

# UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

*ESCOLA TÈCNICA SUPERIOR D'ENGINYERIA AGRONÒMICA I DEL MEDI NATURAL*

GRADO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS



UNIVERSITAT  
POLITÈCNICA  
DE VALÈNCIA

**Comportamiento de tres cepas de levaduras  
seleccionadas sobre la composición polifenólica de las  
variedades Merlot, Garnacha y Cabernet Sauvignon.**

CURSO 2016/2017

VALENCIA, JUNIO 2017

**Alumna:** Sara Herrero González

**Tutora:** Victoria Lizama Abad

**Valencia, junio de 2017**

**Alumna:** Dña. Sara Herrero González

**Tutor:** Prof. Dña. Victoria Lizama Abad

## **RESUMEN**

En este trabajo se analiza el comportamiento de tres cepas de levaduras seleccionadas 32 F, 22 H y 32 C sobre la composición polifenólica de vinos elaborados a partir de las variedades de uva Merlot, Garnacha y Cabernet Sauvignon. Las cepas de levaduras empleadas se tratan de cepas indígenas pertenecientes al género *Saccharomyces cerevisiae*, seleccionadas en un estudio previo de una bodega de D.O. Utiel Requena. Las uvas fueron vendimiadas en su momento óptimo, y se vinificaron, realizando la fermentación con las levaduras seleccionadas. Cuando los vinos terminaron de fermentar, tras tres meses embotellados, se realizó la analítica de los parámetros generales, los relacionados con el color y los relacionados con la astringencia y los resultados obtenidos se sometieron a un análisis estadístico ANOVA para valorar cual es la cepa de levadura que mejor mantiene las características polifenólicas de los vinos.

Al realizar esos análisis se buscaba una cepa de levadura que generara un vino con baja acidez volátil, color estable e intensidad colorante elevada y un elevado contenido en taninos lo más polimerizados posibles para que generara una astringencia adecuada. Se ha observado que las levaduras no influyen tan significativamente sobre el vino como la variedad de uva empleada.

**Palabras clave:** cepa de levadura, Merlot, Garnacha, Cabernet Sauvignon, polifenoles, taninos, antocianos, color.

## **RESUM**

En aquest treball se estudia el comportament de tres ceps de llevat seleccionades 32 F, 22 H y 32 C sobre la composició polifenòlica de vins elaborats a partir de les varietats de raïm Merlot, Garnacha i Cabernet Sauvignon. Els ceps de llevats empleades es tracten ceps indígenes de la espècie *Saccharomyces cerevisiae*, seleccionades en un estudi previ d'un celler de D.O Utiel- Requena. Els raïms van ser vendimiades en el seu moment òptim, i es van vinificar, realitzant la fermentació amb el llevats seleccionats. Quan els vins van acabar de fermentar, després de tres mesos embotellats, es van analitzar els paràmetres generals i els resultats obtinguts es van sotmetre a un anàlisi estadístic ANOVA per a valorar qual és el cep de llevat que millor manté les característiques polifenòliques dels vins.

En realitzar aqueixos anàlisis es cercava un cep de llevat que generara un vi amb baixa acidesa volàtil, color estable i intensitat colorant elevada i un elevat contingut en tanins el més polimeritzats possibles per a generar una astringència adequada. S'ha observat que els llevats no influeixen tan significativament sobre el vi com en la varietat de raïm emprat.

**Paraules clau:** cep de llevat, Merlot, Garnacha, Cabernet Sauvignon, polifenols, tanins, antocians, color.

## **ABSTRACT**

In this study it is analysed the behaviour of three selected yeast strains, 32 F, 22 H y 32 C about polyphenolic composition of wine made from Merlot, Garnacha y Cabernet Sauvignon. Yeast strains used are indigenous strains pertaining to the genus *Saccharomyces cerevisiae*, selected in a previous study of a D.O Utiel Requena. Grapes were harvested at their optimum time, and vinified, fermentating with selected yeasts. When wines finished the fermentation, after three months of bottling, the analysis of general parameters, colour parameters and those related to the astringency were made and the results obtained were analysed on a statistical analysis ANOVA to evaluate what is the yeast strain which maintains the polyphenolic characteristics of wines.

When these analyses were carried out it was to look for a yeast strain that generated a wine with low volatile acidity, stable colour and a high content of tannins as polymerized as possible to generate a good astringency. It was observed that yeasts do not significantly influence as much as the variety of grape does in wine.

**Key words:** Yeast strains, Merlot, Garnacha, Cabernet Sauvignon, polyphenol, tannins, anthocyanin, colour.

	Pág.
<b>1. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
1.1 DIFERENCIA ENTRE LAS LEVADURAS ÍNDIGENAS Y AUTÓCTONAS.....	2
1.2 COMPOSICIÓN POLIFENÓLICA DE LOS VINOS.....	2
1.2.1. Clasificación de los compuestos polifenólicos.....	3
1.2.1.1 Antocianos.....	3
1.2.1.2 Taninos.....	3
1.2.2 Reacciones de interacción entre compuestos polifenólicos.....	4
1.2.2.1 Interacción Tanino-Antocianos.....	4
1.2.2.2 Polimerización por medio de la unión con acetaldehído.....	5
1.3 PAPEL DE LAS LEVADURAS SOBRE LA COMPOSICIÓN FENÓLICA DE LOS VINOS.....	5
<b>2. OBJETIVOS DEL TRABAJO.....</b>	<b>7</b>
<b>3. PLAN DE TRABAJO.....</b>	<b>7</b>
<b>4. MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>8</b>
4.1 VARIEDADES DE UVA.....	8
4.1.1 Merlot.....	8
4.1.2 Garnacha.....	8
4.1.3 Cabernet Sauvignon.....	8
4.2 PROCESO DE ELABORACIÓN.....	10
4.3 MÉTODOS ANALÍTICOS.....	11
4.3.1 Parámetros generales.....	11
4.3.2 Determinación de los compuestos polifenólicos.....	11
4.3.2.1 Compuestos coloreados.....	11
4.3.2.2 Compuestos astringentes.....	12
4.4 TRATAMIENTO ESTADÍSTICO.....	13
<b>5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>14</b>
5.1 EVOLUCIÓN DE LA DENSIDAD DURANTE LA FERMENTACIÓN CON LAS LEVADURAS 32 F, 22 H Y 32 C EN LA VARIEDAD DE UVA MERLOT.....	14
5.2 EFECTO DE LAS CEPAS DE LEVADURA 32 F, 22 H Y 32 C EN LOS PARÁMETROS GENERALES Y POLIFENÓLICOS DE LOS VINOS ELABORADOS CON LA VARIEDAD MERLOT.....	16
5.3 EFECTO DE LAS CEPAS DE LEVADURA 32 F, 22 H Y 32 C EN LOS PARÁMETROS GENERALES Y POLIFENÓLICOS DE LOS VINOS ELABORADOS CON LA VARIEDAD GARNACHA.....	18
5.4 EFECTO DE LAS CEPAS DE LEVADURA 32 F, 22 H Y 32 C EN LOS PARÁMETROS GENERALES Y POLIFENÓLICOS DE LOS VINOS ELABORADOS CON LA VARIEDAD CABERNET SAUVIGNON.....	21
5.5 ANÁLISIS DE LA INTERACCIÓN DE VARIEDADES DE UVA Y CEPAS DE LEVADURA EMPLEADA EN LA ELABORACIÓN DE LOS VINOS MERLOT, GARNACHA Y CABERNET SAUVIGNON.....	23
<b>6. CONCLUSIONES.....</b>	<b>27</b>
<b>7. BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>28</b>

## ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

	Pág.
<b>Figura 1:</b> Proceso de elaboración del vino.....	10
<b>Tabla 1:</b> Medias, desviación estándar y ANOVA de los parámetros convencionales de los vinos de Merlot elaborados con las cepas de levadura seleccionadas.....	16
<b>Tabla 2:</b> Medias, desviación estándar y ANOVA de los parámetros relacionados con el color en vinos de la variedad Merlot elaborados con las cepas de levadura seleccionadas.....	17
<b>Tabla 3:</b> Medias, desviación estándar y ANOVA de los parámetros relacionados con la astringencia en vinos de la variedad Merlot elaborados con las cepas de levadura seleccionadas.....	18
<b>Tabla 4:</b> Medias, desviación estándar y ANOVA de los parámetros convencionales de los vinos de Garnacha elaborados con las levaduras seleccionadas.....	18
<b>Tabla 5:</b> Medias, desviación estándar y ANOVA de los parámetros relacionados con el color de los vinos de Garnacha elaborados con las levaduras seleccionadas.....	19
<b>Tabla 6:</b> Parámetros relacionados con la astringencia en vinos de la variedad Garnacha elaborados con las levaduras seleccionadas.....	20
<b>Tabla 7:</b> Medias, desviación estándar y ANOVA de los parámetros convencionales de los vinos de Cabernet Sauvignon elaborados con las cepas de levadura.....	21
<b>Tabla 8:</b> Medias, desviación estándar y ANOVA de los parámetros relacionados con el color de los vinos de Cabernet Sauvignon elaborados con las cepas de levadura.....	22
<b>Tabla 9:</b> Medias, desviación estándar y ANOVA de los parámetros relacionados con la astringencia de los vinos de Cabernet Sauvignon elaborados con las cepas de levadura.....	23
<b>Tabla 10:</b> Medias, desviación estándar y ANOVA de los parámetros relacionados con los parámetros generales de los vinos elaborados con cepas de levadura comunes a Merlot, Cabernet Sauvignon y Garnacha y su interacción.....	24
<b>Tabla 11:</b> Medias, desviación estándar y ANOVA de los parámetros relacionados con el color de los vinos elaborados con cepas de levadura comunes a Merlot, Cabernet Sauvignon y Garnacha y su interacción.....	25
<b>Tabla 12:</b> Medias, desviación estándar y ANOVA de los parámetros relacionados con la astringencia de los vinos elaborados con cepas de levadura comunes a Merlot, Cabernet Sauvignon y Garnacha y su interacción.....	26

## ÍNDICE DE GRÁFICOS.

<b>Gráfica 1:</b> Evolución de la densidad durante la fermentación en la variedad Merlot.....	14
<b>Gráfica 2:</b> Evolución de la densidad durante la fermentación en la variedad Garnacha.....	14
<b>Gráfica 3:</b> Evolución de la densidad durante la fermentación en la variedad Cabernet Sauvignon.....	15

## 1. INTRODUCCIÓN

El vino se puede definir como una bebida obtenida en la fermentación alcohólica, completa o parcial, de la uva o su mosto. Es un producto que puede variar dependiendo de la uva, los agentes fermentativos y el proceso tecnológico de elaboración.

En la Europa mediterránea el vino está integrado en la cultura alimentaria y ha hecho que se expandiera su consumo a otros lugares del mundo. España presenta la mayor superficie de viñedos ocupando un importante lugar en la economía del vino a nivel internacional y siendo el tercer productor mundial de vino, además España se considera el segundo exportador ya que se vende más vino fuera del que se consume en el propio país (Castillo y Compés, 2014). La caída del consumo de vino en nuestro país ha afectado de forma diferente según la época, años atrás y hasta 2006 se redujo el consumo en el hogar debido a los cambios de hábitos alimentarios, pero se seguían consumiendo vinos de elevada calidad. Sin embargo desde ese momento hasta 2011 descendió el consumo en restauración, cuya causa principal era la crisis económica (Del Rey, 2011). España, Italia, Francia, Portugal y Grecia siempre se han situado entre los países euromediterráneos con mayor tradición de producción, aunque la tendencia actual ha sido disminuir se compensa con las exportaciones de excedentes que realizan a otros países donde su consumo ha sido aumentado. Estos excedentes ponen en apuros la viticultura española, esto se debe al aumento de las plantaciones en los países del nuevo mundo y por la disminución del consumo de vino.

En los últimos años se está viendo la cultura del vino como una moda más, aumentando así su consumo, lo cual hace cuestionarse los siglos de historia que tiene éste. Existen evidencias de que este producto ya se consumía desde el s.VII a.C. y de su producción segura desde los siglos V-IV a.C. El vino ya fue apreciado en culturas milenarias como la egipcia o la fenicia, a pesar de haber sufrido periodos de más o menos popularidad siempre ha estado presente (González, 2014). Sin embargo, el término de levadura como un microorganismo capaz de realizar la fermentación no apareció hasta el s. XIX, gracias a Pasteur y otros investigadores. Por el conocimiento de que las levaduras eran las causantes de la transformación del mosto en alcohol y CO<sub>2</sub> se permitió controlar la producción del vino durante todo el proceso (Belda *et al.*, 2014). En estos años se ha cambiado la forma de consumir vino, se puede decir que se sigue bebiendo pero vinos más baratos, en menor cantidad y dentro de casa.

El uso de las levaduras foráneas se ha estudiado mucho, pero tradicionalmente se producían los vinos mediante fermentaciones espontáneas. Estas fermentaciones están siendo el objeto de interés de muchas bodegas actualmente puesto que se consiguen características típicas de cada zona a pesar de que el producto podría ser más variable. Las cepas de levaduras se encuentran en la superficie de las uvas, en la maquinaria de las bodegas o incluso en la corteza, hojas, flores y pruina del fruto. Éstas se pueden clasificar en dos grupos, las levaduras *Saccharomyces cerevisiae* y las levaduras no-*Saccharomyces*. El uso de cepas autóctonas diferentes puede producir diferencias en la composición química dando lugar a

vinos con características propias (Viramontes y Pérez, 2014). Este tipo de levaduras son aisladas y seleccionadas en la misma región donde luego van a ser utilizadas, lo que implica la suma de sus beneficios a las propiedades que tienen las fermentaciones espontáneas. Esta selección se realiza por medio del análisis de muchos cultivos puros aislados de fermentaciones de mostos en la región correspondiente. Cuando se obtienen las mejores cepas hay que realizar un análisis de sus propiedades fermentativas, tecnológicas y sensoriales por medio de ensayos de laboratorio. Pero a gran escala hay que tener en cuenta que la fermentación sea segura, obteniendo un producto seguro y con determinadas características organolépticas lo cual se consigue seleccionando las levaduras apropiadas (Belda *et al.*, 2014).

### **1.1 DIFERENCIAS ENTRE LAS LEVADURAS INDÍGENAS Y COMERCIALES**

La fermentación del mosto es un proceso bioquímico complejo, en el cual intervienen levaduras, bacterias y otros microorganismos. Las levaduras son las responsables de la fermentación alcohólica, la cual permite la conversión del mosto en vino (Torija, 2002).

Para llevar a cabo la vinificación existe la posibilidad de emplear levaduras autóctonas (procedentes de la uva o material de la bodega) o comerciales (levaduras secas activas, LSA) (Bermejo, 2014).

El uso de levaduras comerciales permite reducir los problemas ocasionados por la fermentación y tener un mayor control microbiológico. Mediante esta técnica se obtienen vinos uniformes y con calidad excelente en comparación con los obtenidos por fermentación espontánea, sin embargo reduce la tipicidad de los vinos. Haciendo referencia a lo que decía Pasteur de que “las cualidades del vino dependen en gran parte de la naturaleza específica de las levaduras que se desarrollan durante la fermentación de los mostos”, sería más efectivo el uso de levaduras autóctonas. Este tipo de levaduras se caracteriza por ser específicas de cada área, estar adaptadas a su clima y a la materia prima y proporcionarles características únicas al vino (Torija, 2002). Además los vinos obtenidos mediante fermentación espontánea, con el uso de levaduras indígenas, presentan un contenido mayor en algunos compuestos que influyen positivamente en el aroma (Flanzy, 2003).

A pesar de que la calidad del vino va asociada a la variedad de la uva también influye la levadura empleada, por tanto hay que seleccionarla correctamente para garantizar la adecuada fermentación y obtener un vino excelente.

### **1.2 COMPOSICIÓN POLIFENÓLICA DE LOS VINOS**

En enología los compuestos polifenólicos son muy importantes, se encuentran en el hollejo, raspón y pepitas (partes sólidas de la uva) y proporcionan astringencia, color y estructura a los vinos (Peidro, 2015). Estos compuestos se caracterizan por poseer un anillo bencénico con uno o varios grupos hidroxilo y se clasifican en no flavonoides y flavonoides. El contenido en el vino de estos compuestos está en función del tipo de uva, rendimiento de la cosecha y de las condiciones edafoclimáticas (Casp y Abril, 1999).



### **1.2.1 Clasificación de los compuestos polifenólicos.**

#### **1.2.1.1 Antocianos**

Los antocianos se extraen generalmente del hollejo de la uva durante su maceración y fermentación, son los que proporcionan el color inicial a los vinos tintos. La cantidad que aparece en las uvas de estos compuestos depende tanto del clima como de factores agronómicos, por esta razón el contenido de antocianos de una misma variedad de uva puede ser diferente entre vendimias e incluso entre parcelas. Los vinos elaborados con una única variedad de uva tinta presentan una composición de antocianos característica que después de 3-4 años de su envejecimiento en botella o crianza en barrica pierde (Gutierrez et al., 2004).

Esta pérdida es debida a la aparición de reacciones de condensación de estos antocianos dando lugar a nuevos pigmentos oligoméricos y poliméricos con estructuras más estables, lo cual hace que se transforme el rojo intenso de los vinos en un color más anaranjado.

Según un estudio previamente realizado, se observa que los antocianos son los compuestos fenólicos que están más influenciados por la cepa de levadura elegida. La cantidad de antocianos que se extraen de la uva durante la maceración y la fermentación depende de la levadura empleada, al igual que la degradación de estos compuestos produciendo la pérdida de color (Monagas et al., 2007).

Este efecto no es el único que producen las levaduras sobre la coloración del vino sino que también, durante la fermentación o por sus enzimas, pueden aparecer pigmentos derivados que afecten negativamente. Debido a la porosidad y composición que presentan las paredes de las levaduras adsorben estos pigmentos reduciendo el contenido en antocianos afectando al color del vino. Tradicionalmente, se ha empleado en los vinos blanc de noirs para que la cantidad de pigmentos sea inferior (Morata et al., 2016).

Por otro lado, desde un punto de vista químico, los antocianos son heterósidos que se forman de la unión de un aglicón (antocianidina) y un azúcar, que suele ser la glucosa, por medio de un enlace  $\beta$ -glucosídico (Valls et al., 2000). Las levaduras de la especie *Saccharomyces cerevisiae* presentan actividad  $\beta$ -glucosidasa, la cual ejerce un efecto positivo en el aroma del vino pero influye de forma negativa en el color. Esto es debido a que la antocianina del enlace glucosídico, cuando pierde el azúcar y se queda en forma de aglicona, tiene más facilidad de ser decolorado por reacción con el sulfuroso y por oxidación.

#### **1.2.1.2 Taninos**

Los taninos son compuestos fenólicos que se pueden dividir en dos grandes grupos, los taninos hidrolizables y los taninos condensados. Los hidrolizables no se encuentran de forma natural en el vino ni en la uva, si no que pueden proceder de la madera de roble de las barricas durante el envejecimiento y ser empleados como ayudantes de la vinificación. Mientras que, los taninos condensados son los propios de los vinos tintos que se pueden encontrar en las uvas (hollejo, raspón o pepitas) y químicamente se tratan de polímeros complejos de 3-flavanoles (catequinas). Los taninos que se encuentran las pepitas están menos condensados y son menos complejos que los que aparecen en los hollejos (Rebollo, 2007). Durante la

fermentación los primeros taninos que se extraen son los procedentes de la piel y posteriormente los que se encuentran en la pulpa y semillas (Mcrae y Kennedy, 2011).

Los taninos condensados cuando interactúan con las proteínas salivares dan lugar a la precipitación tanino-proteína, produciendo astringencia. La astringencia es la sensación de sequedad y arrugamiento en boca característica de los vinos (Rinaldi *et al.*, 2016) y que depende del número de OH de los taninos que reacciona con las proteínas, siendo mayor en las pepitas que en los hollejos, puesto que se incrementa con el grado de polimerización (Peidro, 2015). Para que exista una astringencia adecuada tiene que haber un correcto balance de estos polisacáridos y el alcohol.

La relación tanino-proteína depende de la cantidad de etanol. Cuando el etanol presente en el vino varía en grandes cantidades disminuye su astringencia debido a que reduce el número de enlaces entre las proteínas y los taninos condensados. Por tanto, si la cantidad de etanol es la adecuada puede reducir la sensación de astringencia en boca (Mcrae y Kennedy, 2011). Según estudios previos (Gawel *et al.*, 2001) la astringencia no siempre tiene efectos negativos en el vino, sino que también puede mejorar la sensación de persistencia y complejidad en ellos.

### **1.2.2 Reacciones de interacción entre compuestos fenólicos**

Durante el envejecimiento y la fermentación alcohólica del vino se producen reacciones de condensación entre los compuestos polifenólicos. Estas reacciones son las responsables de que se produzcan cambios en el color y en las propiedades organolépticas del vino.

#### **1.2.2.1 Interacción Tanino- Antociano**

La condensación entre los taninos y los antocianos se produce por medio de reacciones de adición nucleofílica en las que estos compuestos pueden tener tanto acción electrofílica como nucleófila. En el vino, medio ácido, los taninos pueden dar lugar a carbocationes (catequinas activadas) y reaccionar con los antocianos obteniendo compuestos que posteriormente se van a colorear. Este proceso se ve favorecido cuando la presencia de oxígeno es nula y en determinadas condiciones de temperatura. Al formarse el carbocatión aparecen nuevos taninos condensados que permiten disminuir la astringencia del vino debido a que se aumenta el grado de polimerización del mismo (Zamora, 2003).

Por tanto, se llevan a cabo las interacciones entre los taninos y antocianos libres para obtener compuestos más estables. Los compuestos que se obtienen presentan un color parecido al de los antocianos. Cuando la unión es entre antociano y tanino el color es resistente a la acción del SO<sub>2</sub>, mientras que entre tanino-antociano no lo sería (Peidro, 2015).

### **1.2.2.2 Polimerización por medio de la unión con acetaldehído**

El acetaldehído se trata de un compuesto volátil muy importante en el vino que se puede formar químicamente (por la oxidación del etanol) o biológicamente (por la actividad de las levaduras, bacterias u oxidación de compuestos fenólicos) (Liu y Pilone, 2000). Los antocianos y taninos también pueden unirse mediante el acetaldehído dando lugar a diferentes compuestos con puentes de etilo, como puede ser tanino-etil-tanino o antociano-etil-antociano, con un tamaño variable. Estos productos son de color púrpura y menos sensible a la pérdida de color por hidratación y SO<sub>2</sub> que los antocianos libres.

La unión que se produce entre los taninos y el acetaldehído puede provocar una disminución de la astringencia debido a que precipitan, también puede acentuarse el desarrollo del color (Casp y Abril, 1999).

Cuando se dan condiciones aerobias y de acidez se ha observado que la velocidad de la reacción con acetaldehído es mayor, esto es debido a que se mejora la aparición de acetaldehído y del carbocatión. Por otro lado, la temperatura también influye en la aparición y acumulación de estos compuestos, cuanto más baja sea la temperatura se acumulan con menor velocidad y serán más estables frente a la degradación y precipitación.

### **1.3 PAPEL DE LAS LEVADURAS SOBRE LA COMPOSICIÓN FENÓLICA DE LOS VINOS**

Se sabe que las levaduras del vino son una de las principales causas que afectan a la disminución de su contenido fenólico. Puede ser causado exclusivamente por procesos físicos, debido a la interacción débil y reversible entre antocianinas y las paredes celulares de la levadura.

Algunos metabolitos de las levaduras, como el ácido pirúvico y el acetaldehído, reaccionan con los polifenoles permitiendo una forma de estabilizar los pigmentos durante la maceración y el envejecimiento del vino (Caridi *et al.*, 2004). Las levaduras presentan una pared fina compuesta por glucanos y manoproteínas, específica de cada cepa de levadura. Cuando se produce la muerte de ésta se liberan compuestos celulares y polisacáridos parietales al vino influyendo en la composición polifenólica ya que algunos se pueden unir con antocianos y taninos.

El efecto que tienen las levaduras sobre el color se puede comprobar simplemente observando el color de las lías después de la fermentación del mosto, ya que dependiendo de la cepa aparece una coloración diferente. A este fenómeno se le denomina “efecto esponja” (Dulau y Palacios, 2003) y está causado por la diferente composición que tienen las células de la pared, basándose en el contenido de los grupos polares de su superficie. La absorción débil de los antocianos se refleja en el vino con una intensidad en el color más alta. Las diferentes cepas de levaduras hacen que absorban antocianos a diferentes niveles. Es muy importante elegir la levadura correcta porque permite mejorar el color de los vinos (Morata *et al.*, 2005). También se ha observado que las células de las levaduras durante la fermentación y el envejecimiento absorben taninos condensados (Rinaldi *et al.*, 2016).

Por otro lado, las levaduras también liberan manoproteínas (fuente de polisacáridos) cuando el vino se encuentra sobre las lías durante el envejecimiento (González *et al.*, 2013). Estas manoproteínas están relacionadas e influenciadas con la cepa seleccionada durante toda la fermentación. Los polisacáridos pueden mejorar las características sensoriales del vino, son menos astringentes cuando se le añaden manoproteínas durante la autólisis y la fermentación alcohólica. Se ha demostrado que la estructura de los taninos se modifica por la acción de estos compuestos, ya que favorece su condensación (Escot *et al.*, 2001).

En conclusión, en la selección de levaduras para la elaboración del vino hay que tener en cuenta cómo va a afectar en la adsorción fenólica, ya que puede ser beneficiosa o perjudicial, según la variedad de uva empleada.

## **2. OBJETIVOS**

El principal objetivo del trabajo es llegar a escoger la levadura indígena, de tres seleccionadas previamente en microvinificaciones, procedentes de los viñedos de una bodega de D.O. Utiel Requena que presente las mejores características. Esto se realiza con el fin de procesar vinos tintos, de las variedades Merlot, Garnacha y Cabernet Sauvignon, con características distintivas.

La levadura seleccionada debe cumplir los siguientes requisitos:

1. Permitir una composición polifenólica adecuada en los vinos.
2. Conseguir los mejores valores en los parámetros convencionales (acidez volátil, <sup>o</sup>alcohólico y acidez total)
3. Producir vinos estables y con un carácter organoléptico adecuado.
4. Consumir todos los azúcares del mosto.

## **3. PLAN DE TRABAJO**

El Plan de Trabajo que se implantó para lograr los objetivos mencionados es el siguiente:

1. Vendimiarse en el momento óptimo las uvas de las variedades Merlot, Garnacha y Cabernet Sauvignon.
2. Procesar el vino e inocular las tres cepas de levaduras, que se van a estudiar, en cada una de las variedades de uva.
3. Estudiar el seguimiento de la fermentación alcohólica.
4. Inocular bacterias para realizar la fermentación maloláctica.
5. Embotellar los vinos una vez terminada la fermentación maloláctica.
6. Analizar los parámetros generales y los compuestos polifenólicos de cada uno de los vinos después de tres meses del embotellado.
7. Comparación de los resultados entre los vinos y levaduras para ver cual da mejores resultados, con el objetivo de seleccionar una o varias levaduras para vinificar los vinos.

## **4. MATERIALES Y MÉTODOS**

Este trabajo consiste en el estudio del comportamiento de tres cepas de levadura previamente seleccionadas, sobre la vinificación, componentes generales de los vinos y en los compuestos polifenólicos del vino. Las tres cepas de levaduras a ensayar, pertenecen al género *Saccharomyces cerevisiae*. El vino está elaborado con tres variedades de uva: Merlot, Garnacha y Cabernet Sauvignon vendimiadas en su momento óptimo. Los ensayos de cada levadura en cada variedad, se realizaron por triplicado, es decir, se vinificaron nueve depósitos con 40 kg de cada variedad de uva, haciendo un total de 27 depósitos en el estudio.

### **4.1 VARIEDADES DE UVA**

#### **4.1.1 Merlot**

La variedad de uva Merlot tiene su origen en Burdeos aunque actualmente su producción se ha expandido hacia países como Argentina, Europa del este, Italia, China y España. En nuestro país las principales zonas donde se encuentra son La Mancha, Huesca, Cataluña y Navarra. Tras la Cabernet Sauvignon es la variedad más cultivada a nivel mundial. Sus frutos se caracterizan por ser bayas pequeñas y redondeadas, con color azul oscuro y de sabor azucarado. Sus cepas son sensibles a las heladas primaverales y a la sequía.

Los vinos que produce esta variedad de uva son de color rojo púrpura, con cuerpo y ricos en alcohol pero con una acidez relativamente baja, poco tánicos y con aromas florales. Los vinos de Merlot maduran antes que Cabernet Sauvignon y por tanto se suelen consumir como vinos jóvenes permaneciendo poco tiempo en bodega (Vitivinicultura, 2017).

#### **4.1.2 Garnacha**

El origen de la variedad de uva Garnacha es Aragón, en el Este de España, pero posteriormente se extendió por diversos países como Italia, Australia o Canadá gracias a su capacidad de adaptación y resistencia a sequías, heladas o enfermedades. Esta variedad presenta un racimo mediano con frutos de color azul-negro, alto contenido en alcohol y azúcar pero con baja acidez.

Los vinos que produce la variedad Garnacha se caracterizan por tener un elevado grado alcohólico, ser de color rojo intenso, poseer aromas ligeros y una acidez media-alta. Presenta características diversas ya que se suele mezclar junto con otras variedades, puesto que su contenido en taninos es bajo. Se trata de una uva muy versátil, dando lugar desde vinos jóvenes a vinos de guarda (El País, 2017).

#### **4.1.3 Cabernet Sauvignon**

La variedad de uva Cabernet Sauvignon es originaria de Francia pero se ha expandido su cultivo a numerosos países gracias a su capacidad de adaptación al clima, suelo y latitud, siendo una de las variedades más reconocidas en el mundo. Se considera que procede del cruce entre dos variedades (el Sauvignon Blanc y del Cabernet Franc). Sus bayas se caracterizan por ser de pequeño tamaño, esféricas y de color azul oscuro, con un hollejo duro lo cual da carácter tánico al vino y astringencia en boca.

En cuanto a los vinos jóvenes se refiere, presenta un color rojo con matices azulados, aromas florales con gran acidez y astringencia debido a la gran cantidad de taninos presentes en su piel. Por otro lado, cuando Cabernet Sauvignon se deja envejecer durante un largo periodo, presenta un vino de crianza con colores rojo rubí- teja que desarrolla un aroma particular, mezcla de olor a violeta, pimiento verde y otros compuestos químicos (Cocineando, 2017).

## 4.2 PROCESO DE ELABORACIÓN

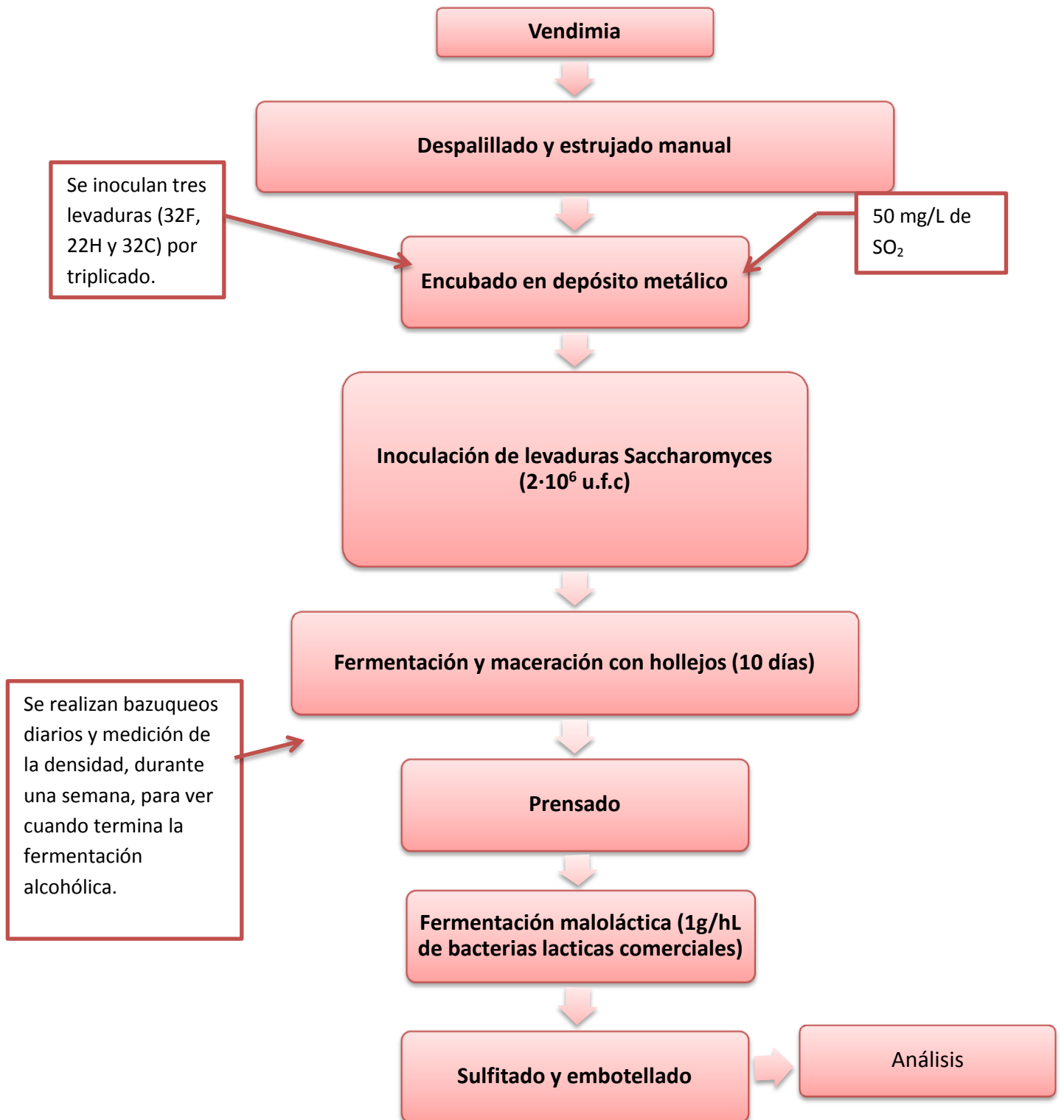


Figura 1: Proceso de elaboración del vino.



## 4.3 MÉTODOS ANALÍTICOS

### 4.3.1 Parámetros generales

Las determinaciones generales empleadas en los análisis del vino tinto son el pH que mide su acidez real, el grado alcohólico que expresa la cantidad de etanol que contiene 100 litros de vino, la acidez volátil expresada en gramos de ácido acético por litro de vino y la acidez total, suma de ácidos que se valoran cuando el vino se lleva a pH 7, expresada en gramos de ácido tartárico por litro.

### 4.3.2 Determinación de compuestos polifenólicos

#### 4.3.2.1 Compuestos coloreados

- **Intensidad colorante (Glories, 1978):** El color permite caracterizar y dar a conocer la calidad en los vinos. Este parámetro depende del conjunto de antocianos libres, combinación tanino-antociano y taninos y varía según su pH, cantidad de SO<sub>2</sub> libre, temperatura y aireaciones.

El color es la suma de las densidades ópticas a 420 nm, 520 nm y 620 nm medidas en un espectrofotómetro UV/VIS en una cubeta de 10 mm, por tanto hay que tener en cuenta el factor de dilución, empleando el agua destilada como referencia.

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

- **Tono (Glories, 1978):** La tonalidad o matiz (Reglamento UE 2676/90), permite conocer la relación existente entre el color amarillo y el rojo, siendo el cociente siguiente:

$$\text{Tono} = A_{420}/A_{520}$$

- **Índice de PVPP, fijación sobre polivinilpirrolidona (Blouin, 1977):**

Es el porcentaje de antocianos que se combina con los taninos que determina la estabilidad del color evitando su oxidación.

Este método consiste en coger 1 mL de vino diluido 1/5, con agua destilada, en un tubo de ensayo a 0°C y añadir 1 mL de PVPP. Tras agitar y dejar reposar 10 minutos se añaden 3 mL de TCA al 20% y se deja reposar otros 10 minutos. Se centrifuga a 4000 rpm durante 8 minutos y se lee su absorbancia a 280 nm con cubeta de 10 mm haciendo referencia al TCA al 6% como blanco. Para obtener el índice de PVPP se emplea la siguiente fórmula:

$$I.PVPP(\%) = \left[ \frac{(DO_0 - DO_1)}{DO_0} \right] * 100$$

- **Antocianos Totales (Blouin, 1992):** Para esta determinación se emplea el método de Puissant-León. Esta determinación se lleva a cabo mediante la medición de la absorbancia a 520 nm de la muestra, empleando como blanco HCL 1M. La muestra consiste en 0,2 mL de vino al cual se le añaden 3,8 mL de HCL 1M y se deja reposar durante 3 horas.

$$\text{Antocianos (mg/L)} = A_{520} \times 20 \times 20(\text{dilución})$$

- **Antocianos no decolorables por el sulfuroso (Ribéreau-Gayon y Stonestreet, 1965; Ribéreau-Gayon, 1979):** La determinación de los antocianos no decolorables permite obtener una estimación de la cantidad total de antocianos presentes en el vino. Este método se basa en la comparación de los resultados obtenidos de dos tipos de tubos, en el que en uno se añade bisulfito sódico que permite decolorar los antocianos y en el otro H<sub>2</sub>O. Para obtener la cantidad de antocianos en mg/L se multiplica la diferencia de ambos resultados por 875, coeficiente de extinción molar de la malvidina.

#### 4.3.2.2 Compuestos astringentes

- **Índice de Polifenoles Totales (Ribereau-Gayón 1974):** permite valorar el contenido total de los compuestos polifenólicos. Se lleva a cabo mediante la dilución del vino con un factor de 100 y posteriormente se mide la absorbancia a 280 nm, longitud de onda a la cual se absorbe el anillo fenólico, en una cubeta de 10 mm y tomando como referencia el agua. Para obtener el resultado en g/L o mg/L de ácido gálico el valor obtenido de IPT se multiplica por el factor de corrección 0,08 ó 80.

- **Índice DMACH (Vivas, 1994):** Este método consiste en la estimación del grado de polimerización de los taninos en la uva y el vino mediante el aldehído p-dimetilaminoacetaldehído (DMACH). Para ello se deben hacer valoraciones químicas relacionadas con el tamaño molecular de los taninos. La formación de procianidinas dímeras se establece mediante un enlace entre el C4 de la catequina y el C6 o C8 de la otra molécula. La reacción de las procianidinas con el DMACH da lugar a un color más o menos intenso en función del número de posiciones del C6 y C8 estén libres según del grado de polimerización de los taninos.

Este método consiste en diluir el vino con metanol a 1/20, coger 0,5 mL del vino diluido y añadirle 2,5 mL de DMACH. Después de 10 minutos se lee a una longitud de onda de 640 nm con cubeta de 10 mm, esta lectura se denomina A<sub>m</sub>. Por otro lado se realiza un testigo, este testigo contiene 0,5 mL de vino diluido y 2,5 mL de metanol, tras 10 minutos se lee en las mismas condiciones que A<sub>m</sub>, obteniendo A<sub>t</sub>.

$$\text{Índice de DMACH} = \frac{(A_m - A_t)}{[\text{taninos}]} \times 100$$

- **Taninos condensados totales (Ribéreau-Gayon y Stonestreet, 1966), (Ribéreau-Gayon, 1979):** Llamamos taninos a diversos compuestos fenólicos que tienen como característica común que precipitan con las proteínas en solución, y que ralentizan o inhiben las acciones enzimáticas por combinación directa con su fracción proteínica. Este método consiste en la propiedad que presentan las proantocianidinas de ser transformadas parcialmente en antocianidinas rojas al calentarse en medio ácido.

Se mezcla 1 mL de vino previamente diluido con 5 mL de agua destilada y 3 mL de HCL 12 N. El tubo 1 se introduce en el baño durante 30 minutos tapado herméticamente y el tubo 2 a temperatura ambiente. Pasado el tiempo, el tubo 1 se refrigera y a ambos se le añade 0,5 mL

de etanol al 96%, se agitan y se lee la absorbancia a 550 nm.

$$\text{Taninos Condensados Totales (g/L)} = (A_1 - A_2) \times 19,33$$

#### **4.3 TRATAMIENTO ESTADÍSTICO**

Los resultados que se han obtenido de forma experimental en el laboratorio se representan realizando un resumen estadístico en forma de tabla. En estas tablas se expresan la media, desviación típica y los valores de F-Ratio y P-Value que nos permiten conocer si los datos son significativos o no.

Mediante un análisis de varianza simple (ANOVA) se ha analizado la influencia de cada variedad de uva en función de las levaduras seleccionadas en la composición polifenólica y en los parámetros generales. Esto nos permite conocer el grado de significación de los datos mediante un contraste de hipótesis para un nivel de confianza del 95%. Para ello se ha utilizado el paquete Statgraphics centurión XVI.II.

Se obtiene el valor de F-Ratio que mide la variación que existe entre los datos correspondientes a cada uno de los grupos y P-Value que siendo menor de 0,05 indica que hay diferencias significativas entre sus medias al 95 % del nivel de significación.

Por otro lado y con el objetivo de conocer que cepa de levadura puede ser empleada como única para la fermentación, se estudió el comportamiento de la interacción entre las cepas de levaduras y las variedades de uva. Se realizó con ANOVA multifactorial eligiendo como factor la variedad y la levadura y como variable dependiente los parámetros polifenólicos y generales analizados. Esta comparación estadística nos permite conocer si el efecto de las levaduras es igual en todas las variedades de uva o existe una interacción entre variedad de uva y levadura.

## 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

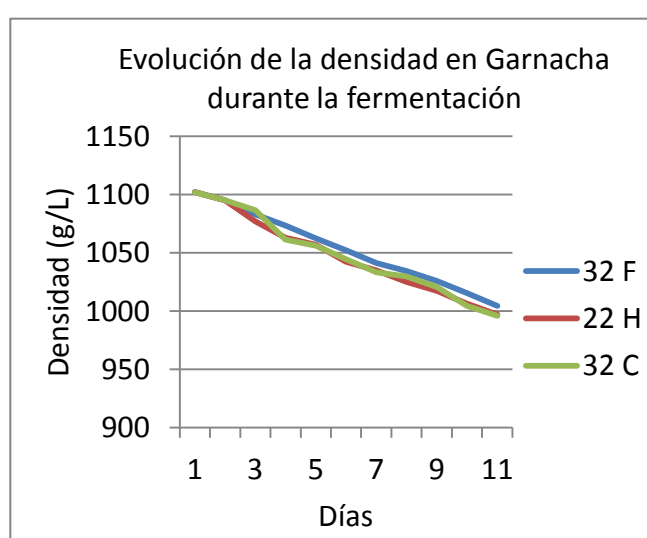
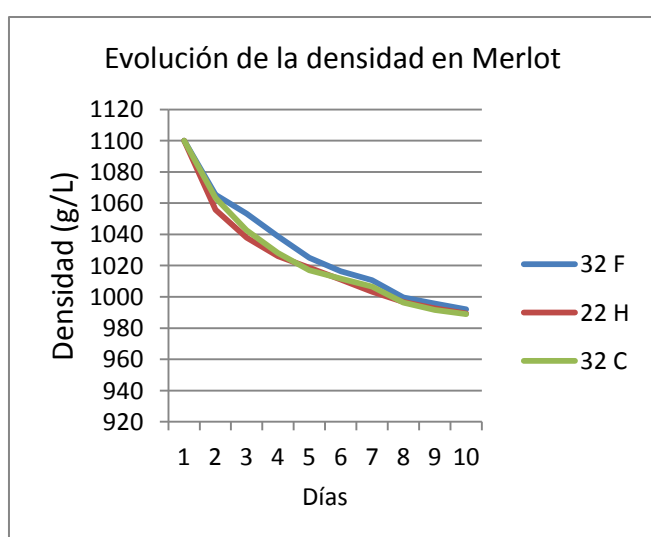
Se presentan en este trabajo los resultados obtenidos según el comportamiento e influencia de las tres levaduras de *Saccharomyces cerevisiae*, previamente seleccionadas y codificadas como 32 F, 22 H y 32 C, en los tres vinos sobre los compuestos polifenólicos y convencionales. Todo ello se realiza con el fin de ver cuál es la cepa de levadura que mejora la calidad de los vinos y emplearla como propia en la bodega de Denominación de Origen Utiel-Requena.

Por último, con el objetivo de conocer si todas las levaduras se comportan por igual o existen diferencias, en relación a los parámetros generales y polifenólicos, se realiza la interacción entre la cepa de levadura 32 F, 22 H y 32 C y la variedad de uva Merlot, Garnacha y Cabernet Sauvignon.

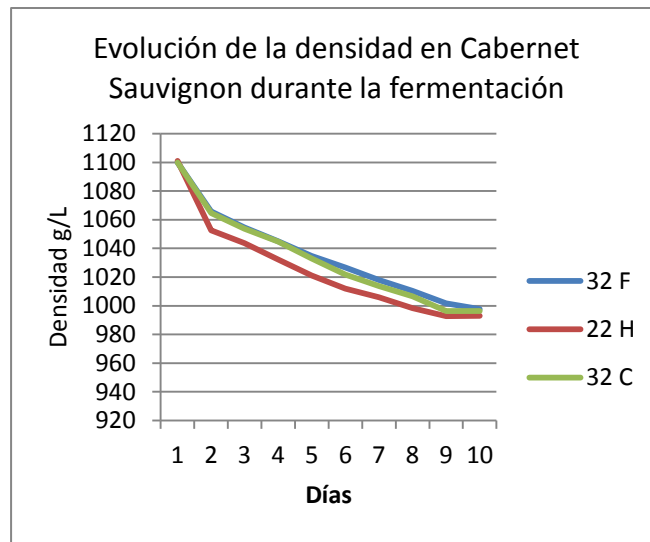
### 5.1 EVOLUCIÓN DE LA DENSIDAD DURANTE LA FERMENTACIÓN CON LAS LEVADURAS 32 F, 22 H Y 32 C EN LA VARIEDAD DE UVA MERLOT

Durante la fermentación alcohólica se controló la densidad y la temperatura diariamente de los depósitos con el objetivo de verificar la correcta evolución de la fermentación. Previamente, se midieron los ° Brix de la uva estrujada y despalillada en cada depósito para agruparlos de tal modo que en cada ensayo de las cepas de levaduras 32 F, 22 H y 32 C hubiera una distribución homogénea de la concentración de azúcar (° Brix) de todos los depósitos. Esta distribución se hace para que la medida y desviación estándar de los depósitos agrupadas tres a tres sea aproximadamente la misma.

A continuación se muestran en las gráficas 1, 2 y 3 la evolución de la densidad de los vinos de las variedades Merlot, Garnacha y Cabernet Sauvignon, inoculados con las cepas de levaduras 32 F, 22 H y 32 C durante su fermentación alcohólica. Se comprobaron diariamente temperatura y densidad, también se realizaron bazuqueos diarios con el fin de facilitar la extracción de componentes polifenólicos.



**Gráfica 1:** Evolución de la densidad durante la fermentación en la variedad Merlot. **Gráfica 2:** Evolución de la densidad durante la fermentación en la variedad Garnacha.



**Gráfico 3:** Evolución de la densidad durante la fermentación en la variedad Cabernet Sauvignon.

En la gráfica 1 se muestra la evolución de la densidad para la variedad Merlot. Todos los vinos de esta variedad terminan el día 4 de octubre la fermentación alcohólica iniciada el 23 de septiembre la cual se llevó a cabo a una temperatura de entre 23,2°C y 26,8°C. Se puede observar como la disminución de la densidad es más lenta en la cepa de levadura 32 F que en las otras dos cepas, concretamente el cuarto día donde la densidad de la cepa de levadura 32 F es de 1025 g/L y la de las cepas 22 H y 32 C de 1018 g/L. Además permite comprobar que la levadura 32 C es más efectiva al principio de la fermentación ya que su disminución de la densidad es más rápida durante los cuatro primeros días y por tanto produce antes la aparición de etanol, lo cual tendrá consecuencias en la extracción de los taninos durante la maceración.

En la gráfica 2 se muestra la evolución de la densidad de los vinos de la variedad Garnacha inoculados con las cepas de levaduras 32 F, 22 H y 32 C, fue iniciada el 7 de octubre y se llevó a cabo a una temperatura comprendida entre 19,7°C y 26°C. Esta gráfica nos muestra que las levaduras 22 H y 32 C en la variedad Garnacha presentan un comportamiento similar a lo largo de los 11 días de fermentación, mientras que la 32 F produce una fermentación más lenta.

Por último, en la gráfica 3 aparece representada la evolución de la densidad de los vinos de la variedad Cabernet Sauvignon, inoculados con las cepas de levaduras 32 F, 22 H y 32 C, durante los nueve días que duró su fermentación alcohólica. Todos los vinos elaborados con la variedad Cabernet Sauvignon terminan correctamente en 10 días después del inicio de la fermentación alcohólica iniciada el 16 de octubre la cual se realizó a una temperatura de entre 22°C y 26°C. Se observa que la levadura 22 H evoluciona notablemente más rápido que las otras dos y obtiene valores de densidad (1021 g/L) inferiores a los de las cepas 32 F y 32 C (1034 y 1033 g/L respectivamente) ya en los primeros cuatro días.

En conclusión se puede decir que existen diferencias en el comportamiento de las distintas cepas de levaduras 32 F, 22 H y 32 C, siendo para las tres variedades de uva la 32 F la más lenta y la 22 H la que muestra mayor eficacia al principio de la fermentación.

## 5.2 EFECTO DE LAS CEPAS DE LEVADURA 32 F, 22 H Y 32 C EN LOS PARÁMETROS GENERALES Y POLIFENÓLICOS DE LOS VINOS ELABORADOS CON LA VARIEDAD MERLOT.

A continuación se presentan los valores de ° Brix que contenía el mosto al inicio y los valores de los parámetros generales del vino Merlot obtenidos tras un estudio estadístico ANOVA (Tabla 1). Se puede observar que no existen diferencias significativas, excepto en la acidez volátil ( $P < 0,05$ ), porque todos los valores de P-value son superiores a 0,05.

**Tabla 1:** Medias, desviación estándar y ANOVA de los parámetros convencionales de los vinos de Merlot elaborados con las cepas de levadura seleccionadas.

Cepa de levadura	° Brix iniciales en el mosto	Acidez volátil (g/L acético)	pH	Acidez total (g/L tartárico)	°Alcohólico
32 F	24,5 ± 0,6 a	0,40 ± 0,1 b	3,75 ± 0,06 a	4,8 ± 0,5 a	14,3 ± 0,4 a
22H	24,5 ± 0,6 a	0,42 ± 0,02 b	3,78 ± 0,04 a	4,6 ± 0,1 a	14,7 ± 0,2 a
32 C	24,5 ± 1,1 a	0,28 ± 0,02 a	3,76 ± 0,1 a	4,7 ± 0,4 a	14,4 ± 1,6 a
F-ratio	0,01	10,83	0,34	0,49	3,17
P-value	0,995	0,0004	0,715	0,616	0,060

Letras distintas en la misma columna y en cada grupo de datos indican diferencias significativas al 95 % para cada parámetro analizado.

Todas las levaduras consumen los azúcares por completo lo cual, desde el punto de vista de la cinética fermentativa indica que se comportan igual. La acidez volátil que presentan los vinos elaborados con la variedad Merlot es aceptable encontrándose próxima a los 0,40 g/L y estando muy alejados de 1g/L de ácido acético marcado como límite máximo en los vinos (D.O.C.V., 4/2011) y por ello no habría que desechar ninguna de las cepas. Se puede destacar que los vinos fermentados con la cepa de levadura 32 F se obtienen con una acidez volátil muy adecuada y siendo del 50% con respecto a los otros.

Por otro lado el pH obtenido es ligeramente superior a 3,5 y la acidez total estaría por debajo de los valores deseados en bodega, lo cual significa que en ésta habría que corregir este parámetro con ácido tartárico. El grado alcohólico es elevado lo cual está relacionado con la concentración de azúcares iniciales y esta variedad de uva en la zona Utiel-Requena madura muy bien.

En la siguiente tabla (Tabla 2) aparecen los valores relacionados con el color de los vinos analizados a los tres meses de haber sido embotellados. En relación a los resultados obtenidos en un análisis estadístico ANOVA, se observa que las diferentes cepas de levaduras 32 F, 22 H y 32 C, empleadas en la vinificación de Merlot no influyen de forma significativa en la intensidad colorante ni en la tonalidad mientras que los antocianos totales y los no decolorables sí que se ven influenciados por dichas cepas, al igual que lo hace el índice de PVPP. Los antocianos que aparecen en el vino se pueden encontrar libres o combinados con

otros compuestos como pueden ser los taninos. Los antocianos libres puede ser decolorados por el SO<sub>2</sub> y variar su color en función del pH al igual que sucede con una fracción de los combinados, mientras que la otra fracción de los antocianos combinados sí que mantienen estable el color (Ribéreau-Gayon y Stonestreet, 1965). El análisis de los parámetros relacionados con el color permite conocer cuál es la cepa de levadura que afecta de forma más significativa al contenido en antocianos totales ya que ésta adsorbe los antocianos en su pared celular produciendo una disminución del color en los vinos. Los métodos que establecen la concentración de antocianos no decolorables y totales tienen distinto fundamento y por eso los valores no son coincidentes y tampoco proporcionales al cuantificar fracciones diferentes de antocianos. A pesar de ello, la información que se extrae de cada uno de ellos resulta complementaria. A mayor concentración de antocianos no decolorables, el color del vino está más protegido a la decoloración. La cepa de *Saccharomyces cerevisiae* 22 H es la que consigue este hecho, no solo porque la fracción de los antocianos no decolorables es mayor sino porque logra que la concentración total de antocianos totales sea mayor que los de las cepas 32 F y 32 C, y con mayor estabilidad.

El índice de PVPP determina la cantidad de antocianos que se combinan con los taninos. La mayor cantidad de combinaciones antociano-tanino evidencia una mayor estabilidad, contribución de los antocianos al color (haciendo que el rojo sea más intenso y que la tonalidad azul sea menor) y disminución de la astringencia de los taninos (Blouin, 1977). En la tabla 2 se puede observar que en la cepa de levadura 32 F es la que produce los vinos con un mayor índice de PVPP y con menor tonalidad, lo cual indica que a medida que aumenta el número de uniones antociano-tanino disminuye la tonalidad amarilla de los vinos.

**Tabla 2:** Medias, desviación estándar y ANOVA de los parámetros relacionados con el color en vinos de la variedad Merlot elaborados con las cepas de levadura seleccionadas.

Cepa de levadura	Antocianos no decolorables (mg/L)	Antocianos totales (mg/L)	IC	Tonalidad o matiz	Índice de PVPP
32 F	514 ± 26,6 a	498 ± 63,4 ab	8,6 ± 0,9 a	69,5 ± 1,6 a	42,0 ± 4,9 a
22H	586 ± 42,5 b	522 ± 13,8 b	9,1 ± 0,6 a	70,8 ± 1,8 a	33,3 ± 3,6 ab
32 C	511 ± 43,7 a	455 ± 52,7 a	9,7 ± 3,5 a	72,1 ± 7,4 a	36,9 ± 9,9 b
F-ratio	11,11	4,43	0,61	0,74	3,93
P-value	0,0004	0,023	0,552	0,488	0,033

IC: Intensidad Colorante.

Letras distintas en la misma columna y en cada grupo de datos indican diferencias significativas al 95 % para cada parámetro analizado.

En la tabla 3 se observan los resultados obtenidos en un análisis estadístico ANOVA que permiten comparar la influencia de las cepas de levaduras 32 F, 22 H y 32 C en los compuestos relacionados con la astringencia para los vinos elaborados con la variedad Merlot. El contenido en taninos está comprendido entre 1,66 y 1,95 g/L, correspondiendo a vinos de tanicidad media. Únicamente existen diferencias (P<0,05) en la composición tánica de los vinos, siendo la cepa de levadura 32 C la que más taninos extrae. Esta diferencia puede ser debida a las variaciones de la materia prima o a que, como se ha visto previamente en la

gráfica 1, la cepa de levadura 32 C produce alcohol más rápidamente facilitando la extracción de estos taninos a igual tiempo de maceración que con las otras dos cepas (32 F y 22 H).

El índice de polifenoles totales está relacionado con la extracción en la maceración y fermentación. El índice de DMACH nos da información sobre el grado de polimerización de los taninos, varía de 10 a 200 en sentido inverso a la masa molecular de los taninos y por tanto de su grado de polimerización (Vivas, 1994). Los resultados muestran que el índice de DMACH se encuentra en torno a 50, lo cual indica que su grado de polimerización es medio.

**Tabla 3:** Medias, desviación estándar y ANOVA de los parámetros relacionados con la astringencia en vinos de la variedad Merlot elaborados con las cepas de levadura seleccionadas.

	I.DMACH %	IPT	Taninos (g/L)
<b>32 F</b>	53,8 ± 9,0 a	47,2 ± 3,6 a	1,66 ± 0,31 a
<b>22H</b>	55,9 ± 7,9 a	47,4 ± 0,9 a	1,76 ± 0,14 ab
<b>32 C</b>	52,0 ± 7,3 a	46,7 ± 5,0 a	1,95 ± 0,14 b
<b>F-ratio</b>	0,5	0,08	3,81
<b>P-value</b>	0,598	0,922	0,036

I.DMAH%: Porcentaje del índice de DMACH; IPT: Índice de polifenoles totales; C.F.T: Compuestos fenólicos totales; T.C.T: Taninos condensados totales.

Letras distintas en la misma columna y en cada grupo de datos indican diferencias significativas al 95 % para cada parámetro analizado.

### 5.3 EFECTO DE LAS CEPAS DE LEVADURA 32 F, 22 H Y 32 C EN LOS PARÁMETROS GENERALES Y POLIFENÓLICOS DE LOS VINOS ELABORADOS CON LA VARIEDAD GARNACHA.

A continuación se exponen los valores obtenidos en un análisis estadístico ANOVA para los parámetros generales en el vino Garnacha fermentados con las cepas de levaduras 32 F, 22 H y 32 C, así como los ° Brix del mosto al inicio (Tabla 4). Se puede observar que existen diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) en todos los parámetros a excepción de los ° Brix y el pH.

**Tabla 4:** Medias, desviación estándar y ANOVA de los parámetros convencionales de los vinos de Garnacha elaborados con las cepas de levadura seleccionadas.

Cepa de levadura	° Brix inicial del mosto	Acidez volátil (g/L acético)	pH	Acidez total (g/L tartárico)	° Alcohólico
<b>32 F</b>	23,6 ± 1,1 a	0,48 ± 0,11 c	3,42 ± 0,18 a	5,0 ± 0,6 b	12,8 ± 0,2 a
<b>22H</b>	23,7 ± 0,7 a	0,39 ± 0,02 b	3,36 ± 0,08 a	3,9 ± 0,4 b	13,3 ± 0,5 b
<b>32 C</b>	23,8 ± 0,2 a	0,32 ± 0,02 a	3,43 ± 0,07 a	4,8 ± 0,8 a	13,3 ± 0,3 b
<b>F-Ratio</b>	0,07	12,39	0,84	7,94	6,51
<b>P-value</b>	0,934	0,0002	0,445	0,002	0,005



Letras distintas en la misma columna y en cada grupo de datos indican diferencias significativas al 95 % para cada parámetro analizado.

Al terminar la fermentación todas las cepas de levaduras consumen los azúcares por completo como se puede observar en la gráfica 2 lo cual hace que, desde el punto de vista de la cinética fermentativa, se comporten igual. La acidez volátil que presentan los vinos elaborados con la variedad Garnacha, tras tres meses de embotellado, es aceptable siendo próximos a 0,4 g/L de ácido acético y en la levadura 32 F algo superior pero dentro de los valores normales. Estos valores se encuentran muy alejados de 1g/L de ácido acético encontrándose por debajo del máximo permitido en el vino (D.O.C.V., 4/2011) y por ello no habría que desechar estas cepas. Por otro lado, el pH obtenido es adecuado para no encontrar problemas microbiológicos a lo largo del tiempo en el vino. El grado alcohólico es próximo a 13 pero aparecen diferencias significativas que pueden ser causa de la heterogeneidad en las materias primas o el rendimiento alcohólico diferente de los vinos, siendo superior que en Cabernet Sauvignon (tabla 7) pero inferior al obtenido en Merlot (tabla 1).

En la tabla 5 se agrupan los valores en relación al color de los vinos analizados a los tres meses de haber sido embotellados. En este caso se observa que las diferentes cepas de levaduras 32 F, 22 H y 32 C empleadas en la vinificación de Garnacha únicamente influyen de manera significativa ( $P < 0,05$ ) en la tonalidad de los vinos.

**Tabla 5:** Medias, desviación estándar y ANOVA de los parámetros relacionados con el color en vinos de la variedad Garnacha elaborados con las cepas de levadura seleccionadas.

Cepa de levadura	Antocianos no decolorables	Antocianos totales (mg/L)	IC	Tonalidad o matiz	Índice de PVPP
<b>32 F</b>	422 ± 55,5 a	452 ± 37,5 a	12,1 ± 1,6 a	51,9 ± 6,1 a	79,9 ± 3,6 a
<b>22H</b>	479 ± 53,0 a	483 ± 70,3 a	10,2 ± 3,2 a	52,8 ± 4,3 a	78,1 ± 5,4 a
<b>32 C</b>	451 ± 91,4 a	469 ± 77,5 a	10,4 ± 1,2 a	57,8 ± 2,1 b	76,4 ± 12,4 a
<b>F-ratio</b>	1,53	0,53	2,07	4,51	0,43
<b>P-value</b>	0,238	0,594	0,148	0,022	0,653

IC: Intensidad Colorante.

Letras distintas en la misma columna y en cada grupo de datos indican diferencias significativas al 95 % para cada parámetro analizado.

El color es uno de los atributos más importantes que determinan la calidad y el carácter de un vino. No sólo hace que un vino sea más o menos atractivo sino que también nos muestra información sobre su forma de elaboración, evolución en el tiempo o estado polifenólico del vino. El color lo podemos medir por medio de la intensidad colorante y la tonalidad o matiz (Glories, 1978) que indica la proporción del amarillo frente al rojo.

Analizando los resultados obtenidos en el análisis estadístico ANOVA, por una lado se puede observar que la cepa de levadura 32 F es la que mejores valores de intensidad colorante mantiene en el vino y también la que menos tonalidad produce lo cual significa que en esos vinos hay una menor concentración de componentes rojos que amarillos, aunque las tres cepas de levaduras producen una tonalidad inferior a 60. Por otro lado, la cepa de levadura 22 H es la que provoca menores valores de IC lo cual se puede deber a que las paredes celulares

de la cepa de la levadura adsorben los antocianos o porque la presencia de la enzima  $\beta$ -glucosidasa rompe los enlaces  $\beta$ -glucosídicos que existen entre el antociano y el azúcar, haciendo que los antocianos sean más oxidables y por tanto disminuya su intensidad colorante (Valls *et al.*, 2000).

Los métodos que establecen la concentración de antocianos no decolorables y totales tienen distinto fundamento y por eso los valores no son coincidentes y tampoco proporcionales al cuantificar fracciones diferentes de antocianos. Para los vinos de la variedad de uva Garnacha donde se han empleado las cepas de levaduras 32 F, 22 H y 32 C no existen diferencias en el contenido de antocianos totales ni en la fracción de antocianos no decolorables.

Los resultados obtenidos en el análisis estadístico ANOVA en relación con la composición tánica de los vinos de la variedad Garnacha que han sido inoculados con las cepas de levaduras 32 F, 22 H y 32 C que se recogen en la tabla 6, muestran que las cepas de levaduras sólo producen diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) en el índice de polifenoles.

Se busca una cepa de levadura que pueda extraer la máxima cantidad de compuestos fenólicos y eso se consigue en aquellos vinos que tengan un IPT alto, además la mayor parte de estos polifenoles deben estar polimerizados entre ellos. El vino elaborado con la cepa de levadura 32 C es el que se encuentra por encima de las demás, no existiendo diferencias significativas con la 22 H y además es la que contiene los taninos más polimerizados aunque sin diferencias significativas con las otras cepas.

**Tabla 6:** Medias, desviación estándar y ANOVA de los parámetros relacionados con la astringencia en vinos de la variedad Garnacha elaborados con las cepas de levadura seleccionadas.

Cepa de levadura	I.DMACH %	IPT	Taninos (g/L)
<b>32 F</b>	54,5 $\pm$ 8,0 a	63,7 $\pm$ 6,6 a	1,99 $\pm$ 0,32 a
<b>22H</b>	60,6 $\pm$ 11,1 a	69,7 $\pm$ 6,4 b	2,01 $\pm$ 0,39 a
<b>32 C</b>	53,9 $\pm$ 9,4 a	69,9 $\pm$ 4,8 b	2,31 $\pm$ 0,54 a
<b>F-ratio</b>	1,34	3,19	1,62
<b>P-value</b>	0,282	0,049	0,218

I.DMAH%: Porcentaje del índice de DMACH; IPT: Índice de polifenoles totales.

Letras distintas en la misma columna y en cada grupo de datos indican diferencias significativas al 95 % para cada parámetro analizado.

#### 5.4 EFECTO DE LAS CEPAS DE LEVADURA 32 F, 22 H Y 32 C EN LOS PARÁMETROS GENERALES Y POLIFENÓLICOS DE LOS VINOS ELABORADOS CON LA VARIEDAD CABERNET SAUVIGNON.

A continuación se agrupan en la tabla 7 los resultados obtenidos en el análisis estadístico ANOVA para los ° Brix del mosto al inicio de la fermentación y para los parámetros generales del vino Cabernet Sauvignon que han sido fermentados en presencia de las cepas de levaduras 32 F, 22 H y 32 C. Se puede observar que no existen diferencias significativas excepto en la acidez volátil y en la acidez total ( $P < 0,05$ ).

**Tabla 7:** Medias, desviación estándar y ANOVA de los parámetros convencionales de los vinos de Cabernet Sauvignon elaborados con las cepas de levadura seleccionadas.

Cepa de levadura	° Brix del mosto al inicio	Acidez volátil (g/L acético)	pH	Acidez total (g/L tartárico)	° Alcohólico
<b>32 F</b>	23,5 ± 1,3 a	0,34 ± 0,02 b	3,33 ± 0,13 a	5,5 ± 0,4 ab	12,8 ± 0,2 a
<b>22H</b>	23,3 ± 1,3 a	0,28 ± 0,02 a	3,33 ± 0,08 a	5,9 ± 0,9 b	11,9 ± 0,3 a
<b>32 C</b>	23,4 ± 1,9 a	0,31 ± 0,05 b	3,41 ± 0,12 a	5,05 ± 0,03 a	12,3 ± 0,9 a
<b>F-ratio</b>	0,03	8,44	2,1	5,01	1,97
<b>P-value</b>	0,973	0,002	0,144	0,015	0,162

Letras distintas en la misma columna y en cada grupo de datos indican diferencias significativas al 95 % para cada parámetro analizado.

La acidez volátil que presentan los vinos elaborados con la variedad Cabernet Sauvignon es muy aceptable, por encima de 0,25 g/L, teniendo en cuenta lo que se comentó previamente no habría que desechar ninguna de las cepas de levaduras. Además la cepa de levadura 22 H da lugar a unos vinos con una acidez volátil de 0,28 g/L, muy adecuada, encontrándose por debajo de los valores que producen las otras dos cepas en los vinos de Cabernet Sauvignon. El pH obtenido, el cual está influenciado por el pH inicial del mosto, es similar en todos los ensayos y adecuado para no encontrar problemas microbiológicos a lo largo del tiempo. El grado alcohólico se encuentra entre 11-12, valores más bajos que Merlot (tabla 1) y Garnacha (tabla 4), pero no existen diferencias entre las cepas de levaduras 32 F, 22 H y 32 C ya que se ve influenciado por la variedad de uva.

En la tabla 8 se agrupan los valores en relación al color de los vinos que después de tres meses embotellados fueron analizados. Tras el análisis estadístico ANOVA de estos datos se observa que las diferentes cepas de levaduras codificadas como 32 F, 22 H y 32 C empleadas en la vinificación de Cabernet Sauvignon influyen de manera significativa ( $P < 0,05$ ) únicamente en la fracción de antocianos no decolorables, en la tonalidad y en el índice de PVPP. Los otros parámetros, antocianos totales e intensidad colorante no presentan diferencias significativas en función de la cepa de levadura empleada.

En el caso de la variedad de uva Cabernet Sauvignon los antocianos no decolorables se ven influenciados por las cepas de levaduras 32 F, 22 H y 32 C y por tanto aparecen diferencias significativas ( $P < 0,05$ ). Se observa que la cepa de levadura 22 H es la que mejor mantiene el color en los vinos en comparación con las cepas 32 F y 32 C. Las diferencias que se encuentran

en este parámetro entre las cepas de levaduras pueden ser causadas por la diferente adsorción de los antocianos por parte de la pared celular de éstas o a que producen mayor cantidad de acetaldehído y por tanto estabilizan los antocianos evitando que se pierda el color de los vinos (Morata *et al.*, 2016). Además, ésta pérdida de color puede estar causada por la ruptura de los enlaces  $\beta$ -glucosídicos por parte de la enzima  $\beta$ -glucosidasa la cual hace que se libere el antociano del azúcar, haciendo que el antociano sea más oxidable y pierda intensidad colorante.

El índice de PVPP es una estimación de la unión de los antocianos con los taninos, como se observa en la tabla 8 la cepa de levadura 32 C empleada en los vinos de la variedad Cabernet Sauvignon es la cepa con la que mayor índice de PVPP se ha obtenido en los vinos, habiendo diferencias significativas con las otras cepas de levaduras, por tanto la cepa de levadura 32 C es la que mejor estabiliza el color de los vinos. Sin embargo esta estabilidad del color, en el ensayo 32 C no se traduce en un incremento de IC, ni en una mayor concentración de antocianos no decolorables.

**Tabla 8:** Medias, desviación estándar y ANOVA de los parámetros relacionados con el color en vinos de la variedad Cabernet Sauvignon elaborados con las cepas de levadura seleccionadas.

Cepa de levadura	Antocianos no decolorables	Antocianos totales (mg/L)	IC	Tonalidad o matiz	Índice de PVPP
32 F	537 $\pm$ 78,8 ab	488 $\pm$ 5,3 ab	16,6 $\pm$ 0,9 a	56,7 $\pm$ 7,6 b	21,2 $\pm$ 4,9 a
22H	606 $\pm$ 101,4 b	528 $\pm$ 79,0 b	16,8 $\pm$ 1,7 a	48,3 $\pm$ 1,3 a	22,1 $\pm$ 8,1 a
32 C	442 $\pm$ 182,1 a	429 $\pm$ 144,3 a	16,7 $\pm$ 3,3 a	60,5 $\pm$ 11,4 b	50,7 $\pm$ 3,9 b
F-ratio	3,7	2,25	0,02	5,53	72,43
P-value	0,050	0,127	0,976	0,010	0,000

IC: Intensidad Colorante. Índice de PVPP: índice de polivinilpolipirrolidona.

Letras distintas en la misma columna y en cada grupo de datos indican diferencias significativas al 95 % para cada parámetro analizado.

En la tabla 9 se recogen los resultados obtenidos tras analizar estadísticamente los parámetros relacionados con los polifenoles astringentes del vino mediante ANOVA. En base a estos resultados se observa que no existen diferencias significativas entre las cepas de levaduras 32 F, 22 H y 32 C empleadas en la variedad de vino Cabernet Sauvignon. El contenido en taninos está comprendido entre 2,65 y 3,81 g/L, dando lugar a unos vinos con una tanicidad elevada, siendo ésta más alta que la obtenida en los vinos de las variedades Merlot (tabla 3) y Garnacha (Tabla 6), ya que es una uva que da lugar a vinos tánicos y secos.

**Tabla 9:** Medias, desviación estándar y ANOVA de los parámetros relacionados con la astringencia en vinos de la variedad Cabernet Sauvignon elaborados con las cepas de levadura seleccionadas

Cepa de levadura	I.DMACH %	IPT	Taninos(g/L)
<b>32 F</b>	30,3 ± 12,8 a	54,9 ± 4,08 a	2,80 ± 1,50 a
<b>22H</b>	22,4 ± 6,7 a	56,1 ± 7,9 a	3,81 ± 0,98 a
<b>32 C</b>	31,9 ± 16,9 a	53,9 ± 7,6 a	2,65 ± 0,97 a
<b>F-ratio</b>	1,41	0,23	6,25
<b>P-value</b>	0,264	0,798	0,609

I.DMAH%: Porcentaje del índice de DMACH; IPT: Índice de polifenoles totales.

Letras distintas en la misma columna y en cada grupo de datos indican diferencias significativas al 95 % para cada parámetro analizado.

### 5.5 ANÁLISIS DE LA INTERACCIÓN DE VARIEDADES DE UVA Y CEPAS DE LEVADURA EMPLEADA EN LA ELABORACIÓN DE LOS VINOS MERLOT, GARNACHA Y CABERNET SAUVIGNON.

Con el fin de conocer si existe un comportamiento igual entre las distintas cepas de levadura codificadas como 32 F, 22 H y 32 C empleadas en las variedades de uva Merlot, Garnacha y Cabernet se realiza un análisis estadístico ANOVA multifactorial. En éste se toman como variables dependientes los parámetros generales, los relacionados con el color y los relacionados con la astringencia y como factores que determinan la variabilidad se toman las cepas de levaduras y las variedades de uva. También se estudia la interacción entre los factores, con el objetivo de conocer si cada cepa de levadura se comporta igual en todas las variedades de uva.

Observando la tabla 10, en la cual se recogen los resultados del análisis estadístico ANOVA para los parámetros generales, se observa que existen diferencias significativas en todos ellos para las variedades de uva y únicamente en la acidez volátil para las cepas de levaduras. Los vinos que se vinificaron con la levadura 32 F tienen 0,41 g/L de ácido acético, mientras que la cepa de levadura 22 H produce vinos con valores de 0,36 g/L y la 32 C da valores intermedios, pero todas ellas se encuentra muy por debajo del límite máximo que marca la D.O. Utiel-Requena (1g/L). Se ha encontrado una interacción en este parámetro para la interacción variedad x levadura ( $P= 0,0001$ ), es decir, las levaduras no tienen el mismo comportamiento en las tres variedades. Concretamente es la cepa de levadura 22 H la que produce los valores más bajos de acidez volátil en las variedades Garnacha y Cabernet Sauvignon, pero es la que más acidez volátil produce en Merlot. En la acidez total también hay interacción entre la variedad de uva y la levadura, ésta está causada por la diferente composición de la materia prima.

En cuanto al pH se obtiene valores similares en todos los vinos elaborados independientemente de la cepa de levadura empleada. El grado alcohólico no se ve afectado significativamente por parte de las levaduras sino que depende de la variedad de uva empleada al igual que de su estado de madurez.

**Tabla 10:** Medias, desviación estándar y ANOVA de los parámetros relacionados con los parámetros generales de los vinos elaborados con cepas de levadura comunes a Merlot, Cabernet Sauvignon y Garnacha y su interacción.

Cepa de levadura	º Brix del mosto al inicio	Acidez volátil (g/L acético)	pH	Acidez total (g/L tartárico)	º Alcohólico
<b>Variedad uva</b>					
<b>Merlot</b>	24,5 ± 0,8 <b>b</b>	0,37 ± 0,08 <b>b</b>	3,76 ± 0,07 <b>b</b>	4,7 ± 0,3 <b>a</b>	14,8 ± 1,04 <b>c</b>
<b>Garnacha</b>	23,8 ± 0,7 <b>a</b>	0,39 ± 0,09 <b>b</b>	3,40 ± 0,04 <b>a</b>	4,62 ± 0,7 <b>a</b>	13,1 ± 0,4 <b>b</b>
<b>Cabernet Sauvignon</b>	23,4 ± 1,5 <b>a</b>	0,31 ± 0,04 <b>a</b>	3,36 ± 0,10 <b>a</b>	5,5 ± 0,6 <b>b</b>	12,0 ± 0,6 <b>a</b>
<b>F-ratio</b>	7,28	7,58	135,58	16,16	96,31
<b>P-value</b>	0,0013	0,001	0,0000	0,00000	0,0000
<b>Levaduras</b>					
<b>32 F</b>	23,9 ± 1,09 <b>a</b>	0,41 ± 0,11 <b>c</b>	3,50 ± 0,22 <b>a</b>	5,1 ± 0,6 <b>a</b>	13,0 ± 1,09 <b>a</b>
<b>22H</b>	23,8 ± 1,0 <b>a</b>	0,36 ± 0,06 <b>b</b>	3,49 ± 0,22 <b>a</b>	4,8 ± 0,9 <b>a</b>	13,3 ± 1,2 <b>a</b>
<b>32 C</b>	23,8 ± 1,3 <b>a</b>	0,31 ± 0,03 <b>a</b>	3,53 ± 0,18 <b>a</b>	4,9 ± 0,5 <b>a</b>	13,7 ± 1,7 <b>a</b>
<b>F-ratio</b>	0,04	12,86	0,34	1,22	1,93
<b>P-value</b>	0,958	0,000	0,714	0,301	0,153
<b>Interacción variedad x levadura</b>					
<b>F-ratio</b>	0,03	6,59	1,04	7,25	1
<b>P-value</b>	0,998	0,0001	0,394	0,0001	0,411

Letras distintas en la misma columna y en cada grupo de datos indican diferencias significativas al 95 % para cada parámetro analizado

En la tabla 11 se encuentran los resultados obtenidos al analizar estadísticamente mediante un ANOVA multifactorial los parámetros relacionados con el color. Se observa que las cepas de levaduras no tienen efecto significativo sobre la intensidad colorante, tonalidad ni sobre el índice de PVPP, sin embargo, sí que aparecen diferencias significativas en los factores antocianos no decolorables y totales. La cepa de levadura 32 C produce vinos con mayor contenido en antocianos totales mientras que la cepa de levadura 22 H es la que da lugar a vinos con mayor concentración de antocianos no decolorables, es decir, permite producir vinos más estables en el tiempo. Por otra parte, se observa una interacción en el parámetro de tonalidad ( $P=0,035$ ) ya que las cepas de levaduras no se comportan igual en las tres variedades de uva. La cepa 32 F es la que produce vinos con mayor tonalidad en la variedad Cabernet Sauvignon en comparación con los resultados obtenidos de tonalidad en los vinos de Merlot y Garnacha. Por último, se ha encontrado también interacción para el índice de PVPP ( $P=0,000$ ) donde la cepa 32 C produce los valores más bajos en los vinos de Merlot y Garnacha, pero los más altos en los vinos de la variedad de uva Cabernet Sauvignon.

**Tabla 11:** Medias, desviación estándar y ANOVA de los parámetros relacionados con el color de los vinos elaborados con cepas de levadura comunes a Merlot, Cabernet Sauvignon y Garnacha y su interacción.

Cepa de levadura	Antocianos no decolorables	Antocianos totales (mg/L)	IC	Tonalidad o matiz	Índice de PVPP
<b>Variedad uva</b>					
<b>Merlot</b>	538 ± 51 <b>b</b>	492 ± 54 <b>a</b>	9,1 ± 2,08 <b>a</b>	70,8 ± 4,4 <b>b</b>	37,4 ± 7,4 <b>b</b>
<b>Garnacha</b>	529 ± 70 <b>b</b>	468 ± 63 <b>a</b>	10,9 ± 2,3 <b>b</b>	54,2 ± 5,04 <b>a</b>	78,1 ± 7,9 <b>c</b>
<b>Cabernet Sauvignon</b>	451 ± 141 <b>a</b>	482 ± 47 <b>a</b>	16,7 ± 2,1 <b>c</b>	55,2 ± 9,2 <b>a</b>	32,3 ± 15,0 <b>a</b>
<b>F-ratio</b>	6,65	0,65	90,27	54,2	152,2
<b>P-value</b>	0,002	0,523	0,000	0,000	0,000
<b>Levaduras</b>					
<b>32 F</b>	491 ± 74 <b>a</b>	479 ± 54 <b>ab</b>	12,4 ± 3,5 <b>a</b>	59,4 ± 9,4 <b>a</b>	47,7 ± 25,1 <b>a</b>
<b>22H</b>	558 ± 88 <b>b</b>	452 ± 63 <b>a</b>	12,05 ± 4,03 <b>a</b>	57,3 ± 10,3 <b>a</b>	44,5 ± 25,4 <b>a</b>
<b>32 C</b>	468 ± 120 <b>a</b>	512 ± 97 <b>b</b>	12,3 ± 4,2 <b>a</b>	63,5 ± 9,9 <b>a</b>	54,6 ± 18,9 <b>a</b>
<b>F-ratio</b>	6,28	4,48	0,06	2,75	1,34
<b>P-value</b>	0,003	0,014	0,941	0,070	0,289
<b>Interacción variedad x levadura</b>					
<b>F-ratio</b>	1,76	0,98	1,24	2,73	20,77
<b>P-value</b>	0,146	0,425	0,301	0,035	0,000

IC: Intensidad Colorante. Índice de PVPP: índice de polivinilpolipirrolidona.

Letras distintas en la misma columna y en cada grupo de datos indican diferencias significativas al 95 % para cada parámetro analizado.

Con respecto a los datos recogidos en la tabla 12, donde aparecen los resultados del análisis estadístico ANOVA multifactorial sobre los compuestos relacionados con la astringencia de los vinos, se puede decir que las cepas de levadura no tienen un efecto significativo sobre éstos ( $P > 0,05$ ). Sin embargo sí que influye el tipo de uva en todos los parámetros que se han estudiado, lo cual está relacionado con la diferente composición de las variedades de uvas y la velocidad con la que aparece el etanol durante la maceración ya que cuanto antes aparezca, mayor cantidad de taninos se extrae. Por otro lado, la interacción nos permite conocer que ninguna de las cepas de las levaduras ensayadas afecta a la composición relacionada con la astringencia de los vinos.

**Tabla 12:** Medias, desviación estándar y ANOVA de los parámetros relacionados con la astringencia de los vinos elaborados con cepas de levadura comunes a Merlot, Cabernet Sauvignon y Garnacha y su interacción.

Variedad de uva	I.DMACH %	IPT	Taninos (g/L)
<b>Variedad de uva</b>			
<b>Merlot</b>	53,9 ± 7,9 <b>b</b>	47,1 ± 3,5 <b>a</b>	1,79 ± 0,26 <b>a</b>
<b>Garnacha</b>	56,3 ± 9,7 <b>b</b>	67,8 ± 6,5 <b>c</b>	1,79 ± 0,44 <b>a</b>
<b>Cabernet Sauvignon</b>	28,2 ± 13,09 <b>a</b>	55,02 ± 6,5 <b>b</b>	2,06 ± 0,90 <b>b</b>
<b>F-ratio</b>	59,67	90,92	6,69
<b>P-value</b>	0,000	0,000	0,002
<b>Levadura</b>			
<b>32 F</b>	46,2 ± 20,6 <b>a</b>	55,3 ± 8,3 <b>a</b>	1,83 ± 0,67 <b>a</b>
<b>22H</b>	46,3 ± 22,6 <b>a</b>	57,7 ± 10,9 <b>a</b>	1,83 ± 1,06 <b>a</b>
<b>32 C</b>	45,9 ± 18,8 <b>a</b>	56,9 ± 11,4 <b>a</b>	1,96 ± 0,61 <b>a</b>
<b>F-ratio</b>	0	0,4	1,29
<b>P-value</b>	0,997	0,672	0,281
<b>Interacción</b>			
<b>F-ratio</b>	1,81	1,31	0,74
<b>P-value</b>	0,137	0,273	0,565

I.DMAH%: Porcentaje del índice de DMACH; IPT: Índice de polifenoles totales.

Letras distintas en la misma columna y en cada grupo de datos indican diferencias significativas al 95 % para cada parámetro analizado.



## 6. CONCLUSIONES

Basándose en los resultados obtenidos en este estudio, se pueden extraer una serie de conclusiones de los efectos que tienen las tres levaduras previamente seleccionadas de una bodega de D.O. Utiel-Requena sobre los vinos tintos de Merlot, Garnacha y Cabernet Sauvignon.

1. Las cepas de levadura ensayadas 32 F, 22 H y 32 C concluyen la fermentación completamente.
2. La cepa de levadura 32 C obtiene vinos con un índice de polifenoles totales elevado en la variedad de uva Garnacha y vinos con alta tanicidad en la variedad Merlot, sin que aparezcan diferencias significativas de estos parámetros en Cabernet Sauvignon. Esto puede deberse a que se trata de una levadura con una cinética de fermentación rápida, al menos en Merlot y Garnacha, lo cual permite extraer mayor cantidad de taninos.
3. En cuanto a la cepa de levadura 22 H, se puede decir que es la que presenta una menor actividad  $\beta$ -glucosidasa y por lo tanto mantiene más estable el color de los vinos. Esto se puede observar en que produce vinos con un alto contenido en antocianos no decolorables en las variedades de uva Merlot, Garnacha y Cabernet Sauvignon.
4. Teniendo en cuenta estos resultados se puede decir que la levadura no influye de forma tan significativa en la modificación de los compuestos fenólicos de los vinos como lo hace la variedad de uva.

## 7. BIBLIOGRAFÍA

- BELDA, I.; NAVASCUÉS, E.; ALONSO, A.; MARQUINA, D.; SANTOS, A. (2014). Microbiología del proceso de vinificación: selección de levaduras *Saccharomyces cerevisiae* autóctonas con óptimas propiedades enológicas. *Reduca (Biología)*. Serie *Microbiología*. 7 (1): 1-14.
- BERMEJO FUIDIO, E. (2013-2014). *Efecto de la inoculación con levaduras secas activas en la elaboración de vinos con distintas variedades de uva tinta*, Trabajo fin de Grado. Universidad de la Rioja. 44 pp.
- CARIDI, A., CUFARI, A., LOVINO, R., PALUMBO, R., & TEDESCO, I. (2004). Influence of yeast on polyphenol composition of wine. *Food Technology and Biotechnology*, 42(1), 37-40 pp.
- CASP, A.; ABRIL, I. (1999). Los compuestos fenólicos del vino. *Alimentación, Equipos y Tecnología*, 97-103.
- CASTILLO, J.S. ; COMPÉS, R. (2014). *La economía del vino en España y en el mundo*. Ed. Cajamar Caja Rural. 737 pp.
- COCINEANDO, Cabernet Sauvignon, *Características de sus uvas y de sus vinos*, visto el 26 de Mayo de 2017, <http://www.cocineando.com/ZONA%20VINOS/tipos-de-vinos/uvas/cabernet-sauvignon.html>
- DEL REY, R. (2011). La distribución del vino en España. *Distribución y consumo*. p 60-68.
- DULAU, L; PALACIOS, A. (2003). Levaduras seleccionadas para la vinificación en tinto. En *Aditivos, coadyuvantes y correctores en la vinificación en tinto: XVII Cursos Rioja'02, Haro (La Rioja)*. Ayuntamiento de Haro,. p. 97-110.
- EL PAÍS, 2015. *La Garnacha: de Aragón al mundo*, visto el 26 de Mayo de 2017, [http://elpais.com/elpais/2015/04/09/estilo/1428601995\\_058633.html](http://elpais.com/elpais/2015/04/09/estilo/1428601995_058633.html)
- ESCOT, S.; FEUILLAT, M.; DULAU, L.; CHARPENTIER, C. (2001). Release of polysaccharides by yeasts and the influence of released polysaccharides on colour stability and wine astringency. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 7: 153–159.
- FLANZY, C. (2003). *Enología: fundamentos científicos y tecnológicos*. Segunda edición. A. Madrid Vicente Ediciones. 797 pp.
- GAWEL, R.; ILAND, P. G.; FRANCIS, I. L. (2001). Characterizing the astringency of red wine: a case study. *Food Quality and Preference*, vol. 12, no 1, p. 83-94.
- GLORIES, Y. (1978). *Recherches sur la matière colorante des vins rouges*. Thèse a L'Université de Bordeaux II.
- GONZÁLEZ, M.L. (2014). La cultura del vino, ¿moda o realidad?. *Acenología*.
- GONZÁLEZ-ROYO, E.; URTASUN, A.; GIL, M.; KOUNTOUDAKIS, N.; ESTERUELAS, M.; FORT, F.; CANALS, J.M.; ZAMORA, F. (2013). Efecto de la cepa de levadura y la suplementación con levaduras inactivas durante la fermentación alcohólica sobre la concentración en polisacáridos del vino tinto. *Enoviticultura*, 24: 14–21.

- GUTIÉRREZ, I. H., GARCÍA-ROMERO, E., & DE CALATRAVA, R. (2004). Antociano de variedades tintas cultivadas en La Mancha; perfiles varietales característicos de la uva y de los vinos monovarietales, y evolución durante la maduración de la baya. *Alimentaria*, 127-140.
- LIU, S. Q. Y PILONE, G.J. (2000). An overview of formation and roles of acetaldehyde in winemaking with emphasis on microbiological implications. *Intern. J. Food Sci. Technol.*, 35, 49-61 pp.
- MCRAE, J.M.; KENNEDY, J. A. (2011). Wine and grape tannin interactions with salivary proteins and their impact on astringency: a review of current research. *Molecules*, vol. 16, no 3, p. 2348-2364.
- MONAGAS, M., GÓMEZ-COROVÉS, C., & BARTOLOMÉ, B. (2007). Evaluation of different *Saccharomyces cerevisiae* strains for red winemaking. Influence on the anthocyanin, pyranoanthocyanin and non-anthocyanin phenolic content and colour characteristics of wines. *Food chemistry*, vol. 104, no 2, 814-823.
- MORATA, A.; GÓMEZ-COROVÉS, M. C.; COLOMO, B.; SUÁREZ, J. A. (2005). Cell wall anthocyanin adsorption by different *Saccharomyces* strains during the fermentation of *Vitis vinifera* L. cv Graciano grapes. *European Food Research and Technology*, 220: 341–346.
- MORATA, A., LOIRA, I., & SUÁREZ-LEPE, J.A. Influence of Yeasts in Wine Colour. En *Grape and Wine Biotechnology*.
- PEIDRO MONTANER, M<sup>a</sup>. J. (2015). *Estudio de la composición de vinos de tempranillo y Cabernet Sauvignon fermentados y conservados en hormigón, acero inoxidable y barricas*, Tesis doctoral en Enología. Universitat Politècnica de Valencia. 274 pp.
- REBOLO LÓPEZ, S. (2007). *Estudio de la composición polifenólica de vinos tintos gallegos con DO: Ribeiro, Valdeorras y Ribeira Sacra*. Univ Santiago de Compostela. 201 pp.
- RIBÉREAU-GAYON, P. (1974). The chemistry of red wine color. *The Chemistry of Winemaking*.
- RIBÉREAU-GAYON, P. Y STONESTREET, E. (1965). *Le dosage des anthocyanes dans le vin rouge*. 119-142.
- RINALDI, A., BLAIOTTA, G., APONTE, M., & MOIO, L. (2016). Effect of yeast strain and some nutritional factors on tannin composition and potential astringency of model wines. *Food microbiology*, 53, 128-134.
- TORIJA MARTÍNEZ, M<sup>a</sup>. J. (2002). *Ecología de levaduras: Selección y adaptación a fermentaciones vínicas*, Tesis doctoral en Bioquímica. Universitat Rovira i Virgili. 260 pp.
- VALLS, J., LAMPREAVE, M., NADAL, M., & AROLA, L. (2000). Importancia de los compuestos fenólicos en la calidad de los vinos tintos de crianza. *Alimentación equipos y tecnología*, 19(2), 119-124.
- VIRAMONTES, R.I.; PÉREZ, R. (2014). Levaduras vínicas. *Acenología*.
- VITICULTURA, 2014. *Garnacha tinta. La segunda variedad más plantada de España*, visto el 15 de Mayo de 2017, <http://www.vitivinicultura.net/viticultura-de-la-garnacha-tinta.html>
- VITIVINICULTURA, 2012. *Uvas de vino tintas: Variedad de Vid: Merlot*, visto el 10 de Mayo de 2017, <http://www.vitivinicultura.net/uvas-de-vino-tintas-merlot.html>

VIVAS, N.; GLORIES, Y.; LAGUNE, L.; SAUCIER, C. (1994). Estimation du degré de polymerisation des procyanidines du raisin et du vin par la méthode au p-dimethylaminociannamaldehyde ». *Journal Interntional des Sciences de la Vigne et du Vin*, 28, nº 4, 319-336.

ZAMORA, F. (2003). Elaboración y crianza del vino tinto: Aspectos científicos y prácticos. Editorial Mundi-Prensa. Madrid. 225 pp.