojo y verde (+ = más rojo, - = más verde)

Δb^* = diferencia en amarillo y azul (+ = más amarillo, - = más azul)

ΔE^* = diferencia total de color

3.5. Tratamiento estadístico

El tratamiento estadístico de los valores obtenidos en las determinaciones analíticas realizadas en los vinos producto de las distintas experiencias, se ha llevado a cabo con el programa informático *STATGRAPHICS Plus 5.1* for Windows. Se han realizado análisis de la varianza (ANOVA) para establecer el distinto comportamiento de los vinos ante la hiperoxidación, y el efecto de los tratamientos curativos en la eliminación del riesgo de “pinking”.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de este trabajo se van a estructurar en dos partes, en la primera parte se recogen los resultados de las determinaciones analíticas realizadas en los 10 vinos objeto de este trabajo, antes y después de someterlos a hiperoxidación, para establecer el riesgo de pinking que presentan cada una de ellas. En la segunda parte se ensayan diferentes productos comerciales correctivos en aquellos vinos susceptibles de mostrar pinking en algún momento.

4.1 DETERMINACIÓN DEL RIESGO DE PINKING DE LOS VINOS

En Finca Constancia se midió la absorbancia de las 10 muestras de vino a diferentes longitudes de onda, para obtener la representación gráfica de una parábola, y observar si en el rango entre 480 nm y 520 nm existe una diferencia apreciable entre el ensayo y el testigo, lo que supondría que esa muestra es potencialmente oxidable. Según el protocolo seguido, una diferencia de más de 0,05 puntos de absorbancia en algún punto del rango entre 480 y 550 nm, también es un indicador pinking.

A continuación se muestran los valores de las absorbancias de 405 a 600 nm, en los vinos sin tratar (Tabla 1), en los vinos hiperoxidados (Tabla 2) y el incremento de absorbancias después del proceso de hiperoxidación (Tabla 3 y Figura 6).

Tabla 1. Valores de las absorbancias de 405 a 600 nm en los vinos sin tratar

Antes de la Hiperoxidación										
ABS (nm)	399	3101	A14	A15C	A15R	BARRICAS	102	P52	TINA	SINFONIA
405	0,224	0,163	0,138	0,118	0,137	0,282	0,325	0,184	0,205	0,152
420	0,148	0,127	0,114	0,069	0,090	0,177	0,271	0,117	0,128	0,113
480	0,049	0,019	0,039	0,009	0,000	0,077	0,156	0,056	0,024	0,050
520	0,007	0,001	0,010	0,000	0,000	0,042	0,082	0,015	0,019	0,001
560	0,000	0,008	0,009	0,000	0,000	0,028	0,077	0,000	0,000	0,000
600	0,007	0,000	0,000	0,000	0,000	0,024	0,061	0,000	0,000	0,009
620	0,000	0,003	0,006	0,000	0,000	0,014	0,053	0,000	0,023	0,000

Podemos observar que ya en el espectro visible de los vinos sin tratar, se observan diferencias importantes, sobre todo en los vinos de bodega y el 102, aunque en algunas longitudes de onda, los vinos 399, P52, Tina y Sinfonía también presentan valores más elevados de absorbancia.

Tabla 2. Valores de las absorbancias de 405 a 600 nm en los vinos hiperoxidados

Después de la Hiperoxidación										
ABS (nm)	399	3101	A14	A15	A15R	BARRICAS	102	P52	TINA	SINFONIA
405	0,239	0,138	0,129	0,092	0,081	0,511	0,522	0,153	0,213	0,160
420	0,158	0,082	0,065	0,041	0,067	0,443	0,423	0,065	0,173	0,115
480	0,056	0,028	0,020	0,000	0,013	0,257	0,298	0,013	0,108	0,036
520	0,030	0,000	0,004	0,000	0,000	0,166	0,232	0,007	0,049	0,034
560	0,039	0,000	0,000	0,000	0,000	0,119	0,153	0,000	0,034	0,000
600	0,026	0,000	0,000	0,000	0,000	0,069	0,107	0,001	0,014	0,000
620	0,032	0,000	0,000	0,000	0,000	0,074	0,105	0,000	0,004	0,000

Después de la hiperoxidación inicial se incrementan los valores de absorbancia en general, lo que indica un aumento de color.

Tabla 3. Incremento de la absorbancias en los vinos después de la hiperoxidación

Incremento Absorbancia										
ABS (nm)	399	3101	A14	A15C	A15R	BARRICAS	102	P52	TINA	SINFONIA
405	0,015	0,025	0,009	0,026	0,056	0,229	0,197	0,031	0,008	0,008
420	0,010	0,045	0,049	0,028	0,023	0,266	0,151	0,052	0,045	0,002
480	0,008	0,009	0,019	0,009	0,013	0,181	0,143	0,042	0,084	0,014
520	0,023	0,001	0,006	0,000	0,000	0,123	0,150	0,008	0,030	0,033
560	0,039	0,008	0,009	0,000	0,000	0,091	0,076	0,000	0,034	0,000
600	0,019	0,000	0,000	0,000	0,000	0,045	0,046	0,001	0,014	0,009
620	0,032	0,003	0,006	0,000	0,000	0,060	0,052	0,000	0,019	0,000

Se encuentra un incremento de absorbancia entre 480-520 nm mayor a 0,05 puntos en Barricas, 102 y Tina. Por tanto estos vinos estarán en riesgo de pinking, y serán tratados posteriormente con clarificantes para intentar minimizar este riesgo.

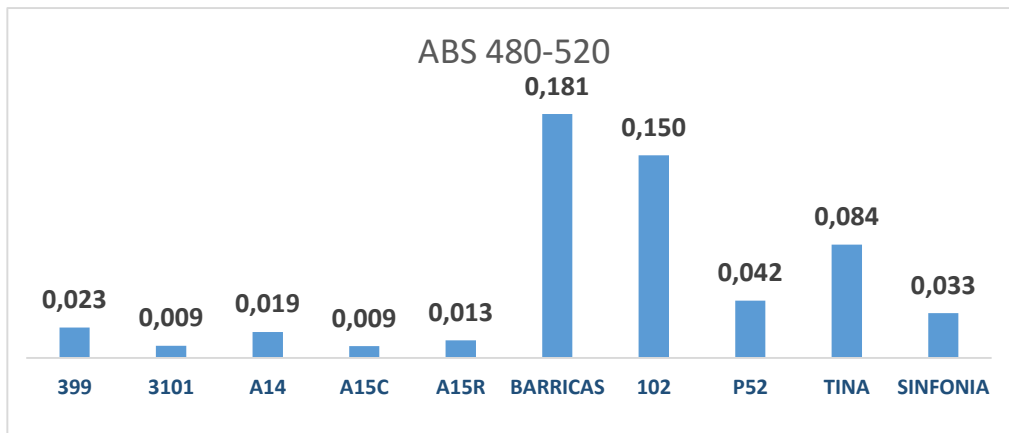


Figura 6. Incremento de la absorbancias en los vinos después de la hiperoxidación

Tras estudiar la gráfica parabólica de las muestras 399, P52 y Sinfonía (Figura 7), que se encuentran en el límite del incremento de absorbancia susceptible de pinking, también se decide su tratamiento con clarificantes.

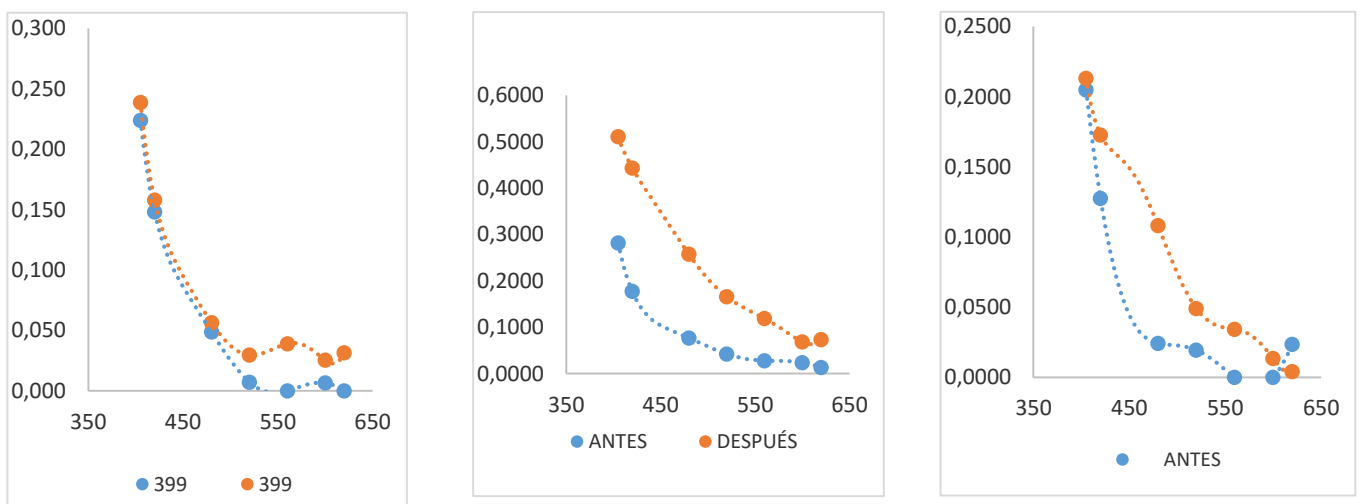


Figura 7. Gráficas parabólicas del espectro visible de los vinos 399, P52 y Sinfonía.

Además de los resultados obtenidos en Finca Constancia, los vinos se analizaron mediante colorimetría CIElab en la Universidad Politécnica de Valencia. En la Tabla 4 se recoge el incremento en los valores de la componente a^* , b^* , L^* y del incremento del color (ΔE), en los vinos después de la hiperoxidación, y en la figura 8 se muestra su representación gráfica.

Tabla 4. Incremento de los parámetros CIELab después del tratamiento por hiperoxidación

MUESTRA	Δa	Δb	ΔL	ΔE
A14	0,77	-4,14	0,78	4,31
A15C	1,94	-3,78	0,26	4,29
399	7,44	11,12	-7,63	15,44
3101	0,87	-4,83	0,65	4,95
P52	5,97	6,13	-6,87	10,98
102	9,44	16,09	-9,02	20,75
A15R	1,11	-4,24	0,19	4,39
Sinfonia	3,79	9,48	-5,30	11,50
Tina	7,40	2,87	-5,93	9,92
Barricas	8,12	22,03	-9,50	25,41

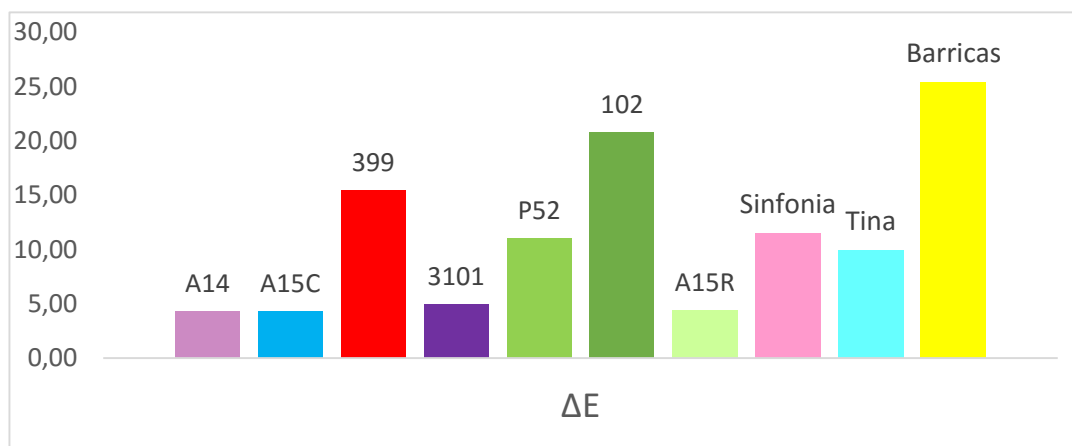


Figura 8. Representación de la diferencia de color en los vinos antes y después de hiperoxidarlos

A la vista de los resultados, se observa que la diferencia de color entre los vinos 399, P52, 102, SINFONIA, TINA Y BARRICAS, antes y después de la hiperoxidación, muestra que estos vinos tienen un potencial elevado de padecer el efecto pinking.

El incremento positivo de a^* nos indica que el vino después de la oxidación, aumenta su tonalidad roja, por ello este parámetro es muy importante para seleccionar las muestras que puedan tener pinking. En la tabla 4, 102, Barricas, 399 y Tina son las muestras con mayor incremento positivo de a^* . Corroborando estos datos con los obtenidos en Finca Constancia, se observa que coinciden las muestras que serán tratadas con clarificantes.

En la figura 8, se representa el incremento total del color que existe entre la muestra testigo y la oxidada. Si bien las que mayor incremento presentan son Barricas, 102 y 399 coincidiendo con las de mayor incremento a^* , también aparecen en cuarto y quinto lugar Sinfonia y P52, por encima de Tina. Se puede deducir de esto que Sinfonia y P52, son susceptibles de sufrir oxidación por pardeamiento y no tanto por pinking, pero se decide tratar ambos con clarificantes para corroborar estas suposiciones.

Del mismo modo, se representa en un gráfico CIElab, los incrementos de a^* y b^* (Figura 9), corroborando de este modo que son esos vinos los que aumentan su tonalidad rosácea. También, en la figura 10 podemos apreciar el cambio de color en las copas de los vinos hiperoxidados.

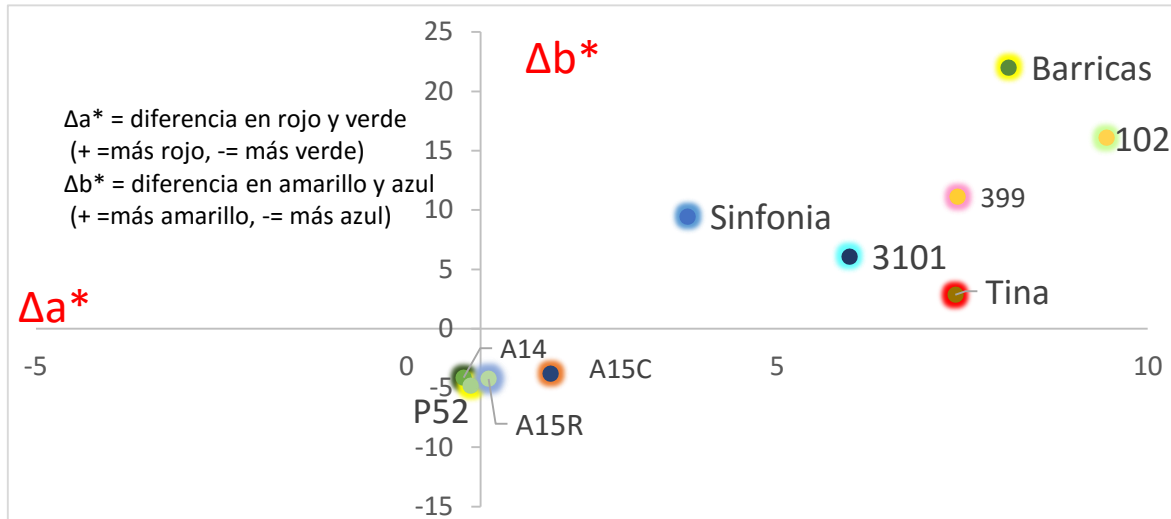


Figura 9. Representación de los incrementos de a^* y b^* en el espacio bidimensional



Figura 10. Cambio de color en las copas de los vinos hiperoxidados.

Son por tanto estos vinos los que serán tratados con un total de cuatro productos enológicos, cuyas fichas técnicas se adjuntan, y posteriormente se volverán a analizar siguiendo la misma metodología, para comprobar si el defecto se corrige.

En la tabla 5 se observan los valores de la concentración de catequina en los vinos antes y después de ser sometidos al proceso de hiperoxidación. Debido a que la oxidación previa de los polifenoles provoca que estos polimericen y precipiten al fondo, los polifenoles van a descender durante el proceso, y por tanto las catequinas. En aquellos vinos que no presentan riesgo de pinking, la concentración de catequinas va a disminuir de forma evidente, siendo el incremento fuertemente negativo. En cambio, en los vinos con riesgo de pinking, los fenómenos de oxidación son más intensos que los de polimerización y precipitación, por tanto habrá una menor disminución en la concentración de catequinas. Los experimentos electroquímicos muestran que los mecanismos de la oxidación de las catequinas están relacionados con la presencia de los grupos catecol y resorcinol, siendo además la oxidación dependiente del pH. El primer paso de la oxidación es una reacción reversible. El grupo hidroxilo del grupo funcional del resorcinol oxidado, tras este primer paso, deviene en una reacción irreversible de oxidación (*Janeiro y Oliveira, 2004*).

Tabla 5. Concentración de catequina en los vinos antes y después de ser sometidos al proceso de hiperoxidación, y incremento de éstas durante al final del proceso

CATEQ mg/L	Antes oxidación			Después de oxidación			Δ catequinas
A14	65,35	±	8,03	28,42	±	4,58	-36,93
A15C	65,91	±	4,78	22,71	±	1,81	-43,20
399	67,81	±	9,06	64,55	±	4,60	-3,26
P52	82,22	±	7,24	67,11	±	3,56	-15,11
3101	51,27	±	16,78	18,41	±	2,49	-32,86
102	63,89	±	11,08	50,87	±	5,18	-13,02
A15R	74,00	±	10,50	41,90	±	6,47	-33,90
Sinfonía	66,41	±	14,59	53,03	±	2,89	-13,38
Tina	79,16	±	8,82	63,11	±	5,86	-16,06
Barrica	43,16	±	18,41	34,41	±	3,97	-8,75

En la tabla 6 se recogen los valores medios de la concentración de polifenoles totales en los vinos antes y después de ser sometidos al proceso de hiperoxidación. Los vinos que mayor contenido inicial de polifenoles tienen son los más susceptibles a sufrir pinking. La hiperoxidación da lugar a precipitación de los polifenoles y por tanto a la disminución de su concentración en el vino. El comportamiento de los polifenoles es contrario al observado en las catequinas, ya que son los vinos con riesgo de pinking los que tienen las mayores pérdidas de polifenoles durante la hiperoxidación.

Tabla 6. Concentración de polifenoles totales en los vinos antes y después de ser sometidos al proceso de hiperoxidación, e incremento de éstos durante al final del proceso

POL mg/L	Antes de oxidación			Después de oxidación			Δ polifenoles
A14	549,16	±	24,08	528,32	±	14,14	-20,84
A15C	572,16	±	8,83	552,76	±	8,59	-19,40
399	753,80	±	51,28	700,28	±	14,13	-53,52
P52	690,32	±	30,85	614,56	±	10,86	-75,76
3101	624,52	±	21,10	611,20	±	12,95	-13,32
102	832,76	±	30,68	765,24	±	24,14	-67,52
A15R	669,76	±	24,29	658,40	±	26,11	-11,36
Sinfonia	776,12	±	12,27	373,80	±	23,20	-402,32
Tina	776,16	±	16,79	541,24	±	27,77	-234,92
Barrica	677,84	±	72,16	537,12	±	38,56	-140,72

4.2. EFECTO DE LOS CLARIFICANTES EN LA ATENUACIÓN DEL EFECTO PINKING

Después de seleccionar las 6 muestras descritas anteriormente, se realiza en cada una cuatro clarificaciones con diferentes productos (Figura 11). Los ensayos son denominados E1, E2, E3 y E4, y corresponden a los productos:

E1. Polymust V: Asociación de una proteína vegetal yPVPP

E2. Polymust Press: PVPP, bentonita y proteína vegetal.

E3. Galovin + Elevage Glu: Tanino gálico y coadyuvante de afinado a base de preparados de paredes celulares.

E4. Vinificateur: PVPP



Figura 11. Productos utilizados en los tratamientos curativos

En la tabla 7 se recogen los resultados obtenidos en el vino 102, para el espectro visible del vino tratado durante 4 días con clarificantes, antes y después de la hiperoxidación

Tabla 7. Espectro visible de los distintos tratamientos del vino 102 antes y después de oxidarlo

102 ABS (nm)	Antes Oxidación					Después Oxidación				
	INICIAL	E1	E2	E3	E4	INICIAL	E1	E2	E3	E4
405	0,3253	0,2200	0,2300	0,3000	0,2000	0,5219	0,4000	0,2800	0,5600	0,2800
420	0,2712	0,1600	0,1900	0,2100	0,1400	0,4226	0,3000	0,2100	0,4800	0,2100
480	0,1557	0,0600	0,1100	0,1200	0,0600	0,2982	0,2000	0,1400	0,3300	0,1400
520	0,0817	0,0600	0,0500	0,1000	0,0100	0,2319	0,1400	0,1100	0,2300	0,1000
560	0,0769	0,0500	0,0500	0,0500	0,0100	0,1528	0,0800	0,0700	0,1900	0,0400
600	0,0610	0,0300	0,0500	0,0500	0,0000	0,1065	0,0400	0,0200	0,1200	0,0200
620	0,0534	0,0500	0,0300	0,0400	0,0000	0,1054	0,0300	0,0300	0,1100	0,0200

A modo de ejemplo, para explicar de manera resumida los resultados, se elige aleatoriamente la muestra 102.

En la tabla 7, se incluyen los datos de absorbanza del espectro visible, de la muestra inicial y de los cuatro ensayos, antes y después de la hiperoxidación. Se observa en la franja de absorbanza a 520 nm, que antes de la oxidación la mayoría de los tratamientos ya han hecho efecto respecto al testigo inicial, es decir, el efecto clarificante a simple vista ha surgido efecto. El único tratamiento que incluso aumenta la absorbanza en esa franja es el ensayo 3, por lo que puede tratarse de enturbiamiento u oxidación. Al observar la parte derecha de la tabla (después de la oxidación) en la que por efecto de la hiperoxidación precipitan los polifenoles que puedan estar interfiriendo por una mala filtración, se corrobora que el ensayo 3 no atenúa ni reduce la oxidación ni el efecto pinking. Estas suposiciones se ven reflejadas en la figura 12.

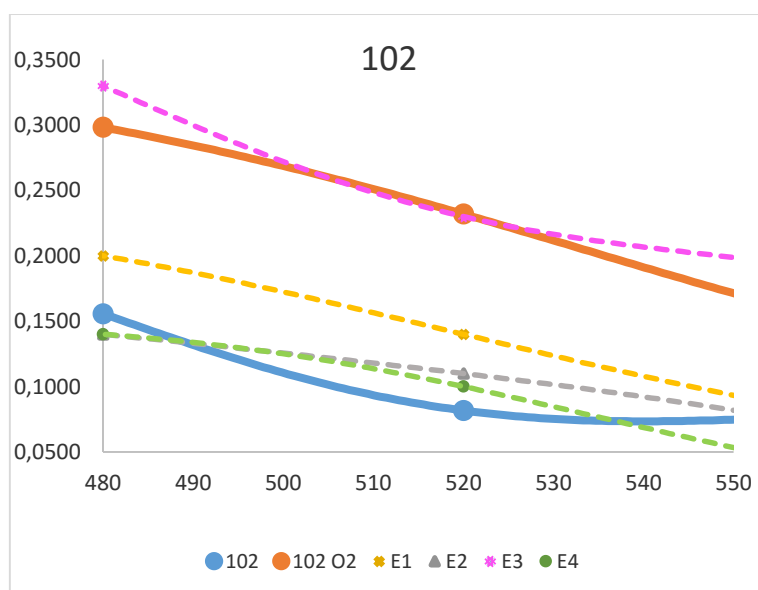


Figura 12. Representación del espectro visible entre 480 y 550 nm para el vino 102

En la figura 12 se representan los datos de absorbancia de la muestra 102 en el rango de longitud de onda entre 480 y 550 nm. En línea continua se representan los valores del vino inicial (en azul antes de oxidación, en naranja después de oxidación) en línea discontinua los 4 tratamientos (después de oxidación). Con esta gráfica se aprecia de manera muy visual qué productos han surgido efecto y en qué medida y cuáles no, como el empleado en el ensayo 3. El ensayo 3, realizado con Galovin y Elevage Glu, incrementa incluso la oxidación, es decir, no elimina el efecto pinking. La absorbancia del resto de tratamientos se aproxima a la del vino inicial sin oxidar, por lo que se deduce que esos tratamientos si son efectivos eliminando los precursores del efecto pinking. Este mismo efecto puede observarse a simple vista (Figura 13), pues se aprecian totalmente límpios, a excepción del 3.



Figura 13. Aspecto visual del vino 102, terminada la clarificación.

La tabla 8 muestra la diferencia de color medida mediante los parámetros CIELab (ΔE), entre los vinos tratados antes del proceso de hiperoxidación, y los vinos sometidos a ello. Si el valor de ΔE es inferior a 3, estaríamos hablando de una diferencia apenas perceptible que se produce entre dos niveles de intensidad del estímulo colorimétrico. O lo que es lo mismo, una diferencia de color muy difícilmente apreciable. Valores superiores a 5 se proponen como inaceptables en la mayoría de procesos ya que indican que la diferencia de color es especialmente evidente.

Se aprecia que las diferencias de color para estos vinos son muy elevadas, aunque con los tratamientos aplicados la diferencia de color es muy inferior a la observada con el vino inicial antes de los tratamientos. Se corrobora la información obtenida por espectrofotometría, en la que se comentaba que el producto empleado en el ensayo 3, ya que este es el que mayor diferencia de color aporta, siendo menos efectivo y el resto de productos, que reducen mucho más la diferencia total de color. De todos los productos ensayados, los que más reducen el color son los tratamientos 1 (Polimust V) y el 4 (Vinificateur).

En la figura 14 se recoge la representación gráfica del incremento de a^* y el incremento de b^* para el vino 102. Un Δa^* positivo indica que el vino se torna más rojo, y Δb^* positivo más amarillo. El tratamiento que más reduce la componente a^* (relacionada con pinking) es el tratamiento 1 (el más efectivo según el ANOVA recogido en la tabla 8, aunque en el vino 102, el que más reduce la oxidación (que incluye el pardeamiento) es el tratamiento 4. Esta información es muy útil para conocer qué tipo de oxidación se está produciendo y qué tratamiento es más efectivo dependiendo de lo que queramos conseguir.

Tabla 8. Diferencia de color en los vinos tratados con los clarificantes antes y después de la hiperoxidación (letras distintas indican diferencias al 95%)

Muestra	Tratamiento	ΔE (Diferencia de color)			
399	Inicial	15,44	±	2,87	
	E1	13,29	±	1,26	a
	E2	11,51	±	2,89	a
	E3	19,75	±	0,23	b
	E4	11,42	±	0,02	a
P52	Inicial	10,98	±	0,87	
	E1	4,03	±	0,72	a
	E2	4,35	±	0,06	b
	E3	7,56	±	0,87	c
	E4	4,53	±	1,27	b
102	Inicial	20,75	±	2,96	
	E1	13,97	±	2,20	a
	E2	12,95	±	3,72	a
	E3	17,94	±	2,18	b
	E4	12,19	±	1,80	a
Sinfonía	Inicial	11,50	±	2,12	
	E1	8,40	±	1,74	a
	E2	9,62	±	0,42	b
	E3	10,51	±	0,01	c
	E4	8,72	±	0,16	a
Tina	Inicial	9,92	±	1,53	
	E1	8,81	±	1,21	b
	E2	11,92	±	0,67	a
	E3	13,92	±	2,15	c
	E4	8,67	±	0,84	ab
Barricas	Inicial	25,41	±	2,83	
	E1	11,03	±	1,21	b
	E2	14,02	±	0,67	a
	E3	21,14	±	2,15	c
	E4	13,70	±	0,84	ab

En esta tabla se recogen los valores de la variación total del color en todos los vinos iniciales y en las cuatro clarificaciones posteriores.

Los cuatro ensayos con clarificantes disminuyen el incremento total del color respecto a la muestra inicial, excepto el ensayo 3 que en algunos casos incluso aumenta dicho incremento.

Dado que en todas las discusiones de los resultados, el ensayo 3 se califica como fallido, es necesario entender por qué, no sólo no disminuye la oxidación si no que en algunos casos, sobre todo en vinos sin clarificar, ésta aumenta.

El ensayo 3 se realiza empleando galovin, un tanino gálico, cabe pensar que al aumentar la carga polifenólica, se produce un efecto contrario al deseado y lo que ocurre es que se encuentran en el medio más polifenoles susceptibles de ser oxidados, produciendo pinking o pardeamiento en los vinos.

Sería útil, emplear este clarificante (Galovin + Elevage Glu) durante la fermentación, para comprobar si su efectividad depende del momento en el que se aplique el tratamiento o si efectivamente, se debe descartar el empleo del tanino gálico en la corrección de oxidaciones en vinos blancos.

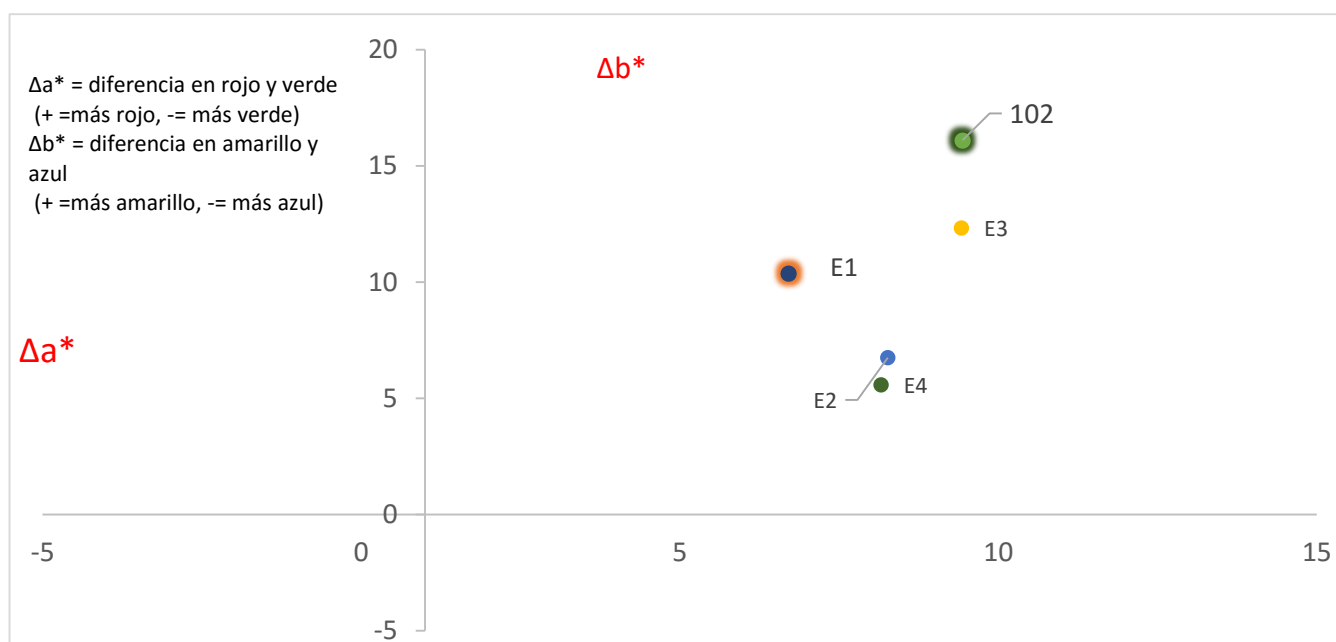


Figura 14. Diferencia del color (Δa^* y Δb^*) para el vino 102, tratado con los cuatro clarificantes

La figura 14 refleja en qué punto inicial se encuentra la muestra a analizar, es decir, si su incremento de color al oxidarse tiende a rojo (pinking) $+a^*$ o hacia el amarillo (pardeamiento) $+b^*$ y cuáles de estas componentes eliminan cada uno de los tratamientos. Si se busca eliminar el efecto pinking, se escogerá el producto cuya representación se encuentre más cerca al eje de ordenadas, es decir, el que represente el valor más bajo de Δa^* . En este caso, elegiríamos el producto del ensayo 1, que si bien no es el que más reduce la concentración total de color, si es el más efectivo para reducir el efecto pinking.

En la tabla 9 se observan los valores de la concentración de catequina en los vinos tratados con los clarificantes, antes y después de ser sometidos al proceso de hiperoxidación. Podemos comprobar como el incremento de la concentración de catequinas en el vino inicial es superior en la mayoría de los casos a la que se observa en los vinos tratados, muchos de los cuales presentan valores más bajos después de los tratamientos. Se observa un comportamiento un poco aleatorio de los distintos clarificantes en la reducción del riesgo de pinking, aunque casi todos lo reducen. De ellos el menos eficaz parece ser el 3(Galovin + Elevage Glu).

Tabla 9. Concentración de catequina en los vinos tratados antes y después de ser sometidos al proceso de hiperoxidación, e incremento de éstas durante al final del proceso

Catequinas mg/L		Antes de oxidación		Despues de oxidación		Δ catequinas	
399	Inicial	47,81	± 9,06	64,55	± 4,60	16,74	e
	E1	45,29	± 0,00	60,96	± 1,13	15,67	d
	E2	38,38	± 0,00	30,78	± 0,75	-7,60	c
	E3	68,67	± 0,00	36,79	± 0,06	-31,88	a
	E4	40,36	± 0,00	27,49	± 4,88	-12,87	b
P52	Inicial	82,22	± 7,24	57,11	± 3,56	-25,11	A
	E1	28,82	± 0,00	15,53	± 0,75	-13,28	b
	E2	36,79	± 0,00	24,57	± 1,50	-12,22	b
	E3	23,50	± 0,00	34,13	± 3,76	10,63	c
	E4	21,91	± 0,00	12,35	± 0,00	-9,56	B
102	Inicial	63,89	± 11,08	50,87	± 5,18	-13,02	B
	E1	42,10	± 0,00	15,00	± 4,51	-27,10	A
	E2	16,07	± 0,00	44,49	± 4,88	28,43	D
	E3	4,38	± 0,00	63,89	± 0,75	59,51	E
	E4	10,75	± 0,00	12,35	± 0,00	1,59	C
Sinfonia	Inicial	66,41	± 14,59	43,03	± 2,89	-23,38	E
	E1	18,72	± 0,00	52,46	± 1,88	33,74	D
	E2	32,53	± 0,00	25,10	± 4,51	-7,43	B
	E3	44,76	± 0,00	17,28	± 0,75	-27,48	A
	E4	49,54	± 0,00	66,28	± 2,63	16,74	C
Tina	Inicial	79,16	± 8,82	23,11	± 5,86	-56,06	A
	E1	44,76	± 0,00	40,24	± 6,39	-4,52	C
	E2	47,95	± 0,00	24,57	± 1,50	-23,38	B
	E3	46,35	± 0,00	15,53	± 2,25	-30,82	B
	E4	43,70	± 0,00	58,57	± 4,51	14,88	D
Barrica	Inicial	43,16	± 18,41	34,41	± 3,97	-8,75	B
	E1	31,48	± 0,00	37,85	± 6,01	6,38	d
	E2	21,38	± 0,00	20,85	± 6,76	-0,53	c
	E3	45,29	± 0,00	23,77	± 0,38	-21,52	a
	E4	59,64	± 0,00	37,05	± 2,63	-22,58	a

En la tabla 10 se recogen los valores medios de la concentración de polifenoles totales en los vinos tratados con clarificantes antes y después de ser sometidos al proceso de hiperoxidación. Los vinos susceptibles a sufrir pinking reducen su riesgo con los tratamientos, ya que el incremento de los polifenoles es muy inferior a los vinos iniciales, siendo el clarificante 3 el que menos incide.

Tabla 10. Concentración de polifenoles totales en los vinos tratados antes y después de ser sometidos al proceso de hiperoxidación, e incremento de éstos durante al final del proceso

POLIFENOLES (mg/L)		Antes de Oxidación		Después de Oxidación		Δ polifenoles	
399	Inicial	753,80	± 51,28	700,28	± 14,13	-53,52	b
	E1	769,36	± 3,73	713,44	± 4,30	-55,92	b
	E2	689,76	± 15,84	637,44	± 6,11	-52,32	b
	E3	1084,08	± 15,05	990,08	± 9,96	-94,00	a
	E4	695,52	± 2,04	694,16	± 4,86	-1,36	c
P52	Inicial	690,32	± 30,85	614,56	± 10,86	-75,76	a
	E1	663,04	± 14,48	550,16	± 3,28	-112,88	d
	E2	721,04	± 9,16	543,44	± 10,52	-177,60	b
	E3	973,76	± 0,45	866,32	± 16,63	-107,44	e
	E4	693,60	± 8,60	540,80	± 15,61	-152,80	c
102	Inicial	832,76	± 30,68	765,24	± 24,14	-67,52	a
	E1	781,60	± 9,73	715,84	± 8,60	-65,76	a
	E2	734,16	± 6,45	705,52	± 5,54	-28,64	c
	E3	1212,40	± 8,49	1165,04	± 5,77	-47,36	b
	E4	783,60	± 5,09	741,92	± 8,15	-41,68	b
Sinfonia	Inicial	776,12	± 12,27	373,80	± 23,20	-402,32	a
	E1	703,28	± 5,32	613,28	± 6,79	-90,00	c
	E2	827,60	± 18,44	659,84	± 3,62	-167,76	b
	E3	1250,40	± 4,98	1137,36	± 6,22	-113,04	c
	E4	775,92	± 1,02	715,84	± 2,26	-60,08	d
Tina	Inicial	776,16	± 16,79	541,24	± 27,77	-234,92	a
	E1	836,48	± 0,68	703,52	± 3,39	-132,96	b
	E2	831,76	± 3,96	718,24	± 4,53	-113,52	c
	E3	829,68	± 2,83	1156,08	± 5,32	326,40	e
	E4	837,04	± 6,22	767,52	± 9,96	-69,52	d
Barrica	Inicial	677,84	± 72,16	537,12	± 38,56	-140,72	a
	E1	841,28	± 12,22	771,52	± 3,17	-69,76	c
	E2	832,96	± 2,94	737,36	± 4,41	-95,60	b
	E3	810,56	± 41,18	1132,88	± 6,00	322,32	e
	E4	809,44	± 40,50	772,40	± 0,11	-37,04	d

CONCLUSIONES

5. CONCLUSIONES

5.1. DETERMINACIÓN DEL RIESGO DE PINKING DE LOS VINOS

- Tras los estudios espectrofotometría realizados, se deduce que los vinos con más riesgo a sufrir pinking son aquellos que han estado en contacto con sus lías finas y aquellos que aún se encuentran en rama. Esto es debido a que la carga polifenólica es mayor.
- De estos vinos, se encuentra una enorme diferencia entre los que han sido clarificados empleando ácido ascórbico, como es el P52, en el cual el efecto pinking ha sido mucho menor que en SINFONIA. De esto se deduce que el ácido ascórbico protege a los vinos del efecto pinking.
- Tras realizar la hiperoxidación en los vinos iniciales se comprueba que la carga polifenólica disminuye notablemente en todos los vinos. Se ven reducidas tanto las catequinas como los polifenoles totales. Esta reducción es muy notable en las muestras BARRICA y SINFONIA, pero no es un dato determinante para saber qué vinos tienen riesgo de sufrir pinking. Aunque si hay una clara tendencia a que los vinos que inicialmente tienen más polifenoles y catequinas, están expuestos a que estos compuestos se oxiden en algún momento y puedan tornarse rosáceos. De esto se deduce que la técnica de hiperoxidación controlada es una buena técnica para eliminar carga polifenólica y sería conveniente realizarla durante la fermentación de los vinos con más riesgo.

5.2. EFECTO DE LOS CLARIFICANTES EN LA ATENUACIÓN DEL EFECTO PINKING

- En la segunda parte se realizan cuatro clarificaciones en los vinos seis seleccionados de la parte I: 102, 399, TINA, BARRICA, SINFONIA y P52. Como primera conclusión, el tratamiento 3 no ha sido efectivo en ninguno de los casos. El tanino gálico y el coadyuvante Elevage Glu, no corrige ni previene la oxidación en vinos blancos acabados. Sería interesante emplearlo en fermentación para comprobar si su efectividad es protectora y no tanto correctiva.
- En líneas generales, no se puede afirmar que exista un tratamiento efectivo universal, ya que dependiendo de la muestra tratada, se ha encontrado la efectividad de uno u otro clarificante.
- El tratamiento 4 ha sido el más efectivo, en los vinos que actualmente se encuentran en rama, es decir, que aún no han sido clarificados. „Vinificateur SR“ que está compuesto por un complejo de montmorillonitas sódicas y PVPP.

Estos resultados son concluyentes en ambas técnicas analíticas. Cabe destacar, que si bien se reduce la carga polifenólica, este compuesto elimina sobre todo catequinas.

- El tratamiento 1, reduce el efecto pinking en todos los casos, pero sólo se muestra como el más efectivo en BARRICAS, eliminando casi por completo la oxidación. „Polymust V“ está compuesto de proteína vegetal y PVPP. Observando las gráficas CIELAB de los componentes $+\Delta a^*$ y $+\Delta b^*$ este tratamiento es el más efectivo para reducir Δa^* (color rojo) en la mayoría de los casos. Se concluye entonces adecuado para eliminar la posible oxidación pinking, pero no tanto para el pardeamiento.
- El tratamiento 2, reduce la oxidación en todos los casos, pero no se muestra como el más efectivo en ninguno de ellos. „Polymust Press“ está compuesto por bentonita, PVPP y proteína vegetal. Tras estudiar los resultados, se concluye que es el más efectivo para eliminar el pardeamiento, es decir, es el que más reduce el componente Δb^* , pero no tanto el efecto pinking. Este producto también está relacionado con una mayor disminución de polifenoles totales sobre todo en vinos acabados (clarificados y embotellados).
- Se asocia la disminución de catequinas con la reducción del efecto pinking, y la disminución de polifenoles con con la reducción del pardeamiento. Se puede concluir, a la espera de realizar más estudios, que la oxidación de las catequinas están relacionadas con el efecto pinking.
- Se recomienda realizar el mismo estudio empleando los productos durante la fermentación y comprobar su efectividad una vez embotellado el vino.

6. BIBLIOGRAFÍA

6. BIBLIOGRAFÍA

- Baron, R., M. Mayen, J. Merida, and M. Medina. 1997. Changes in phenolic compounds and colour in pale sherry wines subjected to fining treatments. *Z. Lebensm.-Unters.-Forsch.* 205:474-478.
- Boulton, R., Singleton, V., Bisson, R., and Kunkee, R. 1996. Principles and Practices of Winemaking. 1ª Edición. 406-411:449.
- Cacho, J., Castells, E., Esteban, A., Laguna, B. and Sagrista, N. 1995. Iron, Copper, and Manganese Influence on Wine Oxidation *American Journal of Enology and Viticulture* 46 (3) 380-384.
- Cheynier, V. 2000. Los compuestos fenólicos. En Flanzy, C. et al., 2000. *Enología: Fundamentos científicos y tecnológicos*. 1ª Ed., 114: 122: 369-374.
- CIE 15.2004. Technical report, colorimetry. Commission Internationale de L'Eclairage.
- Danilewicz, J. 2003. Review of reaction mechanisms of oxygen and proposed intermediate reduction products in wine: Central role of iron and copper. *American Journal of Enology and Viticulture* 54(2): 73-85.
- Danilewicz, J. 2007. Interaction of Sulfur Dioxide, Polyphenols, and Oxygen in a Wine-Model System: Central Role of Iron and Copper. *American Journal of Enology and Viticulture* 58:53- 60.
- Donovan, J.L., J.C. McCauley, N. Tobella Nieto, and A.L. 1998. Waterhouse. Effects of small-scale fining on the phenolic composition and antioxidant activity on Merlot wine. In *Chemistry of Wine Flavor*. A.L. Waterhouse and S.E. Ebeler (Eds.), pp. 142-155. American Chemical Society, Washington, DC.
- Glories, Y. 1984. La couleur des vins rouges. Première partie: Les equilibres des anthocyanes et des tanins. *Conn. Vigne Vin.* (18): 195-217.
- Hunter Lab. 2001. Principios básicos de medida y percepción de color. Información técnica.
- HUNTER LAB. Minolta. 1993. Precise color communication. Manual de colorímetros. MINOLTA.
- Janeiro, P. Y Oliveira, A.M. 2004. Catechin electrochemical oxidation mechanisms. *Analytica Chimica Acta*, Volume 518, Issues 1-2, 109-115.
- Mármol, Z., Cardozo, J., Carrasquero, S., Páez, C., Chandler, C., Araujo, K. y Rincón, M. 2009. Evaluación de polifenoles totales en vino blanco tratado con quitina. *Revista. Facultad Agronomía (LUZ)* . 26: 423-442 .
- Ough, C. 1992. *Winemaking Basics*. 1ª ed. 67-71: 216-219 p. Peynaud, E. and Blouin, J. 2006. *Enología práctica. Conocimiento y elaboración de vino*. 4ª

Edición. 119-138: 235.

- Ough, C. and Amerine, M. 1988. *Methods for Analysis of Musts and Wines*. 2^a ed. Univ. of California. 203-206: 222-231: 316-319.
- Peng, Z., B. Duncan, K.F. Pocock, and M.A. Sefton. 1988. The effect of ascorbic acid on oxidative browning of white wines and model wines. *Austral. J. Grape Wine Res.* 4:127-135.
- Pereira, I.M., and R.H. Moretti. 1977. Physical, chemical and sensory properties of Sauvignon blanc dry white treated with polyvinylpyrrolidone. *Cien. Tec. Alimentos* 17:192-195.
- Pompei y Peri. 1971. Catequinas
- Rankine, B. 1989. *Making good wine. A manual of winemaking practice for Australia and New Zealand*. 1^a Edición. 184-195.
- Razmkhab, S., Lopez-toledano, A., Ortega, J., Mayen, M., Merida, J. and Medina, M. 2002. Adsorption of Phenolic Compounds and Browning Products in White Wines by Yeasts and Their Cell Walls. *Journal of agricultural and food chemistry* (50) 7432-7437.
- Ribéreau-Gayon, 1979. Polyphenol Interactions
- Shah, H. S. 1993. *Medida de igualación en colores textiles*. AIDO. España.
- Simpson, R.F., S.B. Bennett, and G.C. Miller. 1983. Oxidative pinking of whitewines: A note on the influence of sulphur dioxide and ascorbic acid. *FoodTech. Austral.* 35:34-36.
- Simpson, R.F. 1977. Pinking in Australian white table wines. *Austral. WineBrew. Spirit Rev.* 97:56-58.
- Simpson, R.F. 1977. Oxidative pinking in white wines. *Vitis* 16:286-294.
- Singleton, V.L. 1972. Common plant phenols other than anthocyanins, contributions to coloration and discoloration. In *The Chemistry of Plant Pigments*, C.O. Chichester (Ed.). *Adv. Food Res., Suppl.* 3:143-191.
- Tobe, S.T. Pinking in table wines from white grapes. M.S. thesis, University of California, Davis (1983).
- Troost, G. 1985. *Tecnología del vino*. 1^a Edición. 361: 363: 591 p.
- Usseglio-Tomasset, L. 1995. *Química enológica*. 1^a Edición. 321: 333: 337: 353: 361.
- Waterhouse, A.; Laurie, F. 2006. Oxidation of wine phenolics: A critical evaluation and hypotheses. *American Journal of Enology and Viticulture* 57(3): 306-313.
- Wildenradt, H.L., and V.L. Singleton. 1974. The production of aldehydes as a

result of oxidation of polyphenolic compounds and its relation to wineaging.
Am. J. Enol. Vitic. 25:119-126.

- Zironi, R., Comuzzo, P., Tat, L. y Scobioala S. 2009. Oxígeno y vino. Revista Internet de viticultura y enología (Infowine). N° 10/2. 1-5.