



Facultad de Veterinaria
Universidad Zaragoza



Trabajo Fin de Grado en Ciencia y Tecnología de los alimentos

Influencia de tratamientos de pulsos eléctricos de alto voltaje en el nivel de polifenoles en la elaboración de vino tinto a distintas temperaturas de maceración.

Influence of pulsed electric field treatments on polyphenols level in the red wine elaboration at different maceration temperatures.

Autor

Alberto Soria Montesinos.

Directores

Dr. Javier Raso Pueyo
Dr. Guillermo Saldaña Navarro.

Facultad de Veterinaria
2016



ÍNDICE

	<u>Páginas</u>
1. RESUMEN	1
2. INTRODUCCIÓN	3
2.1. Situación del sector vinícola español y europeo	3
2.2. Proceso de elaboración del vino tinto	3
2.3. Los compuestos fenólicos: importancia y extracción	6
2.3.1. Extracción de los compuestos fenólicos	6
2.3.1.1. Potencial fenólico de las uvas	6
2.3.1.2. Evolución general de la extracción fenólica	7
2.3.2. Factores que afectan a la extracción fenólica	7
2.3.2.1. Concentración de etanol	7
2.3.2.2. Concentración de anhídrido sulfuroso	8
2.3.2.3. Temperatura de extracción	8
2.3.3. Tecnologías de mejora de la extracción fenólica	8
2.4. Los Pulsos eléctricos de alto voltaje (PEAV)	9
2.4.1. Fundamento de los PEAV	9
2.4.2. Parámetros de proceso	10
2.4.2.1. Intensidad de campo eléctrico	10
2.4.2.2. Tiempo de tratamiento	11
2.4.2.3. Energía por pulso	11
2.4.2.4. Frecuencia	12
2.4.2.5. Resistencia de la cámara de tratamiento	12
2.4.3. Aplicación de los pulsos eléctricos a los procesos de extracción	12
2.4.3.1. Extracción de compuestos fenólicos mediante PEAV	13
3. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS	14
4. METODOLOGÍA	15
4.1. Equipo de PEAV	15
4.2. Uva	16
4.3. Vinificaciones	16
4.3.1. Diseño de las vinificaciones	16



4.3.2. Proceso de vinificaciones a escala planta piloto	17
4.4. Análisis físico-químico	18
4.4.1. Grados Brix y grado alcohólico probable	19
4.4.2. Densidad	19
4.4.3. Determinaciones espectrofotométricas	19
4.4.3.1. Intensidad de color	19
4.4.3.2. Antocianos totales	20
4.4.3.3. Polifenoles	20
4.4.3.3.1. Índice de Folin-Ciocalteu	20
4.4.3.3.2. Índice de polifenoles totales	21
4.4.3.4. Taninos totales	21
4.4.4. pH	21
4.4.5. Acidez total	21
4.4.6. Acidez volátil	22
4.4.7. Azúcares reductores	22
4.4.8. Grado alcohólico adquirido	23
4.5. Análisis sensorial	23
4.6. Análisis estadístico	24
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	25
5.1. Evolución de la densidad del mosto durante la fermentación	25
5.2. Evolución del Índice de Polifenoles Totales e Índice Cromático durante la maceración/fermentación del vino tinto joven	27
5.2.1. Evolución en el Índice de Polifenoles Totales (IPT)	27
5.2.2. Evolución en el Índice Cromático (IC)	31
5.3. Parámetros de calidad del vino tinto joven producido a escala planta piloto después de 3 meses de almacenamiento en botella.	34
5.4. Evaluación sensorial	37
6. CONCLUSIONES	39
7. APORTACIONES EN MATERIA DE APRENDIZAJE	42
8. BIBLIOGRAFÍA	43
9. ANEXO I	48



1 - RESUMEN

La evolución actual del mercado enológico mundial está dirigida principalmente a la obtención de vinos tintos de color intenso y de alta concentración fenólica. La tecnología de Pulsos Eléctricos de Alto Voltaje (PEAV) consiste en la aplicación intermitente de campos eléctricos de alta intensidad y corta duración sobre un alimento, que producen un fenómeno denominado electroporación, consistente en la formación de poros en las membranas celulares. Se ha demostrado que la electroporación favorece la transferencia de compuestos del interior de la célula al medio externo.

El objetivo general de este Trabajo Fin de Grado fue el estudio del potencial de los PEAV en la mejora de la extracción de los compuestos fenólicos a partir de los hollejos de la uva durante el proceso de maceración-fermentación del vino tinto a diferentes temperaturas. Para la consecución de este objetivo se desarrollaron dos procesos básicos de elaboración de vino tinto joven a escala planta piloto, con diferentes temperaturas de fermentación-maceración (25°C y 18°C), produciendo vino a partir de uvas tratadas por PEAV y uvas no tratadas y con distintos tiempos de maceración (maceración estándar y maceración corta) para cada temperatura.

Según los resultados obtenidos, la aplicación de tratamientos de PEAV a las uvas antes del comienzo del proceso de vinificación facilita la extracción de los compuestos fenólicos durante la fase de maceración-fermentación. Los resultados demuestran que sería posible reducir el tiempo de maceración del vino tinto en 6 y 5 días cuando la maceración se realizó a 25 y 18°C respectivamente, ya que el vino obtenido de uvas tratadas por PEAV y maceraciones cortas presentó valores de IPT e IC similares al vino obtenido de uvas no tratadas y maceraciones tradicionales.

Tras un almacenamiento de tres meses en botella, no se observaron diferencias en los parámetros fisicoquímicos de todos los vinos, se mantuvieron las diferencias a nivel cromático y se observaron mayores concentraciones de antocianos en el vino tratado respecto al vino control. Finalmente, se realizó un test de aceptación hedónica en el que se compararon vinos tratados por PEAV y control, macerados a 25 y 18°C y los resultados de dicho test indicaron que los tratamientos de PEAV no solo no confieren características organolépticas negativas al vino, sino que además es positivamente valorado frente a los vinos elaborados de manera tradicional.



ABSTRACT

The current evolution of the worldwide wine market is oriented to the production of intense color and high phenolic concentration wines. The pulsed electric fields (PEF) technology consists in the application of alternating electric fields of high voltage and short duration to a product. These fields provoke the so called electroporation, which consists in the formation of pores in the cell envelopes. It has been demonstrated that the electroporation facilitates the extraction of compounds from the interior of the cell to the external medium.

The general objective of this work was the study of the potential of PEF treatments in the enhancement of the phenolic extraction from the grapes during the maceration-fermentation of red wines at different temperatures. To reach this objective, two basic processes were developed at pilot-plant scale, consisting in the vinification at 25 and 18°C from PEF treated and untreated grapes, and different times of maceration (standard and short) for each temperature.

According to the results, the application of PEF treatments to the grapes before the vinification facilitates the extraction of phenolic compounds during the maceration-fermentation step. The results show that it is possible to reduce the maceration time in 6 or 5 days when the maceration was performed at 25 and 18°C respectively. For both temperatures, the wine obtained from PEF treated grapes and short macerations showed TPI and CI values similar to the wines obtained from untreated grapes and standard macerations.

After storage of three months in bottle, there were not differences in the physicochemical parameters for all the wines, the differences in colour were maintained and higher concentrations of anthocyanines were observed in the PEF treated wine than in the control wine. Finally, a acceptance test was performed in order to compare the acceptance of wines treated by PEF and untreated, and macerated at 25 and 18°C and the results of this test showed that the PEF treatments are not providing any negative organoleptic characteristic to the wine, and moreover the wines obtained by this method are more positively appreciated in contrast with the wines obtained by traditional vinification.



2 - INTRODUCCIÓN

2.1. - SITUACIÓN DEL SECTOR VINÍCOLA ESPAÑOL Y EUROPEO

Desde que la Organización Internacional de la Viña y el Vino (OIV) recoge periódicamente los datos de producción y consumo mundiales de vino, España ha jugado un claro papel protagonista. Según las estadísticas del año 2015, el primer país productor de vino fue Italia, con 48,9 millones de hl (16,1% mundial), seguido por Francia, con 47,4 millones de hl (17,2% mundial), y España, con 36,7 millones de hl (13,3% mundial). Además, desde que España entró a formar parte de la Unión Europea (UE) se aprecia un incremento paulatino de la producción de vino.

Sin embargo, este incremento en la producción no se ha reflejado en un aumento del consumo de vino en España. El aumento de producción en zonas no tradicionales, como Chile o EE.UU, la bajada del consumo de vino y los excedentes de producción continuos desde hace años, son las principales causas de la crisis estructural que el sector vitivinícola sufre en la actualidad, no sólo en España, sino también en Europa (1).

En la actualidad, debido al aumento constante de la producción vinícola mundial y a la continua bajada del consumo de vino en Europa, se hace necesaria la implantación de nuevas tecnologías y técnicas en las bodegas con objeto de alcanzar una mayor competitividad a través de la optimización de los procesos productivos y la mejora de la calidad del vino (1,2).

2.2. - PROCESO DE ELABORACIÓN DEL VINO TINTO

El vino tinto se define tradicionalmente como el procedente del mosto de uva tinta que ha estado en maceración con las partes sólidas de la uva, habitualmente sólo los hollejos, durante la fermentación alcohólica del mismo (3). Durante esta maceración, se produce la extracción de los compuestos fenólicos, de los aromas y de todas las sustancias que lo caracterizan química y organolépticamente (4,5). A continuación, se detallarán las principales fases que acontecen durante la elaboración tradicional del vino tinto (Figura 2.1).



Figura 2.1. Diagrama de flujo del proceso de elaboración del vino tinto.

Una vez recibida la uva (**recepción**), se despallilla para eliminar el raspón (**despalillado**), se estruja (**estrujado**) para extraer el mosto y se añade anhídrido sulfuroso (SO₂). El SO₂ inhibe el desarrollo de los microorganismos presentes en la uva, especialmente el de las bacterias lácticas, lo que facilita el desarrollo de los cultivos iniciadores (6,7). Además de sus cualidades antisépticas, el anhídrido sulfuroso es un fuerte antioxidante y facilita la extracción de las sustancias fenólicas (6,8). Sin embargo, debido a que puede provocar reacciones de hipersensibilidad sobre el consumidor, el empleo del anhídrido sulfuroso en la Comunidad Europea está regulado por el reglamento (CE) N° 606/2009, el cual fija la concentración máxima permitida.

A continuación, en la **fermentación alcohólica** los azúcares reductores del mosto son transformados parcial o totalmente en alcohol, mediante la acción de levaduras del género *Saccharomyces*, en condiciones de anaerobiosis. La duración de la fermentación oscila normalmente entre 7 y 20 días, dependiendo de diversos factores como la temperatura ambiental, características de las levaduras implicadas en el proceso o la cantidad de nutrientes presentes en el mosto de uva. Para poder estimar y finalmente saber cuándo ha concluido la fermentación, es fundamental realizar un seguimiento diario de la densidad del mosto. Esta, tras el despallado y estrujado, suele oscilar en torno a 1100 g/L. Una vez arranca la fermentación, la densidad disminuye debido a la desaparición del azúcar y a la consecuente aparición de etanol. Cuando



durante dos días seguidos este valor se mantiene constante (en torno a 990 g/L), la fermentación se da por concluida. En el caso de los vinos tintos, la fase de maceración acontece simultáneamente a la fermentación alcohólica, de una duración variable (9).

El color y el resto de los atributos responsables de la calidad sensorial del vino tinto son en gran medida atribuibles a los compuestos fenólicos, a las moléculas aromáticas y a los precursores de aromas localizados en las células de los hollejos (10). Por ello, la **maceración** del mosto con los hollejos durante la etapa de fermentación es imprescindible para la elaboración de este tipo de vino. Para conseguir una cantidad suficiente de compuestos fenólicos en el proceso de elaboración de vino tinto mediante el método tradicional, se promueven maceraciones de distinta duración en función del tipo de vino que se quiere elaborar (9,11). Maceraciones cortas (de 3 a 5 días) solamente se realizan para obtener vinos jóvenes (12,13). Al finalizar la maceración, el mosto todavía contiene azúcares, por lo que la fermentación alcohólica termina en ausencia de los hollejos. Estas cortas maceraciones pueden causar que la intensidad de color no sea muy elevada, la concentración de taninos escasa y que se produzca una polimerización insuficiente de los compuestos fenólicos, que podría afectar a la estabilidad del vino (14). En general, maceraciones algo más largas (de 6 a 10 días) permiten conseguir vinos tintos jóvenes mejor equilibrados, gracias a la mayor extracción de compuestos fenólicos de los hollejos de la uva.

Por otro lado, maceraciones largas (2-3 semanas) son destinadas a obtener vinos de crianza y reserva, ya que en esta clase de vinos es fundamental una alta extracción de fenoles, especialmente taninos, para que el color sea estable durante el envejecimiento.

El proceso en el cual se separa el vino de los hollejos se denomina **descube**. Al vino que se obtiene directamente de los depósitos se le llama vino yema, mientras que el vino que se obtiene tras prensado de los depósitos se conoce como vino prensa. Es práctica habitual la mezcla de ambos para obtener el vino final con las características deseadas.

Tras el descube, se puede proceder a realizar una segunda fermentación, la **maloláctica**, fundamentalmente indicada para los vinos destinados a proceso de crianza en bodega, que consiste en la transformación del ácido málico contenido en el vino en ácido láctico por acción de las bacterias lácticas, especialmente de los géneros *Oenococcus*, *Pediococcus* y *Lactobacillus* (15). Tras la fermentación maloláctica, con



objetivo de eliminar la turbidez del vino debido a la presencia de pequeñas partículas en suspensión, se procede a la **estabilización** del vino, mediante clarificación por encolado, la estabilización por frío, la filtración, la centrifugación o la clarificación natural (4,16).

Finalmente, previo al embotellado, el vino suele filtrarse o centrifugarse para eliminar cualquier microorganismo o impureza que pudiera estar todavía presente en el vino.

2.3. - LOS COMPUESTOS FENÓLICOS: IMPORTANCIA Y EXTRACCIÓN

Durante la fase de maceración se produce la extracción de diversas sustancias de los hollejos, fundamentalmente compuestos fenólicos, que son los máximos responsables del color del vino tinto. Hoy, es bien conocido que estos compuestos no sólo determinan el color del vino tinto, sino también otras características sensoriales fundamentales como el cuerpo, la estructura, el amargor, la aspereza, la dureza o la astringencia, contribuyendo al perfil olfatorio del vino (17,18).

Además de sus cualidades organolépticas, numerosos estudios *in vitro* han puesto de manifiesto que las sustancias fenólicas poseen actividad bactericida, antiviral, antiinflamatoria, antialérgica y antioxidante, lo que puede tener importantes implicaciones positivas en la salud humana (19,20). Hoy en día se cree que estos compuestos son los principales responsables de los efectos beneficiosos para la salud atribuidos al consumo de vino tinto (21,22).

2.3.1. EXTRACCIÓN DE LOS COMPUESTOS FENÓLICOS

Los compuestos fenólicos son extraídos en el transcurso del proceso de maceración, en el cual las partes sólidas de la uva están en contacto directo con el mosto. La eficacia de este fenómeno de transferencia de masa va a depender de la cantidad de compuestos fenólicos existente en la propia materia prima así como del pH, el contenido etílico o la concentración de anhídrido sulfuroso, y de las técnicas o tecnologías enológicas aplicadas a la uva antes o durante el proceso de maceración.

2.3.1.1. Potencial fenólico de la uva

El contenido fenólico de la uva oscila entre 12 y 45 mg/g. Esta variación en las concentraciones es debida tanto a las características propias de cada variedad como a las



condiciones edafoclimáticas y las prácticas de cultivo realizadas en el viñedo, así como al grado de madurez de la uva (23).

2.3.1.2. Evolución general de la extracción fenólica

La extracción de antocianos y el resto de fenoles sigue cinéticas diferentes. Por un lado, los antocianos contenidos en los hollejos pasan rápidamente al mosto desde los primeros instantes de la maceración debido a su alta solubilidad en el agua (24). Por otro lado, el resto de fenoles comienzan a extraerse a medida que aumenta la concentración de etanol en el mosto, debido tanto a su baja solubilidad en el agua como a la degradación de la pared celular producida por el propio etanol (25). La intensidad de color depende tanto de los antocianos como de los polifenoles.

2.3.2. FACTORES QUE AFECTAN A LA EXTRACCIÓN FENÓLICA

Las sustancias fenólicas se encuentran fundamentalmente en las vacuolas, por ello las paredes y las membranas celulares van a formar una barrera que dificulta su difusión al mosto o al vino (26,27). Por tanto, la degradación de estas estructuras durante la maceración va a ser el factor clave que determine el fenómeno de extracción (28). Esta degradación depende de diversos factores como son la concentración de etanol, la presencia de anhídrido sulfuroso o la temperatura, así como de las técnicas enológicas utilizadas en la vinificación (27).

2.3.2.1. Concentración de etanol

El etanol que se genera durante la fermentación actúa sobre los polisacáridos de las paredes, facilitando tanto la extracción de los compuestos no antociánicos que se encuentran interaccionando con los mismos como la salida del resto de compuestos fenólicos (4,27). Además, el etanol presente en el mosto facilita la solubilización del material fenólico. Por todo ello, cuanto mayor es la concentración y producción de etanol, más rápida es también la extracción fenólica (9).

2.3.2.2. Concentración de anhídrido sulfuroso

El anhídrido sulfuroso añadido al vino fundamentalmente por sus propiedades antimicrobianas, también interviene en la degradación de la estructura de la piel de la uva, facilitando la salida al mosto de los antocianos y demás fenoles (4).



2.3.2.3. Temperatura de extracción

La temperatura es otro factor clave en la extracción de compuestos fenólicos, ya que las altas temperaturas contribuyen a la degradación de las paredes celulares de los hollejos, lo que favorece los fenómenos de transferencia de masa y aumenta la solubilidad de las sustancias fenólicas extraídas, dificultando su pérdida por precipitación. En el proceso de vinificación se trabaja en un rango estrecho de temperaturas, entre los 18 y los 30°C aproximadamente. Temperaturas excesivamente bajas (<18 °C) impiden el crecimiento adecuado de las levaduras y originan vinos de color y aroma pobres (29). Por otro lado, temperaturas muy elevadas (>30 °C) pueden provocar paradas en la fermentación y pérdida de aromas (30,31).

2.3.3. TECNOLOGÍAS DE MEJORA DE LA EXTRACCIÓN FENÓLICA

La evolución actual del mercado enológico mundial está dirigida principalmente a la obtención de vinos tintos de color intenso y de alta concentración fenólica. En el proceso tradicional de elaboración del vino tinto solamente se extrae entre un 20 y un 40% de los fenoles presentes en la uva. Con objeto de mejorar ese rendimiento, o cuando menos acelerar su extracción, se han investigado y propuesto distintas técnicas enológicas como la vinificación en doble pasta, el sangrado, la maceración sulfítica, la criomaceración, la termovinificación o el uso de enzimas pectolíticas.

La técnica de la termovinificación consiste en el calentamiento de la vendimia, previamente a la fermentación, con el fin de destruir las células de los hollejos y extraer los componentes fenólicos rápidamente. El principal inconveniente de esta técnica es la baja calidad del producto final (10,27).

La técnica de adición de enzimas pectolíticas es otra técnica conocida, estas enzimas se caracterizan por hidrolizar las sustancias pécticas de la pared celular de las células vegetales. Su acción, por tanto, facilita la difusión y extracción de los compuestos fenólicos, tanto los situados en el interior de la célula, como los que se encuentran en la pared celular (32). Los inconvenientes principales del uso de preparados enzimáticos, además de su alto precio, son la mayor concentración de etanol en el vino final, el aumento de la concentración de ácido poligalacturónico que oscurece el vino, o la presencia de enzimas oxidantes contaminantes (33).



La técnica de maceración fría consiste en mantener la uva sin fermentar a temperaturas comprendidas entre 10-15°C de 3 a 6 días antes de comenzar la fermentación (27). En el vino tinto podría mejorar el contenido fenólico y, especialmente, las características aromáticas del vino tinto. Otra técnica basada en la aplicación de frío a la vendimia es la criomaceración, consistente en la congelación de la uva, lo que provoca la rotura y desorganización de las células del hollejo, facilitando por tanto de una manera directa la salida de los compuestos aromáticos y fenólicos hacia el mosto (27). El mayor problema para su aplicación en las bodegas es su elevado coste, ya que la utilización del frío es uno de los procesos más caros de la industria alimentaria.

En las últimas décadas, la industria alimentaria ha sufrido una increíble explosión tecnológica, cuyos frutos son visibles día a día en el desarrollo de nuevas técnicas y procesos, y en la consecuente diversificación de la oferta de productos. Una de las estrategias esenciales para mejorar la competitividad de la industria alimentaria es la introducción de nuevas tecnologías de procesado que permitan la mejora de la calidad de los productos, el desarrollo de otros nuevos o la optimización de los procesos reduciendo sus costes energéticos.

Especialmente, han cobrado particular importancia, aquellas tecnologías que permiten procesar los alimentos sin alterar sus características organolépticas. Una de las tecnologías que pretende conseguir estos objetivos es la aplicación de Pulsos Eléctricos de Alto Voltaje (PEAV).

2.4. - LOS PULSOS ELÉCTRICOS DE ALTO VOLTAJE (PEAV)

2.4.1. FUNDAMENTO DE LOS PEAV

La tecnología de PEAV consiste en la aplicación intermitente de campos eléctricos de alta intensidad (1-50 kV/cm) y corta duración (microsegundos) sin apenas aumentar la temperatura del producto tratado, y por lo tanto, sin alterar sustancialmente sus propiedades sensoriales y nutricionales (34). Estos campos eléctricos producen un fenómeno denominado electroporación, consistente en la formación de poros en las membranas celulares. La formación de poros en la membrana de las células vegetales facilita la extracción de distintos componentes intracelulares de interés para la industria

alimentaria (35). Esta tecnología presenta un gran potencial en el proceso de elaboración de vino tinto.

Las estructura diana de los PEAV son las envolturas celulares. Las bicapas lipídicas suponen una barrera para iones y moléculas polares. Sin embargo en las membranas celulares existen unos poros acuosos que se forman de forma espontánea y permiten el paso de éstos compuestos. La difusión a través de estos canales supone un proceso energéticamente favorable, ya que los lípidos del interior de la membrana no pueden interactuar con estos compuestos e implicaría mucha energía. la aplicación de un campo eléctrico externo induce un potencial a través de la membrana que reduciría la energía necesaria para la formación espontánea de poros hidrofílicos, provocando la aparición de un mayor número de poros que son más estables que en ausencia de un campo eléctrico (Figura 2.2).

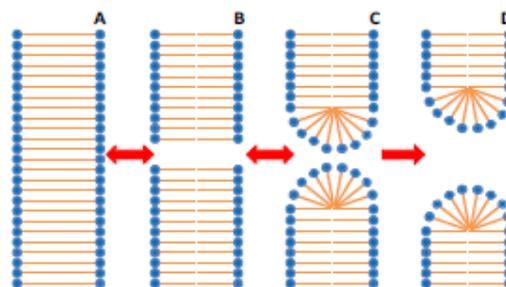


Figura 2.2. Esquema de la membrana plasmática formada por fosfolípidos, sin ningún poro (A), con un poro hidrofóbico (B), con un poro hidrofílico reversible (C) y con un poro hidrofílico irreversible (D) (36).

2.4.2. PARÁMETROS DE PROCESO

Los parámetros más importantes que caracterizan el tratamiento por PEAV son la intensidad del campo eléctrico, la forma y anchura de pulso, el tiempo de tratamiento, la energía específica, la frecuencia y la resistencia de la cámara de tratamiento.

2.4.2.1. Intensidad de campo eléctrico

La intensidad del campo eléctrico (E) se define como la fuerza por unidad de carga que experimenta la matriz colocada entre los electrodos. Esta intensidad depende del voltaje aplicado y de la configuración de los electrodos. Este parámetro varía aproximadamente desde 0,1 kV/cm hasta los 100 kV /cm (37).



En cámaras de electrodos paralelos, el campo eléctrico se puede definir como la diferencia de potencial (V) existente entre los dos electrodos donde se coloca la matriz dividida por la distancia existente entre ellos (d), y se puede considerar uniforme:

$$E = V/d \quad \text{Ecuación 2.1}$$

Sin embargo, en cámaras colineales o coaxiales, la distribución del campo eléctrico no es homogénea, dependiendo el valor de la intensidad del campo eléctrico en un punto de la cámara del voltaje aplicado entre los electrodos y de su posición (37).

2.4.2.2. Tiempo de tratamiento.

El tiempo de tratamiento se define como el tiempo total efectivo durante el cual se aplica el campo eléctrico. Se calcula multiplicando el número de pulsos aplicados por la anchura o duración del pulso. La anchura del pulso varía desde 1 nanosegundo a 1 segundo, y en función de esta se han dividido los tratamientos de PEAV en tratamientos de nanosegundos, microsegundos y milisegundos (2).

2.4.2.3. Energía por pulso.

Cuando se aplica una diferencia de potencial entre los electrodos de la cámara de tratamiento, se genera una corriente eléctrica que circula a través del producto. Para mantener esta diferencia de potencial hace falta aplicar una energía eléctrica. La forma más común de calcular la energía de cada pulso (W) aplicada en el producto durante un tratamiento de pulsos se puede calcular mediante las siguientes ecuaciones:

$$W = V \cdot I \cdot \tau \cdot 1/2 \quad \text{Para pulsos de caída exponencial} \quad \text{Ecuación 2.2}$$

$$W = V \cdot I \cdot \tau \quad \text{Para pulsos de onda cuadrada} \quad \text{Ecuación 2.3}$$

donde V es la diferencia de potencial aplicada entre los electrodos de la cámara de tratamiento (V); τ es la anchura del pulso (s); I es la intensidad de la corriente (A).

La energía eléctrica total aplicada durante un tratamiento de PEAV es igual a la energía por pulso (W) multiplicada por el número total de pulsos (n). La energía por unidad de masa o energía específica (W'), se calcula a partir de la energía total aplicada y de la masa de producto procesado (m), expresándose generalmente en kJ/kg:

$$W' = W \cdot n/m \quad \text{Ecuación 2.4}$$



Esta energía específica depende del voltaje y de la intensidad de la corriente, del número de pulsos y de su anchura, y de la conductividad y la masa del alimento. Toda la información aportada por este parámetro hace que la energía específica junto con la intensidad del campo eléctrico y el tiempo de tratamiento sean los parámetros recomendados a indicar para caracterizar los tratamientos de PEAV (2).

2.4.2.4. Frecuencia.

La frecuencia se corresponde con el número de pulsos aplicados por unidad de tiempo. La frecuencia utilizada por los equipos de generación de PEAV es muy variable, pudiendo oscilar entre 1 y 5000 Hz. En las cámaras estáticas, una vez establecido el tiempo efectivo de tratamiento (número de pulsos por su anchura), la frecuencia de los pulsos determina el tiempo de permanencia del producto en la cámara, es decir, el tiempo de procesado. En los tratamientos aplicados en condiciones de flujo continuo, la frecuencia seleccionada junto con el caudal del producto determina el tiempo efectivo de tratamiento del producto (2).

2.4.2.5. Resistencia de la cámara de tratamiento.

La resistencia de la cámara de tratamiento influye sobre la intensidad de corriente que atraviesa el producto y, por lo tanto, la energía necesaria para generar la diferencia de potencial requerida. La resistencia eléctrica de la cámara de tratamiento depende de sus dimensiones geométricas y de la conductividad del medio de tratamiento.

2.4.3. APLICACIÓN DE LOS PULSOS ELÉCTRICOS A LOS PROCESOS DE EXTRACCIÓN.

Como ya se ha comentado, la tecnología de PEAV aumenta la permeabilidad de las membranas celulares. De este modo, la aplicación de tratamientos de PEAV mejora la migración de los solutos a través de la membrana, que una vez electroporada pierde su capacidad de barrera semipermeable al paso de moléculas.

En los años 80, la tecnología de los PEAV se comenzó a utilizar de forma generalizada en el campo de la biología celular con distintos objetivos como la transferencia de genes, la electrocución de las células o la electroinserción de proteínas dentro de la membranas celulares (38). Pero no fue hasta los años 90 cuando se comenzó a investigar en profundidad la aplicación de los PEAV para mejorar los



procesos de transferencia de masa en la industria alimentaria. Muchos componentes de interés para la industria alimentaria se encuentran en el interior de células vegetales. La obtención de estos componentes mediante el uso de solventes específicos se conoce como extracción sólido-líquido. Algunos de los procesos en los que se ha investigado la influencia de un pretratamiento de la matriz vegetal por PEAV son la extracción de colorantes, sacarosa y otros azúcares, aceites, aumento de la extracción de zumos o aceites y compuestos fenólicos en la industria vinícola.

2.4.3.1. Extracción de compuestos fenólicos mediante PEAV.

Existe en el mercado una creciente preocupación por la utilización de aditivos alimentarios de origen sintético como los antioxidantes. Una posible alternativa es la utilización de compuestos fenólicos de origen natural que poseen además de una elevada capacidad antioxidante, efectos beneficiosos para la salud como la reducción de los riesgos de ciertas enfermedades cardiovasculares y degenerativas. En la mayoría de los casos, para la utilización de los compuestos fenólicos bien como aditivo, o bien en alimentos funcionales, es necesario extraerlos. Existen algunos estudios acerca del potencial de los PEAV para extraer compuestos fenólicos de diversas matrices. Se ha demostrado que tratamientos de PEAV pueden aumentar hasta un 37% la extracción de estos compuestos de semillas de lino (39) o un 77% de la piel de papaya (40).

Los compuestos fenólicos son unos de los compuestos más importantes presentes en el vino, con especial importancia en el vino tinto, al que le proporcionan no solo el color, sino otros atributos de calidad previamente mencionados. Estudios previos han demostrado el potencial de los PEAV para mejorar la extracción de los compuestos fenólicos de los hollejos de la uva durante el proceso de vinificación (41,42). Estos estudios previos se realizaron a escala de laboratorio, con volúmenes pequeños, y en cámaras de tratamiento por lotes (i. e. en condiciones estáticas). Otros estudios más recientes han estudiado la aplicación de los PEAV en instalaciones de flujo continuo a escala planta piloto y semi-industrial (43,44). Aunque estos estudios demuestran los beneficios de esta tecnología durante procesos de vinificación tradicionales, aun no se ha explorado todo el potencial de los PEAV, como por ejemplo en la reducción de los tiempos de maceración o la reducción de la temperatura de maceración, lo que podría influir positivamente en la calidad organoléptica del vino tinto.



3 - JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

Los compuestos fenólicos tienen gran influencia en los atributos sensoriales del vino tinto, principalmente en el color, pero también en el aroma, amargor, astringencia o cuerpo del vino. Además, recientemente se han demostrado los efectos beneficiosos sobre la salud humana de este grupo de moléculas, debido principalmente a su capacidad antioxidante. Así, se le atribuyen actividad antiinflamatoria, antialérgica y antioxidante. Por ello, es de gran importancia conseguir vinos con una correcta concentración fenólica, para lo cual, es interesante incluir procesos que faciliten el proceso de extracción de los compuestos fenólicos durante la vinificación.

El objetivo de este trabajo es evaluar el potencial de la tecnología de pulsos eléctricos de alto voltaje para la reducción del tiempo y la temperatura de maceración del vino tinto.

Para ello, se realizaron las siguientes actividades:

- Seguimiento de la evolución de la concentración de polifenoles durante la fase de maceración y fermentación del vino tinto procedente de uvas tratadas por PEAV y uvas no tratadas.
- Seguimiento de la evolución del índice cromático durante la fase de maceración y fermentación del vino tinto procedente de uvas tratadas por PEAV y uvas no tratadas.
- Evaluación de las características fisicoquímicas y parámetros de calidad del vino procedente de uvas tratadas por PEAV y uvas no tratadas, una vez terminada la maceración y fermentación, tras un período de almacenamiento en frío.
- Análisis sensorial del vino procedente de uvas tratadas por PEAV y uvas no tratadas, una vez terminada la maceración y fermentación, tras un período de almacenamiento en frío.

4 - METODOLOGÍA

4.1. - EQUIPO DE PEAV

Los tratamientos se aplicaron mediante un equipo de pulsos eléctricos comercial, modelo EPULSUS®-PM1- 10 (Energy Pulse System, Lisbon, Portugal). Se trata de un generador Marx de pulsos eléctricos de onda cuadrada de 10 kV de voltaje máximo, 180 A de corriente máxima y 3.5 kW de potencia. Es un equipo compacto, de $800 \times 600 \times 400$ mm de dimensiones y 80 kg de peso. El equipo se maneja mediante una pantalla táctil en la que se pueden modificar el voltaje aplicado (hasta 10 kV), la anchura del pulso (de 5 a 100 μ s) y la frecuencia de aplicación (hasta 200 Hz).

El generador de pulsos se basa en la descarga de unos condensadores desde un generador de tipo Marx, cuyo circuito simplificado se muestra en la Figura 4.1.

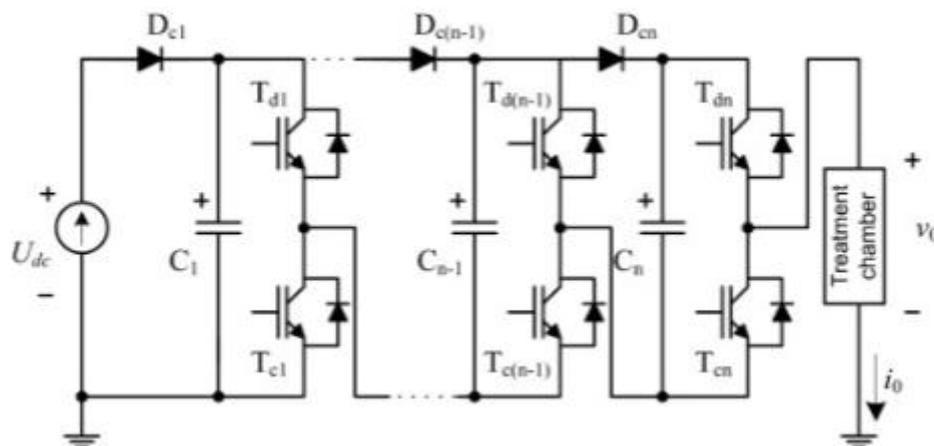


Figura 4.1. Circuito simplificado del generador de pulsos eléctricos basado en la tecnología Marx usado en este trabajo.

El generador se conectó a una cámara de tratamiento colineal de 30 mm de diámetro y 30 mm de separación entre los electrodos, como se muestra en la Figura 4.2. La cámara de tratamiento se colocó verticalmente y con el flujo hacia arriba para evitar la formación de burbujas que pudieran causar ruptura dieléctrica. La sección circular de la cámara de tratamiento permitió una fácil adaptación a las conducciones usadas para el transporte de la uva a escala planta piloto.

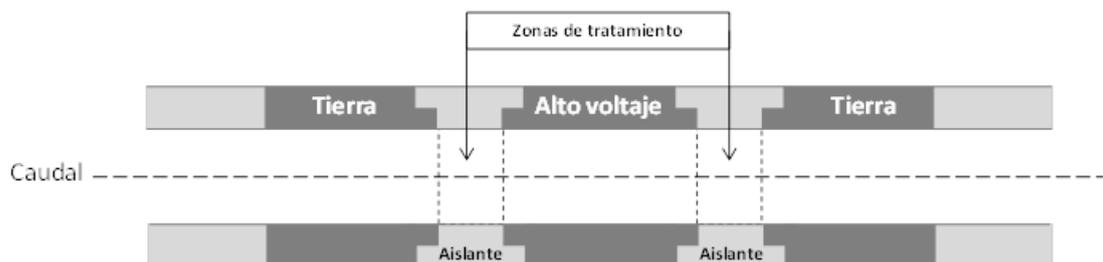


Figura 4.2. Figura esquemática de la sección longitudinal de la cámara de tratamiento colineal usada en este trabajo.

4.2. - UVA

Para la realización de este Trabajo Fin de Grado, se utilizó uva tinta (*Vitis vinifera* L.) de la variedad Garnacha, procedente de parcelas situadas en la Denominación de Origen (DO) Campo de Borja (“Bodegas Aragonesas”).

Las características de la uva usada como materia prima para la elaboración del vino fueron analizadas, como se indica en la Tabla 4.1.

Tabla 4.1. Características de la uva utilizada como materia prima en la elaboración del vino tinto joven

Variedad de uva	pH	Acidez (g/l ácido tartárico)	Grado de alcohol probable (%)	Capacidad de extracción de polifenoles. (%)	Conductividad (mS/cm) ³	Grados Brix (°Brix)
Garnacha	3,48	4,8	19,07	20,5	1,2	31,3

4.3. - VINIFICACIONES

4.3.1. DISEÑO DE LAS VINIFICACIONES

En este Trabajo Fin de Grado se realizó el proceso de elaboración de vino tinto joven a escala planta piloto. Se desarrollaron dos procesos básicos de elaboración de vino tinto joven, con diferentes temperaturas de fermentación-maceración (25°C y 18°C), produciendo vino a partir de uvas tratadas por PEAV (3.3 kV/cm, 6 pulsos de 50 microsegundos, 5.4 kJ/kg) y uvas no tratadas para cada temperatura, para estudiar el



potencial de los PEAV en la reducción de la temperatura de maceración y su influencia en los parámetros de calidad del vino tinto.

Con objeto de estudiar el potencial de los PEAV en la reducción de los tiempos de maceración, los hollejos se retiraron del mosto cuando durante dos días consecutivos el valor del Índice de Polifenoles Totales (IPT) permaneció constante, es decir, cuando este alcanzó el máximo valor, que se produjo el día 4 en el caso del vino macerado a 25°C y el día 5 en el caso del vino macerado a 18°C. Con objeto de comparar estos resultados con un proceso tradicional de vinificación, se mantuvieron los hollejos en contacto con el vino durante toda la fase de maceración/fermentación tanto a 25 como a 18°C.

4.3.2. PROCESO DE VINIFICACIÓN A ESCALA PLANTA PILOTO.

La uva fue vendimiada manualmente e inmediatamente transportada a la Planta Piloto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos de la Universidad de Zaragoza, donde se procedió a su utilización para la elaboración del vino tinto joven de forma inmediata a su recepción. Se obtuvieron muestras representativas de la uva utilizada para realizar los análisis iniciales de las características de la materia prima.

Previamente a la vinificación, la uva se despalilló sin estrujar en una despalilladora/estrujadora (Modelo Cantinetta, Zambelli Enotech, Vanzo Nuovo, Italia). A continuación, la uva fue impulsada con una bomba peristáltica a la cámara de tratamiento de PEAV a través de un tubo de 3 cm de diámetro interno reforzado con espiral de acero (Mèlett Plastics, Bristol, Inglaterra), utilizando una velocidad de flujo de 1500 kg/h. Esta bomba de impulsión permite obtener un flujo homogéneo y constante sin incorporar burbujas de aire al producto. Para que los resultados fueran comparables, en todas las ocasiones, la uva que se utilizó para realizar las vinificaciones control pasó por el mismo circuito que la uva tratada por PEAV.

Tras la aplicación de los tratamientos, la uva se distribuyó en los correspondientes depósitos de 80 L de capacidad (Enomundi, María de Huerva, España). En todos los casos, al comienzo del proceso de maceración-fermentación se añadieron 30 mg/kg de metabisulfito potásico (Panreac, Castellar del Vallès, España) y un cultivo iniciador comercial de levaduras, *Saccharomyces cerevisiae* (Lalvin, Ontario,



Canadá), utilizando la cantidad recomendada por el fabricante. Durante toda la fermentación, los depósitos se mantuvieron en una cámara atemperada a $25\pm 1^\circ\text{C}$ y a $18\pm 1^\circ\text{C}$. Con objeto de monitorizar el desarrollo de la fermentación alcohólica, se tomaron diariamente medidas de la densidad del mosto (Densímetro calibrado a 20°C , Verexa, Barcelona, España). Durante toda la fase de maceración, se realizó un remonte diario para favorecer la extracción de los compuestos fenólicos.

4.4. - ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICO.

En la Tabla 4.2 se detallan los análisis realizados a las uvas, mostos y vinos durante el desarrollo de este Trabajo Fin de Grado.

Tabla 4.2. Análisis fisicoquímicos realizados a la uva, mostos y vinos en función de la fase de procesado.

Análisis de las uvas	<p>pH Acidez Grados Brix Grado de alcohol probable Capacidad de extracción de polifenoles Conductividad</p>
Seguimiento durante la fermentación y maceración del vino tinto.	<p>Polifenoles Índice cromático Densidad</p>
Análisis realizados en el vino tinto joven.	<p>Polifenoles Índice cromático pH Acidez total Acidez volátil Azúcares reductores Grado alcohólico Índice de Folin Antocianos Taninos</p>



4.4.1. GRADOS BRIX Y GRADO ALCOHÓLICO PROBABLE

Siguiendo el protocolo propuesto por la Organización Internacional de la Viña y el Vino (OIV) (45), los °Brix de los mostos (cantidad de sólidos solubles expresada en g/100mL), se determinaron mediante un refractómetro calibrado a una temperatura de 20°C (Digital refractometer PR-101 Palette, Atago, Tokio, Japón) utilizando agua destilada como blanco. A partir de los valores obtenidos, se calculó el grado alcohólico probable mediante una tabla de conversión (ICT, Lardero, España).

4.4.2. DENSIDAD

La densidad de los mostos y vinos (g/L) se estableció utilizando un densímetro calibrado a 20°C (Verexa), siguiendo la metodología propuesta por la OIV (45).

4.4.3. DETERMINACIONES ESPECTROFOTOMÉTRICAS.

Para la realización de las determinaciones espectrofotométricas se procedió en primer lugar a la toma de muestras en tubos Falcon, y posterior centrifugación (8640 g, 90 segundos) en tubos Eppendorf de 1 mL de capacidad (Minispin®plus, Eppendorf, Hamburgo, Alemania) para eliminar los sólidos en suspensión y el CO₂ disuelto que pudiera estar presente. Tras centrifugar, las medidas espectrofotométricas se realizaron en un espectrofotómetro Unicam UV500 (Unicam, Cambridge, Inglaterra), utilizando cubetas de cuarzo para las medidas en espectro UV (Hellma, Müllheim, Alemania) o de plástico para las medidas en espectro visible (Sarstedt, Nümbrecht, Alemania) de 1 mm y 10 mm de paso óptico respectivamente.

4.4.3.1. Intensidad de color

La intensidad de color (I) viene dada por la suma de las absorbancias medidas a las longitudes de onda de 420, 520 y 620 nm. Los valores obtenidos para cada absorbancia (A₄₂₀, A₅₂₀ y A₆₂₀), se expresan en UA y con 3 cifras decimales.

Convencionalmente, el concepto de intensidad de color (I) viene definido por la fórmula de la Ecuación 4.1.

$$I = A_{420} + A_{520} + A_{620} \quad \text{Ecuación 4.1}$$



4.4.3.2. Antocianos totales

Utilizamos un método basado en la propiedad de los antocianos de dar una combinación incolora con el ion bisulfito; admitiendo que los otros constituyentes del vino no intervienen y que la variación del color, después de la adición de un gran exceso de bisulfito, es proporcional al contenido en antocianos.

En primer lugar se prepara una disolución con la composición de 1 mL de vino, 1 mL de disolución de HCl concentrado al 1% en etanol, 20 mL de disolución al 2% de HCl concentrado en agua. En dos tubos de ensayo se vierten 10 mL de la disolución anterior y a uno de los tubos se le añaden 4 mL de agua destilada; al otro tubo se le añaden 4 mL de disolución de bisulfito de sodio al 15%.

La decoloración es prácticamente instantánea; sin embargo se mide la absorbancia después de 20 minutos. Las medidas se realizan con cubetas de 1 cm. de paso óptico, a 520 nm, frente a agua destilada, por triplicado. La diferencia de las densidades ópticas del tubo decolorado y del tubo sin decolorar se multiplica por el factor 875 que es el coeficiente de extinción molar de la malvidina corregido para dar directamente el resultado en mg/L (Ecuación 4.2).

$$\text{Antocianos totales (mg/L)} = (A_1 - A_2) \times 875 \quad \text{Ecuación 4.2}$$

4.4.3.3. Polifenoles

Los polifenoles están formados por una o más moléculas de fenol y contribuyen de forma notable en las características organolépticas del vino (color, astringencia, etc.).

4.4.3.3.1. Índice de Folin

El índice de Folin-Ciocalteu (48) se basa en la oxidación del conjunto de compuestos polifenólicos del vino por el reactivo Folin-Ciocalteu (mezcla de ácido fosfotúngstico y fosfomolibdico), dando una coloración azul directamente proporcional al contenido de polifenoles y medible a 750 nm. Para obtener el valor del índice, este valor de absorbancia (A_{750}) se multiplica por un factor de corrección, que en el caso del vino tinto posee un valor de 100:

$$\text{IFC} = A_{750} \times 100 \quad \text{Ecuación 4.3}$$



4.4.3.3.2. Índice de Polifenoles Totales (IPT)

Este índice se basa en la lectura de la absorbancia a 280 nm del mosto o del vino. De forma previa a la lectura, el vino se diluyó 100 veces con agua destilada, utilizando una cubeta de cuarzo de 1 cm de paso óptico (4). El valor IPT se obtiene multiplicando la absorbancia obtenida (A_{280}) por el factor de dilución (f), tal como se indica en la Ecuación 4.4.

$$\text{IPT} = A_{280} \times f \quad \text{Ecuación 4.4}$$

4.4.3.4. Taninos totales.

Los taninos totales se determinaron espectrofotométricamente (4). Para realizar el análisis, en dos tubos de ensayo se adicionaron 2 ml de vino diluido 1:50 con agua destilada, 1 mL de agua destilada y 6 mL de ácido clorhídrico 12 N. Los tubos se protegieron de la luz envolviéndolos en papel de plata y uno de ellos se mantuvo al baño María durante 30 minutos. El otro tubo se mantuvo a temperatura ambiente. Pasados los 30 minutos, se sacó el tubo del baño María y se enfrió rápidamente bajo agua del grifo. Posteriormente a ambos tubos se les añadió 1 mL de etanol y se agitaron. Se leyó la absorbancia a 550 nm en cubeta de 1 cm de paso óptico tras realizar un blanco con agua destilada. Para calcular la concentración de taninos totales expresados en g/L de cianidina se empleó la Ecuación 4.5.

$$\text{Taninos totales} = (A_1 - A_2) \times 19.33 \quad \text{Ecuación 4.5}$$

donde A_1 y A_2 son las absorbancias de los tubos mantenidos al baño María y a temperatura ambiente. El coeficiente 19.33 corresponde al coeficiente de extinción molar de la cianidina corregido para dar directamente el resultado en g/L.

4.4.4. pH

El valor de pH de los mostos y vinos se determinó según las indicaciones de la OIV (45), mediante medida directa utilizando un pH-metro (modelo Basic 20+, Crison Instruments).

4.4.5. ACIDEZ TOTAL

La acidez total o titulable se obtuvo por valoración volumétrica con hidróxido sódico 0,1 N (45), en presencia de azul de bromotimol como indicador del punto final



de la valoración ácido-base, expresándose los resultados en g/L de ácido tartárico.

4.4.6. ACIDEZ VOLÁTIL.

La acidez volátil se determinó mediante el método propuesto por García-Tena (46), basado en la separación diferencial de los ácidos volátiles del vino durante su ebullición mediante arrastre con vapor de agua. Estos se condensan posteriormente en un serpentín y se valoran con hidróxido sódico 0,02 M en presencia de fenoftaleina como indicador. Para realizar la determinación, se parte de 11 mL de vino, se desechan los 5,1 mL eluidos inicialmente y se valoran únicamente los 3,2 mL siguientes. Para determinar la acidez volátil de las muestras, se utiliza la Ecuación 4.6.

$$g/l = V \times 0,366 \qquad \text{Ecuación 4.6}$$

donde g/L son los gramos de ácido acético por litro de vino; V es el volumen de hidróxido sódico 0,02 M utilizado en la valoración; 0,366 es un factor de corrección. Este factor tiene en cuenta las interferencias en la medida causadas por el SO₂ y el ácido láctico presente en el vino.

4.4.7. AZÚCARES REDUCTORES

Los azúcares predominantes en la uva de las diferentes variedades de vid (*Vitis vinifera*) y por consiguiente del vino y derivados son la glucosa y la fructosa. También se puede encontrar en el vino otros azúcares, pero de forma minoritaria como pentosas (arabinosa, xilosa y ribosa), galactosa, sacarosa, etc. La determinación de los azúcares reductores tiene por objeto conocer la concentración de azúcar en la uva, mosto y vino para prever mediante el índice de maduración (azúcar/acidez total) el tiempo óptimo de vendimia, seguir la fermentación alcohólica, el control del tiraje y la clasificación de los vinos.

El método utilizado es el método Rebelein (48), que se basa en las propiedades reductoras de la glucosa y la fructosa sobre las sales cúpricas. Estos azúcares son oxidados a la temperatura de ebullición por un exceso de solución alcalina de Cu²⁺ que contiene tartrato para mantener el metal en solución. El Cu²⁺ es reducido a Cu⁺ y el Cu²⁺ en exceso se puede determinar por yodometría después de adicionar exceso de KI y acidular.



En este método también se realiza la hidrólisis de la posible sacarosa presente en la muestra en glucosa y fructosa antes de las reacciones redox.

Los reactivos utilizados para la realización de este método son los componentes del Kit de Rebelein: solución cúprica 0,168 mol/L, solución alcalina (potasio sodio tartrato) 0,886 mol/L, gránulos de piedra Pómez, solución de yoduro de potasio 30% p/v, solución de ácido sulfúrico 16% v/v, solución de almidón 2% y tiosulfato de sodio 0,0551 mol/L (0,0551N).

4.4.8. GRADO ALCOHÓLICO ADQUIRIDO

El grado alcohólico volumétrico adquirido es el número de litros de etanol y de sus homólogos (metanol, alcoholes superiores, etc) contenidos en 100 L de vino, medidos ambos volúmenes a la temperatura de 20 °C.

Para su determinación se realizó una destilación simple del líquido neutralizado, y medida de la densidad del destilado por aerometría (45).

4.5. - ANALISIS SENSORIAL

En este Trabajo Fin de Grado se realizó un análisis sensorial del vino procedente de uvas tratadas por PEAV y uvas no tratadas, una vez terminada la maceración y fermentación, tras un período de tres meses de almacenamiento en frío ($4 \pm 1^\circ\text{C}$).

El análisis sensorial consistió en un test hedónico para clasificar por orden de preferencia las muestras. El total de muestras objeto del análisis fueron 4, nombrando cada muestra aleatoriamente con un código de tres cifras. Las muestras seleccionadas fueron las siguientes:

- Vino elaborado a partir de uvas tratadas por PEAV, cuya fermentación-maceración tuvo lugar a 25°C y el tiempo de maceración fue corto. (Número 137)
- Vino elaborado a partir de uvas no tratadas, cuya fermentación-maceración tuvo lugar a 25°C y el tiempo de maceración fue largo. (Número 610)
- Vino elaborado a partir de uvas tratadas por PEAV, cuya fermentación-maceración tuvo lugar a 18°C y el tiempo de maceración fue corto. (Número 998)



- Vino elaborado a partir de uvas no tratadas, cuya fermentación-maceración tuvo lugar a 18°C y el tiempo de maceración fue largo. (Número 402)

La hoja utilizada para la realización del test hedónico con las cuatro muestras seleccionadas se muestra en el Anexo I.

4.6. - ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los análisis estadísticos, así como los ajustes de los modelos, fueron llevados a cabo con el programa informático Excel XP (Microsoft Corporation, Seattle, Washington DF, EE.UU.).



5 – RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. - EVOLUCIÓN DE LA DENSIDAD DEL MOSTO DURANTE LA FERMENTACIÓN

En la Figura 5.1 y 5.2 se muestra la evolución diaria de la densidad del mosto durante la fermentación en dos procesos de elaboración de vino tinto joven, uno de ellos utilizando una temperatura de fermentación-maceración de 25°C (Figura 5.1) y otro utilizando una temperatura de fermentación-maceración de 18°C (Figura 5.2), elaborado a partir de uvas tratadas por PEAV y uvas no tratadas para cada temperatura y con distintos tiempos de maceración (maceración estándar y maceración corta de 4 días para la vinificación a 25°C y de 5 días para la vinificación a 18°C).

Como ya se ha comentado anteriormente, la densidad tras el despalillado y estrujado suele oscilar en torno a 1100 g/L, y una vez arranca la fermentación disminuye debido a la desaparición del azúcar y a la consecuente aparición de etanol. Cuando este valor se mantiene constante (en torno a 990 g/L), la fermentación se da por concluida.

En ambas figuras (Figura 5.1 y Figura 5.2) se observa que la evolución de la densidad de los mostos provenientes de uva tratada con PEAV y uva no tratada es similar. Estos resultados coinciden con investigaciones anteriores (49), en las cuales fue determinado que la electroporación de las pieles de las uvas causada por el tratamiento de PEAV no afectó a la velocidad de transformación de los azúcares en etanol por las levaduras.

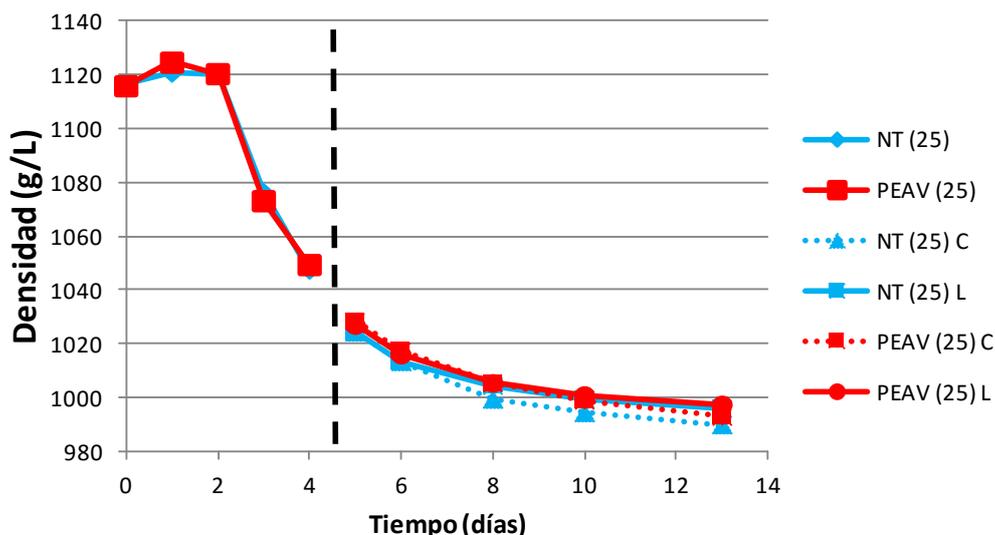


Figura 5.1. Evolución de la densidad del mosto fermentado-macerado a 25 °C.

NT (25): Vino tinto joven elaborado a 25°C y no tratado; **PEAV (25):** Vino tinto joven elaborado a 25°C y tratado; **NT (25) C:** Vino tinto joven no tratado, elaborado a 25°C y maceración corta de 4 días; **PEAV (25) C:** Vino tinto joven tratado, elaborado a 25°C y maceración corta de 4 días ; **NT (25) L:** Vino tinto joven no tratado, elaborado a 25°C y maceración estándar; **PEAV (25) L:** Vino tinto joven tratado, elaborado a 25°C y maceración estándar

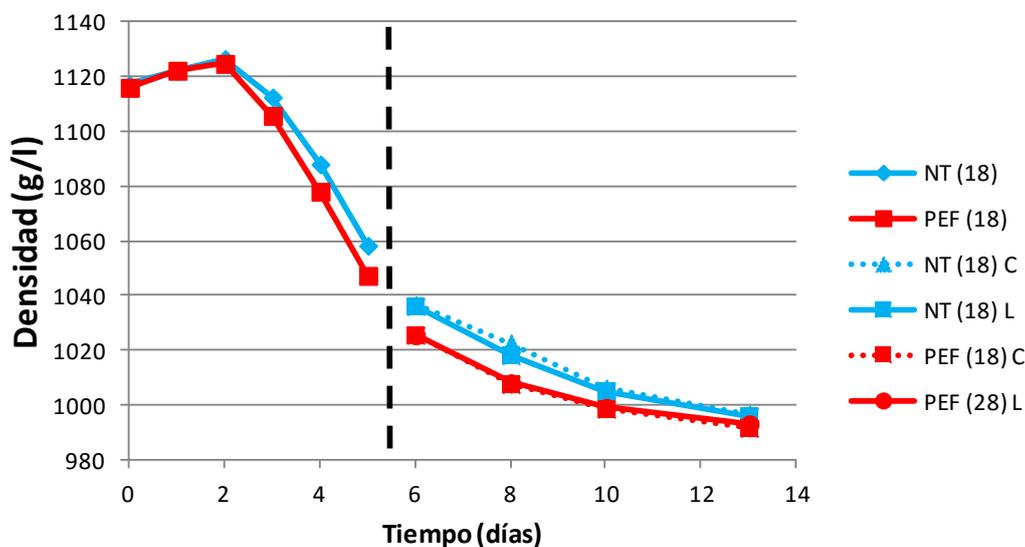


Figura 5.2. Evolución de la densidad del mosto fermentado-macerado a 18 °C.

NT (18): Vino tinto joven elaborado a 18°C y no tratado; **PEAV (18):** Vino tinto joven elaborado a 18°C y tratado; **NT (18) C:** Vino tinto joven no tratado, elaborado a 18°C y maceración corta de 5 días; **PEAV (18) C:** Vino tinto joven tratado, elaborado a 18°C y maceración corta de 5 días ; **NT (18) L:** Vino tinto joven no tratado, elaborado a 18°C y maceración estándar; **PEAV (18) L:** Vino tinto joven tratado, elaborado a 18°C y maceración estándar.



5.2. - EVOLUCIÓN DEL ÍNDICE DE POLIFENOLES TOTALES E ÍNDICE CROMÁTICO DURANTE LA MACERACION-FERMENTACION DEL VINO TINTO JOVEN

5.2.1 EVOLUCIÓN EN EL ÍNDICE DE POLIFENOLES TOTALES (IPT).

En la Figura 5.3 se compara la evolución en el IPT entre el vino elaborado a partir de uvas tratadas con PEAV y a partir de uvas no tratadas, en un proceso de elaboración tradicional de vino tinto joven (A) y en un proceso de elaboración de vino tinto joven en el cual el mosto estuvo en contacto con los hollejos tan solo durante los primeros 4 días, momento en el que se retiró el mosto del contacto con los hollejos (B). Para ambos casos la temperatura de fermentación-maceración utilizada fue de 25°C.

Por otro lado, en la Figura 5.4 se compara la evolución en el IPT entre el vino elaborado a partir de uvas tratadas con PEAV y a partir de uvas no tratadas, en un proceso de elaboración tradicional de vino tinto joven (A) y en un proceso de elaboración de vino tinto joven en el cual el mosto estuvo en contacto con los hollejos tan solo durante los primeros 5 días, momento en el que se retiró el mosto del contacto con los hollejos (B). Para ambos casos la temperatura de fermentación-maceración utilizada fue de 18°C.

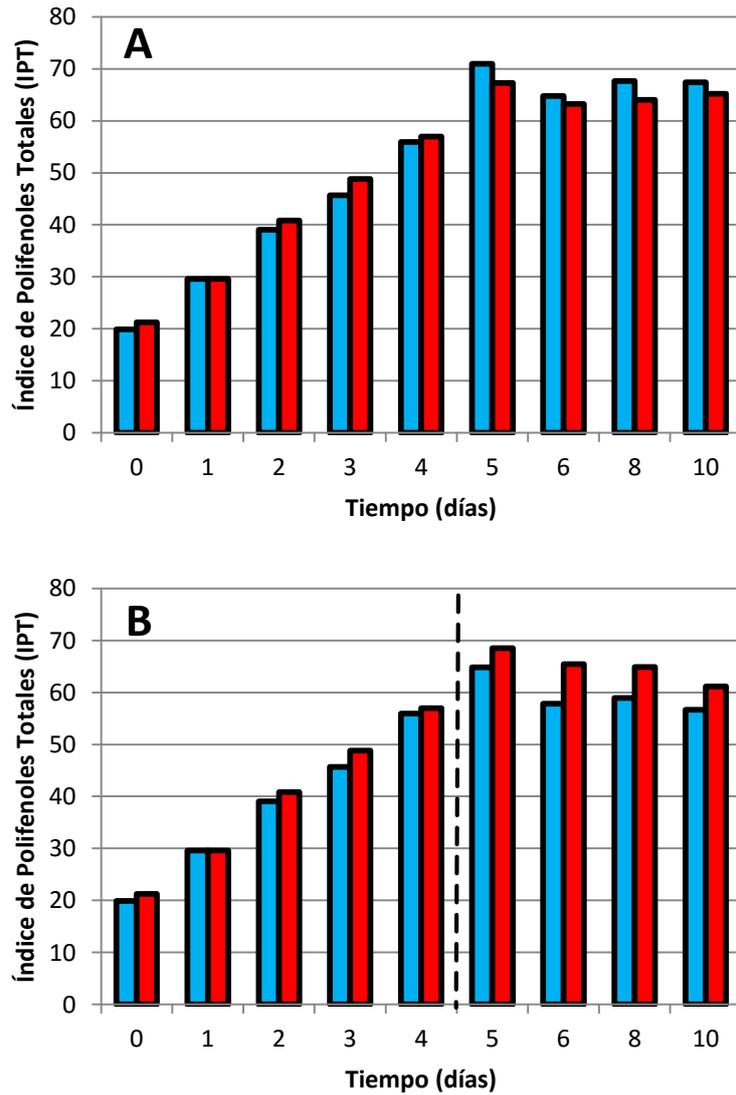


Figura 5.3 Evolución en el Índice de Polifenoles Totales (IPT) durante un proceso de elaboración tradicional del vino tinto (A) y un proceso de elaboración del vino tinto con maceración corta de 4 días (B), a partir de uvas tratadas con PEAV (barras rojas) y a partir de uvas no tratadas (barras azules). Maceración a 25°C.

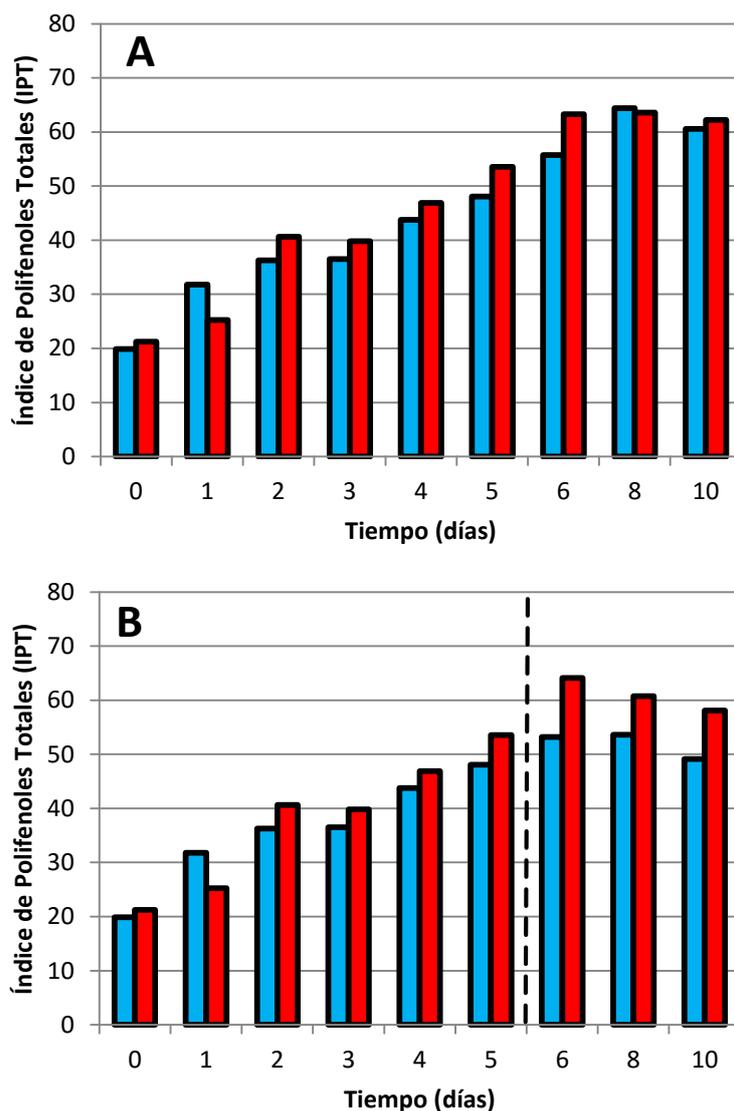


Figura 5.4 Evolución en el Índice de Polifenoles Totales (IPT) durante un proceso de elaboración tradicional del vino tinto (A) y un proceso de elaboración del vino tinto con maceración corta de 5 días (B), a partir de uvas tratadas con PEAV (barras rojas) y a partir de uvas no tratadas (barras azules). Maceración a 18°C.

Cuando la maceración se realizó a 25°C no se observan diferencias significativas en el IPT en ningún momento cuando los hollejos se mantuvieron en contacto con el mosto durante toda la maceración-fermentación (Figura 5.3 A). Por otro lado, en el vino tinto realizado mediante una maceración corta en la cual los hollejos se retiraron a los 4 días de maceración, se observa un pequeño aumento del IPT en el vino obtenido a partir de uvas tratadas por PEAV (Figura 5.3 B). Esta diferencia se mantuvo desde la retirada de los hollejos al cuarto día de maceración, hasta el final de la fermentación. El valor de



IPT en el quinto día de maceración aumentó ligeramente respecto al día anterior, a pesar de ya no estar en contacto con los hollejos. Esto puede ser debido a que la muestra del día 4 se tomó después del prensado de los hollejos. Tras el prensado, el vino obtenido se mezcló con el resto del vino ya sin los hollejos, y de esta mezcla se tomó la muestra del quinto día de maceración. El prensado pudo favorecer la extracción de polifenoles de los hollejos, haciendo que el IPT aumentase del día 4 al día 5 a pesar de la ausencia de éstos en el depósito. El valor de IPT al final de la fermentación (día 10) del vino obtenido a partir de uvas tratadas por PEAV fue similar al valor de IPT encontrado en el vino de maceración tradicional, lo que indica que una maceración corta combinada con un tratamiento de PEAV de las uvas, permitiría obtener vino tinto de similar contenido fenólico que en un procedimiento tradicional de vinificación con una maceración de 10 días.

En la Figura 5.4, en la que se muestra la evolución en el IPT del vino elaborado a partir de un proceso de fermentación-maceración a 18°C, se observa que en el primer caso, Figura 5.4 (A), durante los primeros días de fermentación-maceración, los valores en el IPT son mayores para el vino elaborado a partir de uvas tratadas con PEAV en comparación con los valores observados en el vino elaborado a partir de uvas no tratadas. Sin embargo, estas diferencias se reducen conforme avanzan los días que dura la fermentación-maceración. Esto puede ser debido a que, conforme avanza la fermentación, el mayor contenido alcohólico del vino favorece la extracción de polifenoles, tanto de los hollejos de las uvas tratadas por PEAV como de las uvas no tratadas. De este modo, el valor final de IPT se iguala tras varios días de contacto entre los hollejos y el mosto a concentraciones alcohólicas crecientes. En el caso de la maceración a 18°C, los hollejos se retiraron de un lote a los 5 días, lo que se consideró como maceración corta (Figura 5.4 B). De manera similar a lo ocurrido a 25°C (Figura 5.3), el IPT aumentó tras la retirada de los hollejos, debido al prensado del vino. Este aumento fue más acusado en el lote proveniente de uvas tratadas por PEAV. Así, se observan claras diferencias entre el IPT del vino obtenido a partir de uvas tratadas por PEAV, que fue mayor, respecto al IPT del vino obtenido de uvas no tratadas, cuando la maceración fue de tan solo 5 días. El IPT del vino obtenido a partir de uvas tratadas por PEAV tras una maceración corta a 18°C al final de la fermentación fue similar al IPT obtenido del vino obtenido de uvas sin tratar tras una maceración



tradicional a 18°C. Además, el IPT del vino obtenido a partir de uvas tratadas por PEAV tras una maceración corta a 18°C al final de la fermentación presentó niveles similares al IPT del vino del vino obtenido de uvas sin tratar tras una maceración tradicional a 25°C. Por lo tanto, un tratamiento de PEAV permitiría reducir tanto el tiempo de maceración a la mitad, como la temperatura de maceración-fermentación de 25 a 18°C.

Estudios previos han mostrado la influencia de un tratamiento de PEAV en la extracción de polifenoles durante el proceso de vinificación para vino tinto (43), observaron que tratamientos de PEAV de 50 pulsos entre 2 y 7 kV/cm permitían obtener vinos con mayor contenido en polifenoles durante una semana de maceración a 25°C en uvas de la variedad Cabernet-Sauvignon. Estos resultados, aunque en una variedad diferente a la utilizada en el presente estudio, ya apuntaban a la posibilidad de reducir el tiempo de maceración durante el proceso de vinificación.

El efecto de los PEAV en la extracción de polifenoles de las semillas de la uva ha sido investigado (50), se determinó que la permeabilización de las células de la semilla de la uva requiere la aplicación de unas condiciones de tratamientos mucho más altas (8–20 kV/cm, 0–20 ms) que las necesarias para conseguir la electroporación de las células de los hollejos de la uva. De acuerdo con estos resultados, la intensidad usada en este estudio (3,3 kV/cm, 6 pulsos de 50 μ s) para dar el tratamiento PEAV a las uvas no debería afectar a la extracción de polifenoles de las semillas de la uva

5.2.2 EVOLUCIÓN EN EL ÍNDICE CROMÁTICO (IC)

De manera similar al estudio realizado para el IPT, se estudió la evolución del color del vino tinto fermentado a 25 y 18°C a diferentes tiempos de maceración, en vinos obtenidos a partir de uvas tratadas por PEAV y uvas no tratadas.

En el vino macerado a 25°C, cuando los hollejos se dejaron en contacto con el mosto durante toda la maceración no se observaron diferencias significativas en el IC (Figura 5.5 A). Sin embargo, en aquellos depósitos en los que se realizó una maceración corta (4 días), se observa un mayor IC al final de la fermentación en el vino obtenido a partir de uvas tratadas por PEAV.

Por otro lado, en el vino macerado a 18°C se observan mayores diferencias en el IC, tanto en los depósitos en los cuales se realizó una maceración tradicional, como en aquellos en los que se retiraron los hollejos a los 5 días de maceración. En el caso del

vino obtenido mediante una maceración corta, se acentúa la diferencia entre el IC del vino obtenido a partir de uvas tratadas por PEAV en comparación con el vino obtenido a partir de uvas no tratadas.

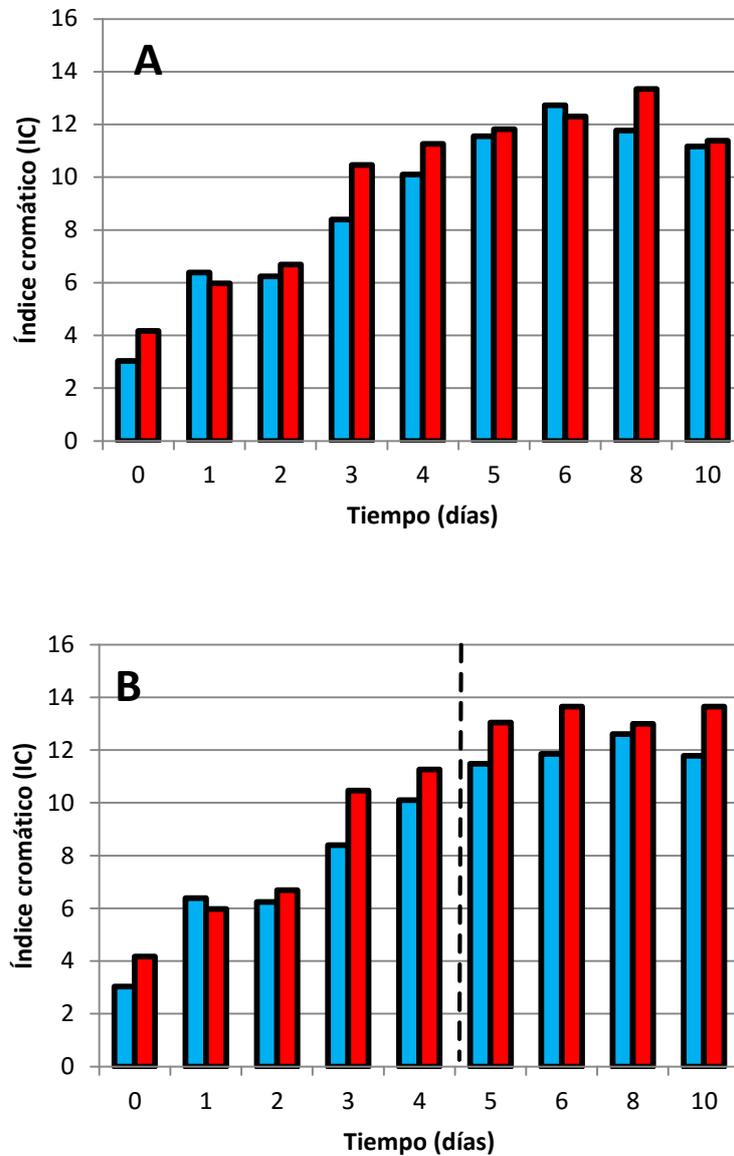


Figura 5.5 Evolución en el Índice cromático (IC) durante un proceso de elaboración tradicional del vino tinto (A) y un proceso de elaboración del vino tinto con maceración corta de 4 días (B), a partir de uvas tratadas con PEAV (barras rojas) y a partir de uvas no tratadas (barras azules). Maceración a 25°C.

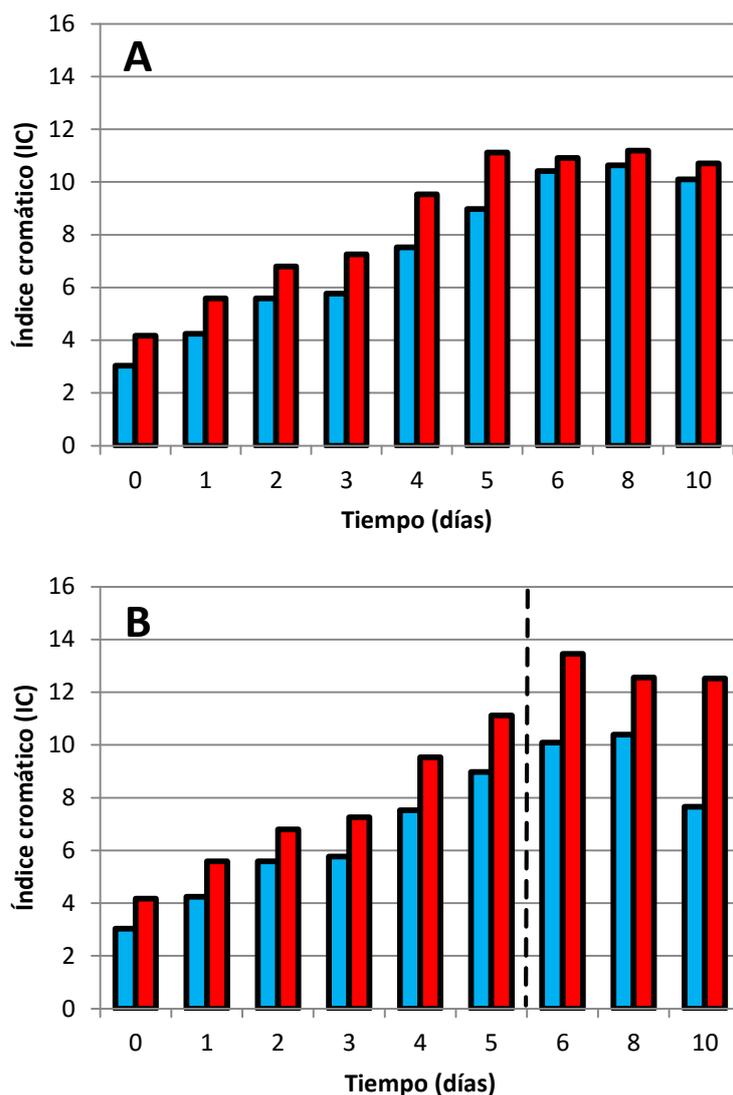


Figura 5.6 Evolución en el Índice cromático (IC) durante un proceso de elaboración tradicional del vino tinto (A) y un proceso de elaboración del vino tinto con maceración corta de 5 días (B), a partir de uvas tratadas con PEAV (barras rojas) y a partir de uvas no tratadas (barras azules). Maceración a 18°C.

Estos resultados son similares a los que se han observado al estudiar la evolución del IPT durante el proceso de maceración-fermentación del vino tinto tanto a 25 como a 18°C. Hay que recordar que los polifenoles del vino son unos de los principales responsables del color del vino tinto, además de los antocianos. Así pues, la evolución del color en el vino tinto va en estrecha relación con la extracción de polifenoles durante el proceso de vinificación.

En estudios anteriores (43) ya se observaron valores mayores en el IC en los vinos obtenidos a partir de uvas de la variedad Cabernet-Sauvignon tratadas por PEAV a



5 kV/cm incluso tras 3 meses de almacenamiento en botella. En dicho estudio se observa un descenso en la intensidad de color que se atribuye a los fenómenos de degradación de las moléculas responsables del color en el vino tinto. Este efecto fue observado a partir del noveno día de maceración. En los datos obtenidos en el presente estudio se observa también un ligero descenso en el valor de IC (Figura 5.6 B).

Estos resultados están de acuerdo con estudios anteriores de aplicación de PEAV en el proceso de vinificación a escala bodega (49), en el que se utilizaron la misma variedad de uva (Garnacha) que para la realización de este Trabajo Fin de Grado y se realizó un proceso de vinificación tradicional, en el que se produjo vino a partir de uvas tratadas con PEAV y no tratadas, con un tiempo de maceración estándar de un total de 14 días en ambos casos y un proceso de vinificación con tiempo de maceración corto, de 7 días, a partir de uvas tratadas con esta tecnología. Se observó que durante los primeros días el vino elaborado a partir de uvas tratadas con PEAV mostraba valores más elevados en el IC que el vino control, hasta alcanzar en ambos casos el máximo valor al quinto día, momento a partir del cual el efecto positivo de la tecnología apreciado en los primeros días disminuía. Además, se apreció, que los resultados determinados en los valores del IC para el vino elaborado a partir de uvas tratadas con PEAV y tiempo de maceración corto de 7 días eran similares a los valores del IC para los vinos obtenidos mediante maceraciones más largas de 14 días, independientemente de haber recibido tratamiento de PEAV o no.

5.3. - PARÁMETROS DE CALIDAD DEL VINO TINTO JOVEN PRODUCIDO A ESCALA PLANTA PILOTO DESPUÉS DE 3 MESES DE ALMACENAMIENTO EN BOTELLA

En la Tabla 5.1 se muestran los parámetros de calidad determinados para el vino tinto joven elaborado a partir de uvas tratadas con PEAV y vino tinto joven elaborado a partir de uvas no tratadas, elaborado tanto con el método tradicional a 25°C y 18°C de maceración estándar, como con maceraciones cortas de 4 y 5 días, respectivamente.

En vista de los resultados obtenidos para el vino control y tratado, la aplicación del tratamiento de PEAV a las uvas antes de la vinificación no afectó significativamente a los parámetros fisicoquímicos del vino, como son el contenido de etanol, pH, acidez volátil y acidez total del vino final.



Respecto a los parámetros de calidad que fueron determinados, como la concentración de taninos, IPT, IC y concentración de antocianos, estos dos últimos parámetros presentaron diferencias significativas entre los vinos elaborados a escala planta piloto. En el caso de la concentración de antocianos, se observan valores muy superiores en los vinos tratados y sometidos a maceraciones cortas respecto al resto de vinos producidos sometidos a maceración estándar, para las mismas condiciones de temperatura de vinificación (25 o 18°C). Por un lado, para los cuatro tipos de vinos obtenidos a una temperatura de fermentación-maceración de 25°C, el vino tratado sometido a una maceración corta presenta un valor en la concentración de antocianos (416,9 mg/l) un 14,6 % mayor que el vino control obtenido para las mismas condiciones de maceración, un 35 % mayor para el vino tratado sometido a maceración estándar y un 27 % mayor para el vino control sometido a maceración estándar. Por otro lado, para los cuatro tipos de vinos obtenidos a una temperatura de fermentación-maceración de 18°C, observamos que estas diferencias son incluso mayores, pues el vino tratado sometido a maceración corta presenta un valor en la concentración de antocianos (544,2 mg/l) un 49,5 % mayor que el vino control obtenido para las mismas condiciones de maceración, un 74 % para el vino tratado sometido a maceración estándar y un 45,4 % para el vino control sometido a maceración estándar.

En el caso del IC, las diferencias fueron menos acusadas. En los vinos macerados a 25°C se observa un ligero aumento en el IC para el vino tratado por pulsos y sometido a maceración corta, si bien estas diferencias son muy pequeñas. Por otro lado, en los vinos macerados a 18°C, tan solo el vino control sometido a maceración corta presenta un nivel de IC más bajo que el resto de vinos macerados a 18°C. Este resultado concuerda con el obtenido durante el estudio del IC durante la maceración del vino, en el que el IC del vino control sometido a una maceración de 5 días a 18°C presentó niveles de IC menores al resto.



Tabla 5.1 Parámetros de calidad del vino tinto joven elaborado a escala planta piloto obtenido a 25 y 18°C, después de 3 meses de almacenamiento en botella.

	25°C				18°C			
	NT C	PEAV C	NT L	PEAV L	NT C	PEAV C	NT L	PEAV L
pH	3.26	3.24	3.31	3.24	3.22	3.05	3.09	3.19
Acidez total (g/L de ácido tartárico)	0.46	0.53	0.55	0.51	0.38	0.37	0.37	0.31
Acidez volátil (g/L de ácido acético)	0.20	0.3	0.28	0.31	0.38	0.35	0.37	0.38
Grado alcohólico (mL etanol/100 ml)	16.2	16.7	15.9	15.7	16.5	16.7	15.5	16.8
Azúcares reductores (g/L)	5.7	6,45	9,6	10,2	6.43	6.43	5.73	5.33
Antocianos (mg/L)	363.5	416.9	328.5	308.8	363.8	544.2	311.1	374.3
Taninos (g/L cianidina)	2.40	2.25	2.55	2.41	1.9	1.94	2.12	2.06
Polifenoles (Índice de Folin) (UA)	45.7	44.7	48.9	49.1	36.5	36.5	43.1	41.1
Polifenoles (IPT) (UA)	53.7	55.3	52.2	62.4	50.8	51.6	60.2	57.5
Índice cromático (UA)	13.1	14.7	13.2	13.1	9.89	11.8	11.7	11.1

NT C: Vino tinto joven no tratado y maceración corta; **PEAV C:** Vino tinto joven tratado y maceración corta; **NT L:** Vino tinto joven no tratado y maceración estándar; **PEAV L:** Vino tinto joven tratado y maceración estándar.

Los resultados comentados anteriormente están de acuerdo con estudios anteriores de aplicación de PEAV en el proceso de vinificación a escala bodega, con uvas de la variedad Garnacha, en el que no se apreciaban diferencias significativas en estos parámetros del vino final (grado alcohólico, pH, acidez volátil, acidez total) entre el vino elaborado por un proceso de vinificación tradicional de 14 días de fermentación-maceración a partir de uvas tratadas con PEAV, el vino elaborado por un proceso de vinificación tradicional de 14 días de fermentación-maceración a partir de uvas no tratadas y el vino elaborado a partir de uvas tratadas con PEAV y con un tiempo de maceración corto de 7 días (49).

En otras investigaciones anteriores, en los que se realizaron vinificaciones a escala de laboratorio o vinificaciones de 100 kg de uvas, también se determinó que la aplicación de un tratamiento de PEAV a las uvas antes de la vinificación no afectaba a estos parámetros de grado alcohólico, pH, acidez volátil, acidez total (2).



5.4. - EVALUACIÓN SENSORIAL

En la Figura 5.7 se muestran los resultados obtenidos tras la realización del test hedónico, con 21 catadores participantes. En ella se representa mediante un gráfico circular el porcentaje de personas participantes que han valorado cada muestra como la mejor de las cuatro de las que disponían para la realización de la cata.

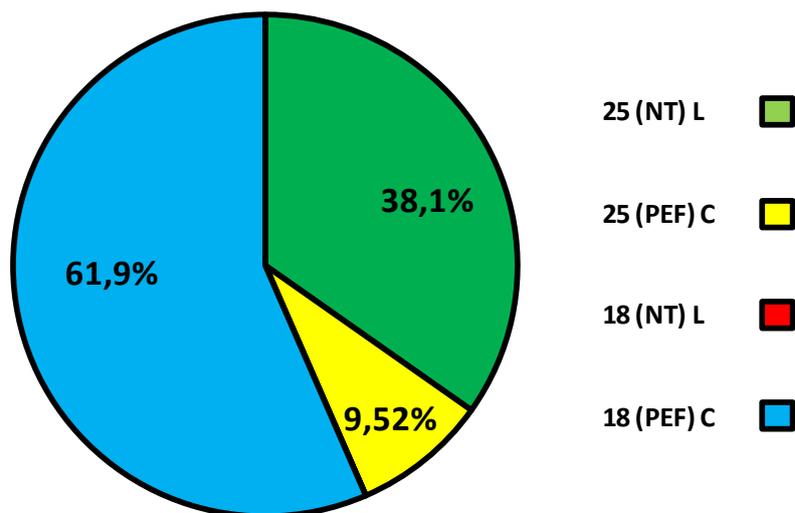


Figura 5.7 Porcentaje de preferencia de cada una de las cuatro muestras utilizadas para la realización de la cata, según los 21 participantes implicados en ella.

25 (NT) L: Vino tinto joven no tratado, sometido a maceración estándar y elaborado a 25°C; **25 (PEAV) C:** Vino tinto joven tratado, sometido a maceración corta de 4 días y elaborado a 25°C; **18 (NT) L:** Vino tinto joven no tratado sometido a maceración estándar y elaborado a 18°C; **18 (PEAV) C:** Vino tinto joven tratado, sometido a maceración corta de 5 días y elaborado a 18°C.

Puede observarse que hasta un 61,9 % de las personas participantes en la cata eligieron el vino elaborado a 18°C, a partir de uvas tratadas con PEAV, sometido a maceración corta. Esto puede ser debido a la gran concentración de antocianos presente en este vino respecto a las demás muestras. Es bien conocido que estos compuestos contribuyen en parte al color del vino tinto, pero también a otras características sensoriales fundamentales como el cuerpo, la estructura y el perfil olfatorio del vino.

Las personas participantes fueron preguntadas acerca de por qué hicieron esa elección y estas alegaron que el vino tenía una gran intensidad aromática y más cuerpo entre otras razones.



El segundo vino más preferido en el análisis es el vino elaborado a 25°C mediante un proceso tradicional de vinificación, a partir de uvas no tratadas, el cual dispone de hasta un 38,1% de personas participantes en la cata que lo eligieron como su preferido. Las personas participantes que eligieron este vino fueron preguntadas acerca del por qué hicieron esa elección, alguna de estas alegaron que en su opinión era un vino más suave y que tenía cierto dulzor que les atrajo para al fin elegir esa opción. Como se puede observar en la Tabla 5.1, el nivel de azúcares reductores aún presente en el vino elaborado a 25°C y maceración tradicional fue superior al resto de las muestras que se ofrecieron al panel de catadores, lo que podría explicar ese sabor dulce identificado por los catadores.

El tercer vino más elegido por los participantes como el mejor fue el elaborado a 25°C a partir de uvas tratadas con PEAV y maceración corta con un 9,52 % y el vino que menos gustó, pues nadie lo eligió como el mejor, fue el vino elaborado a 18°C a partir de uvas no tratadas y sometido a maceración estándar.

Como resultado de estos análisis sensoriales, es importante destacar que los catadores no detectaron ningún aroma o sabor extraño asociado al tratamiento de PEAV. En estudios anteriores tampoco se identificó ninguna característica sensorial extraña que pudiese atribuirse al tratamiento de PEAV (2).



6 - CONCLUSIONES

1. La aplicación de tratamientos de 6 pulsos de 50 μ s de anchura, a una intensidad de 3 kV/cm de intensidad de campo eléctrico y 5.4 kJ/kg de energía específica, a uvas de la variedad Garnacha, facilitó la extracción de compuestos fenólicos de los hollejos de la uva durante la fase de maceración-fermentación en la elaboración de vino tinto.
2. El tratamiento de PEAV de la uva, previo al proceso de vinificación, permitió reducir en más de 5 días el tiempo de maceración de los hollejos, obteniendo en los vinos de maceración más corta niveles de concentración de polifenoles similares a los valores observados para los vinos de maceración tradicional.
3. Igualmente, el tratamiento de PEAV en la uva, permitió reducir la temperatura de maceración de 25°C a 18°C, obteniendo en ambos casos niveles similares de polifenoles. Además, en la maceración a temperatura reducida, también se observó la posibilidad de reducción del tiempo de maceración.
4. Dado que el parámetro de calidad índice cromático (IC) depende en gran medida de la presencia de polifenoles, la evolución del color siguió una tendencia similar a la evolución del IPT.
5. Tras el almacenamiento de 3 meses en botella, no se observaron diferencias en los parámetros fisicoquímicos de los vinos obtenidos a partir de uvas tratadas por PEAV frente a los vinos obtenidos a partir de uvas no tratadas.
6. Tras el almacenamiento de 3 meses en botella, se observó una mayor concentración de antocianos en los vinos obtenidos a partir de uvas tratadas por PEAV y sometidos a maceración corta respecto al resto de vinos, a ambas temperaturas de maceración. Este factor tiene influencia en la intensidad del color, siendo de mayor intensidad en el vino tratado por PEAV que en el vino sin tratar obtenido tras maceración corta.
7. Tras un test de aceptación entre 21 catadores, el 61.9% de los encuestados prefirieron el vino obtenido de uvas tratadas por PEAV y maceración corta, frente al resto de muestras ofrecidas. La reducción de la temperatura de maceración permitió obtener vinos con mayor intensidad de aromas varietales, y el tratamiento de PEAV



permitió mantener la intensidad del color, concentración de polifenoles y antocianos, respecto al proceso tradicional.

8. La utilización de maceraciones cortas gracias a la aplicación de PEAV a la uva, podría suponer una gran ventaja a nivel industrial, al facilitar la rotación de depósitos de fermentación en las bodegas, mejorando el aprovechamiento del volumen útil de los depósitos.

CONCLUSIONS

1. The application of 6 pulses and 50 μ s of pulse width, at 3 kV/cm electric field strength and 5.4 kJ/kg specific energy, in Garnacha grapes, facilitated the extraction of phenolic compounds from the grape skins during the maceration-fermentation in the elaboration of red wine.

2. The PEF treatment of the grapes before winemaking allowed to reduce in more than 5 days the maceration time, obtaining wines with similar levels of polyphenols concentration to the observed values for traditional maceration times

3. Equally, the PEF treatment in the grape allowed to reduce the maceration temperature from 25°C to 18°C, obtaining in both cases similar levels of polyphenols. Moreover, in the maceration at reduced temperature, also was observed the possibility of reducing the maceration time.

4. Because the quality parameter Colour Index (CI) depends mainly on the polyphenols presence, the colour evolution presented a similar tendency to the Total Polyphenol Index (TPI) evolution.

5. After 3 months of storage in bottle, physiochemical differences were not observed between the wines obtained with PEF treated grapes respect to the wines obtained with no treated grapes.

6. After 3 months of storage in bottle, it was observed a higher anthocyanins concentration in the wines obtained with PEF treated grapes and short maceration in comparison to the rest of wines, for both maceration temperatures. This factor has influence in the colour intensity of wine treated with PEF, being more intense in wine treated by PEF than in the untreated wine obtained with short maceration.



7. After an acceptance test with 21 tasters, 61.9% preferred the wine obtained by PEF treated grapes and short maceration, respect to the rest of samples offered. The reduction of the maceration temperature allowed obtaining wines with more intensity of varietal aromas, and the PEF treatment allowed maintaining the colour intensity, polyphenols and anthocyanin concentrations, compared to the traditional process.
8. The use of short macerations due to the application of PEF treatments to the grapes could represent a big advantage for the industries, to facilitate the rotation of fermentation tanks in the wineries, improving the use of the full volume of the tanks.



7 - APORTACIONES EN MATERIA DE APRENDIZAJE

La realización de este Trabajo Fin de Grado me ha permitido conocer más profundamente una tecnología muy interesante en el sector de la industria alimentaria, como son los pulsos eléctricos de alto voltaje, así como familiarizarme con el uso de un equipo real de PEAV. Además, me ha permitido conocer el proceso de elaboración del vino tinto y las técnicas de análisis del vino más utilizadas, tanto para monitorizar el desarrollo del proceso de fermentación-maceración, como para caracterizar el vino finalmente producido.

También me ha permitido conocer no sólo los métodos experimentales, sino también aprender a representar los datos obtenidos gráficamente, aplicando en ellos los análisis estadísticos correspondientes, valorando los datos obtenidos e interpretándolos de forma crítica, para posteriormente exponerlos de forma clara y concisa. Además de interpretar los resultados propios, he aprendido a interpretar resultados pertenecientes a otros estudios, como base para desarrollar las conclusiones y contrastar datos con el estudio propio.

Aparte de los conocimientos adquiridos, que han sido anteriormente mencionados, la realización de este Trabajo Fin de Grado me ha permitido iniciarme en el mundo de la investigación científica y conocer su metodología y la importancia de realizar una organización exhaustiva de los experimentos, con el fin de obtener resultados más relevantes y correctos.



8 - BIBLIOGRAFÍA

- 1 - OIV (Organización Internacional de la Viña y el Vino), 2015. *Situación del sector vitivinícola mundial en 2015*. OIV: París.
- 2 - Puértolas Gracia E, 2009. Aplicación de los Pulsos Eléctricos de Alto Voltaje al Proceso de Vinificación. Tesis Doctoral. Facultad de Veterinaria. Universidad de Zaragoza.
- 3 - Ribéreau-Gayon P, Dubourdieu D, Donèche B, Lonvaud A, 2006. *Handbook of Enology. Volume 1. The microbiology of Wine and Vinification. 2nd Edition*. John Wiley & Sons: Chichester.
- 4 - Ribéreau-Gayon P, Glories Y, Maujean A, Dubourdieu D, 2006. *Handbook of Enology Volume 2. The Chemistry of Wine, Stabilization and Treatments. 2nd Edition*. John Wiley & Sons: Chichester.
- 5 - Hidalgo-Togores J, 2003. *Tratado de Enología. Tomo I*. Mundi-Prensa: Madrid.
- 6 - Fugelsang KC, 1989. Recent research on SO₂ (sulphur dioxide). *Wines and Vines*, August 1.
- 7 - Ough CS, Crowell EA, 1987. Use of Sulphur-Dioxide in Winemaking. *Journal of Food Science* 52, 386-389.
- 8 - Boulton RB, Singleton VL, Bisson LF, Kunkee RE, 1996. The role of sulphur dioxide in wine. En RB Boulton, VL Singleton, LF Bisson, RE Kunkee (Eds.), *Principles and practices of winemaking* (pp. 448-473). Chapman & Hall: Nueva York.
- 9 - Hidalgo-Togores J, 2003. *Tratado de Enología. Tomo II*. Mundi-Prensa: Madrid.
- 10 - Pinelo M, Arnous A, Meyer AS, 2006. Upgrading of grape skins: significance of plant cell-wall structural components and extraction techniques for phenol release. *Trends in Food Science and Technology* 17, 579-590.
- 11 - Bautista-Ortín AB, Fernández-Fernández JI, López-Roca JM, Gómez-Plaza E, 2007. The effects of enological practices in anthocyanins, phenolics compounds and wine colour and their dependence on grape characteristics. *Journal of Food Composition and Analysis* 20, 546-552.



- 12 - Gil-Muñoz R, Gómez-Plaza E, Martínez A, López-Roca JM**, 1999. Evolution of phenolic compounds during wine fermentation and post-fermentation. Influence of grape temperature. *Journal of Food Composition and Analysis* 12, 259-272.
- 13 - Zamora F**, 2003. *Elaboración y crianza del vino tinto: Aspectos científicos y prácticos*. AMV: Madrid.
- 14 - Ruiz-Hernández M**, 2004. *Tratado de Vinificación en tinto*. Mundi-Prensa. Madrid.
- 15 - Edwards CG, Beelman RB**, 1989. Inducing malolactic fermentation in wines. *Biotechnology Advances* 7, 333-360.
- 16 - Boulet JC, Escudier JL**, 2000. Clarificación de los vinos por procedimientos físicos. En C Flanzky (Ed.), *Enología: Fundamentos Científicos Tecnológicos* (pp. 470-480). AMV: Madrid.
- 17 - Boulton RB**, 2001. The copigmentation of anthocyanins and its role in the colour of red wine: A critical review. *American Journal of Enology and Viticulture* 55, 67-87.
- 18 - Zoecklein BW, Fugelsang KC, Gump BH, Nury FS**, 2001. *Análisis y Producción de Vino*. Acribia: Zaragoza.
- 19 - Lurton L**, 2003. Grape polyphenols: New powerful health ingredients. *Innovations in Food Technology and Emerging Technologies* 18, 28-30
- 20 - Meyer AS, Yi OS, Pearson DA, Waterhouse AL, Frankel EN**, 1997. Inhibition of low-density lipoprotein oxidation in relation to composition of phenolic antioxidants in grapes (*Vitis vinifera*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 45, 1638-1643.
- 21 - Nichenametla SN, Tarusicio TG, Barney DL, Exon JH**, 2006. A review of the effects and mechanisms of polyphenolics in cancer. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 46, 161-183.
- 22 - Stoclet JC, Chataigneau T, Ndiaye M, Oak MH, El Bedoui J, Chataigneau M, Schini-Kerth VB**, 2004. Vascular protection by dietary polyphenols. *European Journal of Pharmacology* 500, 299-313
- 23 - Monagas M, Bartolome B, Gómez-Cordoves C**, 2005. Updated knowledge about the presence of phenolic compounds in wine. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 45, 85-118



- 24 - González-Neves G, Gil G, Barreiro L**, 2008. Influence of grape variety on the extraction of anthocyanins during the fermentation on skins. *European Food Research and Technology* 226, 1349-1355.
- 25 - Klenar L, Berovic M, Wondra M**, 2004. Phenolic compounds from the fermentation of cultivars Cabernet Sauvignon and merlot from the Slovenian Coastal Region. *Food Technology and Biotechnology* 42, 11-17.
- 26 - Kennedy JA, Hayasaka Y, Vidal S, Waters EJ, Jones GP**, 2001. Composition of grape skin proanthocyanidins at different stages of berry development. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49, 5348-5355.
- 27 - Sacchi KL, Bisson LF, Adams D**, 2005. A review of the effect of winemaking techniques on phenolic extraction in red wines. *American Journal of Enology and Viticulture* 56, 197- 206.
- 28 - Amrani-Joutei K, Glories Y**, 1994. Etude en conditions modèles de l'extractabilité des composés phenoliques des pellicules et des pepins de raisin rouges. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin* 28, 303-317.
- 29 - Gómez-Míguez M, González-Miret ML, Heredia FJ**, 2007. Evolution of colour and anthocyanin composition of Syrah wines elaborated with pre-fermentative cold maceration. *Journal of Food Engineering* 79, 271-278.
- 30 - Spranger MI, Climaco MC, Sun BS, Eiriz N, Fortunato C, Nunes A, Leandro MC, Avelar ML, Belchior AP**, 2004. Differentiation of red winemaking technologies by phenolic and volatile composition. *Analytica Chimica Acta* 513, 151-161.
- 31 - Salinas MR, Garijo J, Pardo F, Zalacain A, Alonso GL**, 2003. Color, polyphenol, and aroma compounds in rose wines after prefermentative maceration and enzymatic treatments. *American Journal of Enology and Viticulture* 54, 195-202
- 32 - Bernard N, Zebic O, Sieckowski N**, 2005. Raisonement de l'utilisation des encimes et des tanins oenologiques en fonction du stress hydrique de la vigne. *Revue Française d'Oenologie* 215, 16-20.
- 33 - Ribéreau-Gayon J, Peynaud E, Ribéreau-Gayon P, Sudraud P**, 1976. *Sciences et techniques du vin. Tome III. Vinification*. Dunod: París.



- 34 - Wouters PC, Álvarez I, Raso J**, 2001. Critical factors determining inactivation kinetics by pulsed electric field food processing. *Trends in Food Science and Technology* 12, 112-121.
- 35 - Vorobiev E, Lebovka NI**, 2006. Extraction of Intracellular Components by Pulsed Electric Fields. En J Raso, V Heinz (Eds.), *Pulsed Electric Fields Technology for the Food Industry. Fundamentals and Applications* (pp. 153-193). Springer: Nueva York.
- 36 - Kotnik T, Kramar P, Pucihar G, Miklavcic D, Tarek M**, 2012. Cell Membrane Electroporation-Part 1: The Phenomenon. *IEEE Electrical Insulation Magazine* 28, 14-23.
- 37 - Álvarez I, Condón S, Raso J**, 2006. Microbial Inactivation by Pulsed Electric Fields, En: J Raso y V Heinz (Eds) *Pulsed Electric Fields Technology for the Food Industry*, Springer US, Nueva York, 97-129.
- 38 - Vorobiev E, Jemai AB, Bouzrara H, Lebovka N, Bazhal M**, 2005. Pulsed electric field assisted extraction of juice from food plants. *Novel Food Processing Technologies* 141, 105-130
- 39 - Boussetta N, Turk M, De Taeye C, Larondelle Y, Lanoiselle JL, Vorobiev E**, 2013. Effect of high voltage electrical discharges, heating and ethanol concentration on the extraction of total polyphenols and lignans from flaxseed cake. *Industrial Crops and Products* 49, 690-696.
- 40 - Parniakov O, Barba FJ, Grimi N, Lebovka N, Vorobiev E**, 2014. Impact of pulsed electric fields and high voltage electrical discharges on extraction of high-added value compounds from papaya peels. *Food Research International* 65, Part C: 337-343.
- 41 - Lopez N.; Puértolas, E, Condón S.; Alvarez, I. and Raso J**, 2008. Effects of pulsed electric fields on the extraction of phenolic compounds during the fermentation of must of Tempranillo grapes. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 9, 477-482.
- 42 - López N, Puértolas E, Hernández-Orte P, Álvarez I and Raso J**, 2009. Effect of a pulsed electric field treatment on the anthocyanins composition and other quality parameters of Cabernet Sauvignon freshly fermented model wines obtained after different maceration times. *LWT- Food Science and Technology*. 42, 1225-1231.



- 43 - Puértolas E, López N, Saldaña G, Álvarez I and Raso J**, 2010. Evaluation of phenolic extraction during fermentation of red grapes treated by a continuous pulsed electric fields process at pilot-plant scale. *Journal of Food Engineering*. 98, 120-125.
- 44 - Luengo, E.; Franco, E.; Ballesteros, F.; Alvarez I and Raso J**, 2014. Winery trial on application of pulsed electric fields for improving vinification of Garnacha grapes. *Food and Bioprocess Technology*. 7, 1457-1464.
- 45 - García-Barceló J**, 1976. Metodología de análisis de vinos y derivados. *Sepsa*: Villafranca del Penedés.
- 46 - García J**, 1990. Técnicas analíticas para vinos.1.20-1.21 (1990).
- 47 - García J**, 1990. Técnicas analíticas para vinos. 8.8-8.9 (1990).
- 48 - Rebelein H**, 1973. Rapid method for the determination of the alcohol, sugar, and total sulphur dioxide contents (by distillation) in wine and fruit juices and also for determining the blood alcohol. *Chemie, Mikrobiologie, Technologie der Lebensmittel*. 2, 112-121.
- 49 - Luengo Maranillo E**, 2015. Evaluación de la tecnología de pulsos eléctricos de alto voltaje para la mejora de distintos procesos de extracción. Tesis Doctoral. Facultad de Veterinaria. Universidad de Zaragoza.
- 50 - Boussetta N, Vorobiev E, Le LH, Cordin-Falcimaigne A, Lanoiselle JL**, 2012. Application of electrical treatments in alcoholic solvent for polyphenols extraction from grape seeds. *Lwt-Food Science and Technology* 46, 127-134
- 51 - Bautista-Ortín, A. B., Fernández-Fernández, J. J., López-Roca, J. M., Gómez Plaza, E**, 2004. Wine-making of high coloured wines: extended pomace contact and run-off of juice prior to fermentation. *Food Science and Technology International* 10, 287-295.
- 52 - Romero-Cascales, I., Ros-García, J. M., López-Roca, E., & Gómez- Plaza, E**, 2012. The effect of a commercial pectolytic enzyme on grape skin cell wall degradation and colour evolution during the maceration process. *Food Chemistry* 130, 626-631.



ANEXO I

ANÁLISIS HEDÓNICO

Evalúe en la escala correspondiente según su grado de aceptabilidad/satisfacción las siguientes muestras de vino.

