



UNIVERSIDAD DE LA RIOJA

TRABAJO FIN DE ESTUDIOS

Título

Estudio de la composición fenólica en la maduración de la uva y en el proceso de microoxigenación

Autor/es

JAVIER GONZÁLEZ BUENO

Director/es

MARÍA PURIFIC. FERNÁNDEZ ZURBANO y M^a PILAR SÁENZ NAVAJAS ,

Facultad

Facultad de Ciencia y Tecnología

Titulación

Grado en Química

Departamento

QUÍMICA

Curso académico

2018-19



Estudio de la composición fenólica en la maduración de la uva y en el proceso de microoxigenación, de JAVIER GONZÁLEZ BUENO

(publicada por la Universidad de La Rioja) se difunde bajo una Licencia Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-SinObraDerivada 3.0 Unported.

Permisos que vayan más allá de lo cubierto por esta licencia pueden solicitarse a los titulares del copyright.

© El autor, 2019

© Universidad de La Rioja, 2019

publicaciones.unirioja.es

E-mail: publicaciones@unirioja.es



UNIVERSIDAD DE LA RIOJA

Facultad de Ciencia y Tecnología

TRABAJO FIN DE GRADO

Grado en Química

Estudio de la composición fenólica en la maduración de la
uva y en el proceso de microoxigenación

Realizado por:

Javier González Bueno

Tutelado por:

Purificación Fernández Zurbano

María Pilar Sáenz Navajas

Logroño, Febrero, 2019

Resumen:

Los compuestos fenólicos tienen una gran importancia en las uvas. Su concentración en las uvas indica si tienen una mayor calidad. De ellos también depende la futura crianza en bodega y envejecimiento en botella o que no pueda ocurrir. Durante la crianza, la adición de O_2 afecta al comportamiento de los compuestos fenólicos, cambiando su estructura y cambiando las propiedades del futuro vino. Los objetivos de este trabajo son buscar las diferencias en la composición fenólica en muestras procedentes de parcelas con distinto potencial vitivinícola y de distinto estado de madurez y estudiar los cambios de la composición fenólica durante una microoxigenación y en su ausencia. Los resultados muestran que hay diferencias en la composición fenólica en las parcelas de alto y bajo potencial y que hay diferencias entre las muestras si se aplica la microoxigenación o se deja en anoxia.

Abstract:

Phenolic compounds have got a great importance in the grapes. Their concentration in grapes shows if they have a higher quality. Phenolic compounds also depends the future aging in barrel and in bottle or that process couldn't happen. During aging, adding O₂ affects the behaviour of phenolic compounds, changing his structure and the properties of the future wine. The aims of this project are: looking for the differences in the phenolic composition in samples from plots with different vitivincultural potential and of different maturity stage and studying the changes of the phenolic composition during a micro-oxidation and in its absence. The results show that there are differences in the phenolic composition in the plots of high and low potential and that there are differences between the samples if microoxygenation is applied or left in anoxia.

ÍNDICE

1 Introducción

2 Compuestos fenólicos

2.1 Evolución durante la maduración de los compuestos fenólicos

2.2. Reacciones de los compuestos fenólicos

2.2.1 Reacciones de polimerización de los taninos

2.2.2 Reacciones de taninos con proteínas y polisacáridos

2.2.3 Reacciones de los antocianos

2.3 Importancia de los compuestos fenólicos

2.3.1 En los seres humanos

2.3.2 En el vino

3 La microoxigenación

4 Métodos para realizar los análisis

4.1 Medidas de los polifenoles totales

4.2 Medidas de color

4.3 Pigmentos poliméricos

5 Objetivos

6 Material y métodos

6.1 Muestras

6.1.1 Mistelas

6.1.2 Fracciones para Microoxigenación

7 Análisis químicos

7.1 Índice de polifenoles totales (IPT)

7.2 Índice de color (IC)

7.3 Pigmentos Poliméricos

8 Resultados y Discusión

8.1 Mistelas

8.1.1 IPT

8.1.2 IC

8.1.3 Pigmentos poliméricos

8.2 Muestras

8.2.1 IPT

8.2.2 IC

8.2.3 Pigmentos Poliméricos

9 Conclusiones

10 Bibliografía

1 Introducción

La RAE define vino como la bebida alcohólica que se hace del zumo de las uvas exprimido y cocido naturalmente por la fermentación. El nombre vino proviene del latín vinum, que se cree que puede proceder del griego oinos e incluso del sánscrito vëna.

Debido a las condiciones edafoclimáticas de nuestro país, el sector vitivinícola es muy importante a nivel económico porque genera una gran riqueza y por la gran cantidad de personas que viven de ello

Como reflejan datos de 2017, España es el tercer productor mundial de vino, sólo por detrás de Italia y Francia. (*"Principales países productores de vino en el mundo 2017 / Ranking", n.d.*)

Esta producción tiene una consecuencia directa en la economía del país ya que somos los principales exportadores mundiales de vino. Sin embargo, el vino exportado tiene un precio de venta muy bajo respecto otros países como Francia o Italia (*"Radiografía del sector del vino en España - Blog Solunion", 2018*)

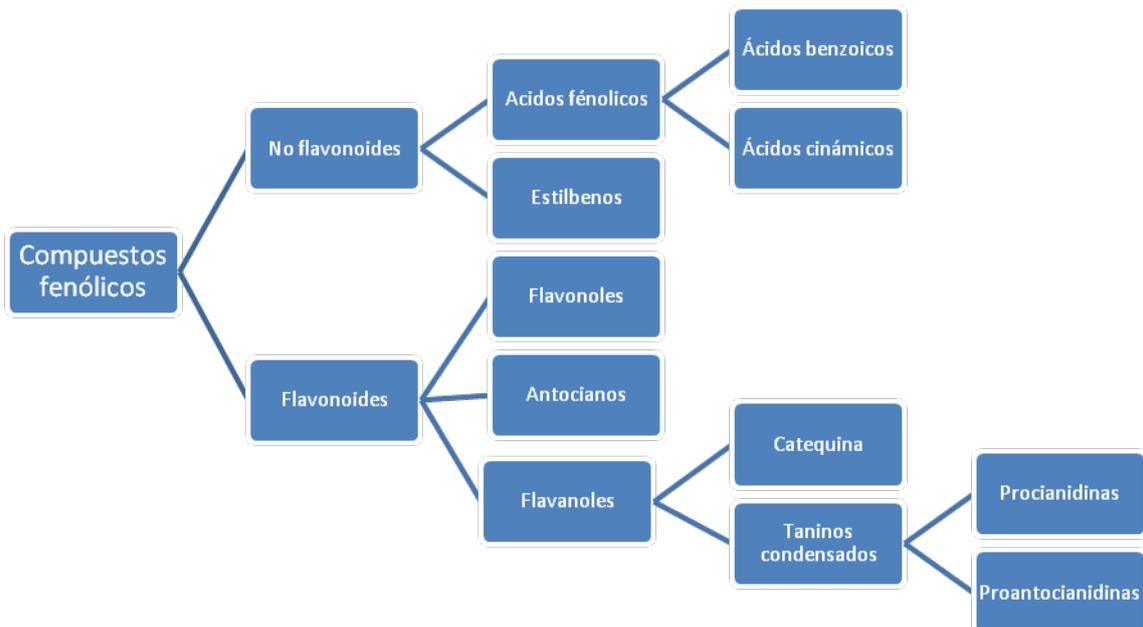
Con un mejor conocimiento tanto de las características del producto de partida como de los procesos de elaboración, se podrá incrementar la calidad del vino que se realice. Las mejoras de los futuros vinos realizados tendrán un impacto directo en el mercado: el precio de venta será mayor, aumentando los beneficios y, debido a una mejora de nuestro producto, se puede llegar a otros mercados, aumentando las ventas y, por lo tanto, obteniendo más beneficios.

2. Compuestos fenólicos:

Los compuestos fenólicos son aquellas sustancias que contienen uno o más anillos aromáticos (benceno) y mínimo un grupo hidroxilo (-OH). Si un hidrógeno del benceno es sustituido por un grupo hidroxilo se obtiene un fenol. ("*Compuesto fenólico*", *n.d.*)

Como se puede observar en el esquema 1, los compuestos fenólicos se clasifican en dos grandes familias: no flavonoides (ácidos fenólicos y estilbenos) y flavonoides (flavonoles, antocianos y flavanoles). La principal diferencia se encuentra en su estructura:

- No flavonoides: Los compuestos fenólicos que no responden a la estructura molecular flavanoidea (C6-C3-C6)
- Flavonoides: Compuestos con la estructura molecular flavanoidea (C6-C3-C6)



Esquema 1: Compuestos fenólicos.

No flavonoides

Ácidos fenólicos

Se encuentran sobre todo en la pulpa pero también en la piel, en el raspón y en las semillas. Los más importantes son los ácidos benzoicos (Figura 1) e hidroxicinámicos (Figura 2), cuya concentración en el vino está entre 100-200 mg/L en vinos tintos

mientras que en blancos está entre 10-20 mg/L. En la tabla 1 y la tabla 2 se recogen los ácidos fenólicos más importantes que se encuentran en las uvas y en el vino. Son incoloros, pero pueden oxidarse dando lugar a tonalidades amarillas/marrones. Estos compuestos son muy importantes en la evolución del color de los vinos blancos y de los vinos tintos jóvenes participando como copigmentos en el efecto de copigmentación. Desde un punto de vista organoléptico, no presentan un olor ni sabor característicos. (Ribéreau-Gayon, 2006)

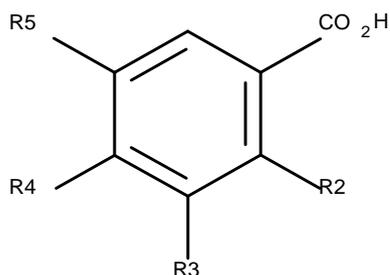


Figura 1. Ácido benzoico.

Tabla 1. Ácidos benzoicos presentes en la uva y en el vino.

Ácidos benzoicos	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅
Ácido p-hidroxibenzoico	H	H	OH	H
Ácido protocatéquico	H	OH	OH	H
Ácido vainílico	H	OCH ₃	OH	H
Ácido gálico	H	OH	OH	OH
Ácido siríngico	H	OCH ₃	OH	OCH ₃
Ácido salicílico	OH	H	H	H
Ácido gentísico	OH	H	H	OH

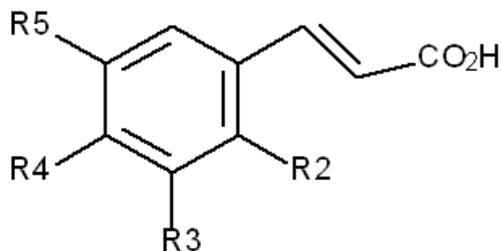


Figura 2: Ácido cinámico.

Tabla 2. Ácidos cinámicos presentes en la uva y en el vino.

Ácidos cinámicos	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅
Ácido cafeico	H	OH	OH	H
Ácido p-cumárico	H	H	OH	H
Ácido ferúlico	H	OCH ₃	OH	H
Ácido sinapínico	H	OCH ₃	OH	OCH ₃

Estilbenos

Su estructura se corresponde con la Figura 3. Dentro de la familia, el más importante es el resveratrol. Se encuentra en los hollejos y se extrae durante la fermentación. Tiene una función biológica al proteger a la vid de ataques bacterianos o fúngicos. (Ribéreau-Gayon, 2006).

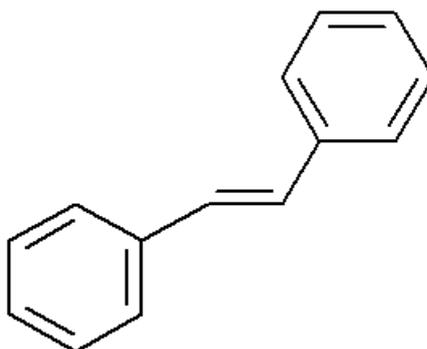


Figura 3: Estilbeno.

Flavonoides:

Flavonoles:

Son pigmentos de color amarillo, cuya estructura molecular se presenta en la Figura 4, están en los hollejos tanto en uvas blancas como en tintas. En las uvas, se encuentran de forma glucosilada (1 molécula flavonoidea unida por un enlace O-glucosídico a una molécula de glucosa). En la Tabla 3 están presentes los flavonoles que podemos encontrar en las uvas. Son responsables del color amarillo en vinos blancos. En los vinos tintos, su principal utilidad es en la participación en la copigmentación. (Ribéreau-Gayon, 2006; Blanco, 2013)

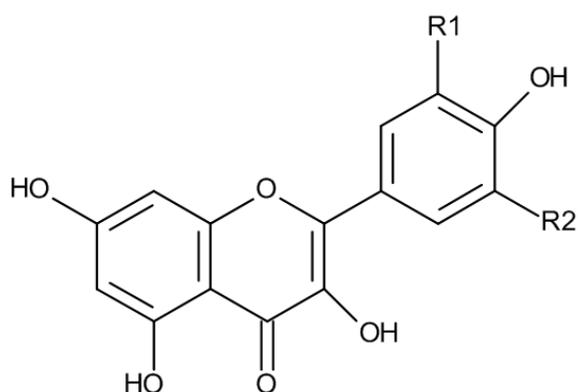


Figura 4: estructura de flavonol.

Tabla 3: Flavonoles más importantes encontrados en las uvas.

Flavonoles	R ₁	R ₂
Kaempferol	H	H
Isoramnetina	OCH ₃	H
Laricitrina	OCH ₃	OH
Miricetina	OH	OH
Siringetina	OCH ₃	OCH ₃
Quercetina	OH	H

Antocianos

Su principal característica es que el oxígeno del heterociclo está cargado positivamente. Son los pigmentos de color rojo de las uvas tintas y responsables del color rojo de los vinos tintos. Están presentes en los hollejos, aunque también se pueden encontrar en la pulpa en las variedades denominadas tintóreas. Son más estables en forma antocianínica que de forma antocianidínica. Las antocianidinas se pueden encontrar de diferentes formas en uvas y en el vino (Tabla 4) (Ribéreau-Gayon, 2006)

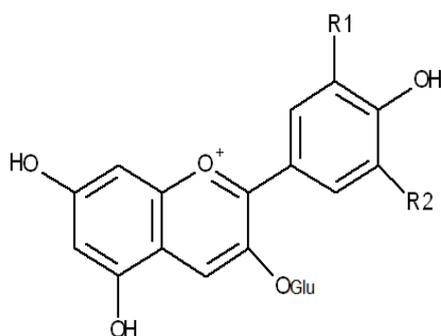


Figura 5: Forma antocianínica.

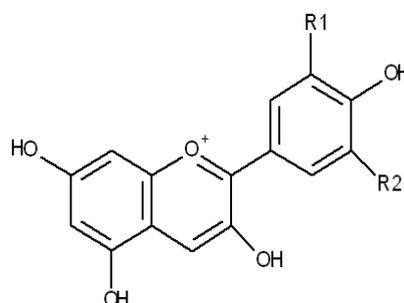


Figura 6: Forma antocianidínica.

Tabla 4: Diferentes antocianidinas presentes en las uvas y en el vino.

Antocianidinas	R ₁	R ₂
Petunidina	OH	OCH ₃
Peonidina	OCH ₃	H
Delfinidina	OH	OH
Malvidina	OCH ₃	OCH ₃
Cianidina	OH	H

Flavanoles

Todos los compuestos están caracterizados por tener un esqueleto común formado por dos anillos bencénicos y un anillo heterocíclico, sin dobles enlaces, que contiene oxígeno. Se pueden encontrar de forma monomérica, siendo los más abundantes en las uvas (+) catequina (Figura 7) y (-) epicatequina (Figura 8), de forma dímera, oligomérica (Formadas entre 3-10 moléculas de flavanoles) y de forma polimérica, que son los taninos condensados o proantocianidinas. Se encuentran en los hollejos y en las semillas. (Ribéreau-Gayon, 2006; Blanco, 2013)

Los taninos condensados serán de gran importancia en el vino al formar complejos estables con polisacáridos y con proteínas, pudiendo dar lugar a precipitaciones. Estas transformaciones son de gran importancia en los vinos al contribuir en el amargor y en la astringencia (Blanco, 2013). No participan directamente en el color del vino pero ayudan en transformaciones químicas como copigmentos o en las que interaccionan entre ellos o con los antocianos para formar nuevos pigmentos. (Ribéreau-Gayon, 2006)

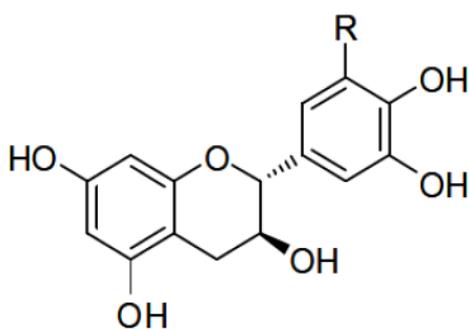


Figura 7: (+) catequina. (R=H)

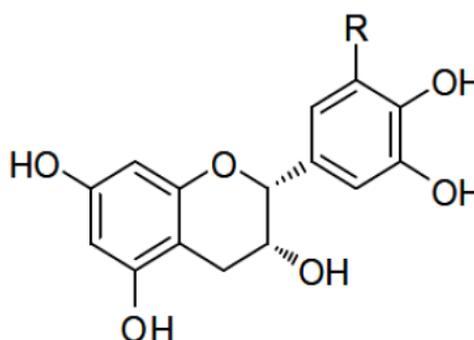


Figura 8: (-) epicatequina. (R=H)

2.1 Evolución durante la maduración de los compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos se encuentran en la uva como se indica en la figura 9.

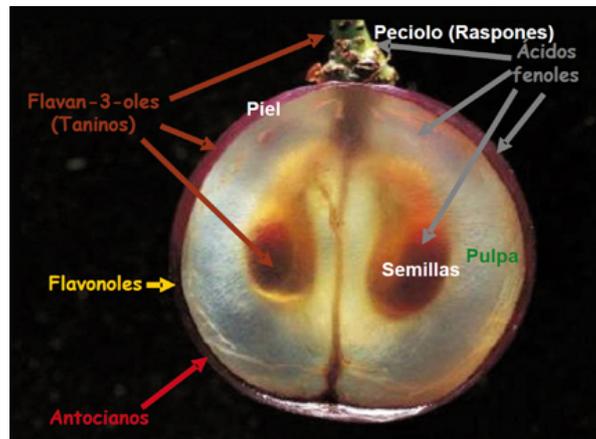


Figura 9: Distribución de los compuestos fenólicos en la uva (Zamora-Marín, 2013)

La cantidad de ácidos fenólicos es alta antes del envero, disminuyendo a medida que la uva va madurando.

Los antocianos aparecen en el envero aumentando su concentración durante la madurez hasta alcanzar un máximo al final de la madurez. Esta concentración puede disminuir en caso de sobremaduración. (Glories, 1999)

Sin embargo, los taninos siguen un comportamiento diferente: En los taninos presentes en los hollejos, en el envero ya hay una cierta concentración que va aumentando durante la madurez hasta mantenerse su concentración estable. Mientras, en las semillas, la concentración de taninos es mayor, disminuyendo durante la madurez.

Este comportamiento suele ser válido para todas las variedades y la mayoría de las zonas vitícolas, pero la concentración máxima de antocianos y taninos presentes en la uva varían en función de la zona, el clima del último año, la variedad de uva y las técnicas de cultivo empleadas por el viticultor. (Martínez de Toda Fernández, 2002)

2.2. Reacciones de los compuestos fenólicos

2.2.1 Reacciones de polimerización de los taninos

2.3.1.1 Polimerización lineal

Está basada en que los taninos son capaces de formar un carbocatión en un medio ácido y en ausencia de oxígeno. Este carbocatión va reaccionando con otros taninos presentes aumentando su tamaño (Figura 11). La polimerización de los taninos ocurre mediante uniones C₄-C₈ o C₄-C₆. (Ribéreau-Gayon, 2006)

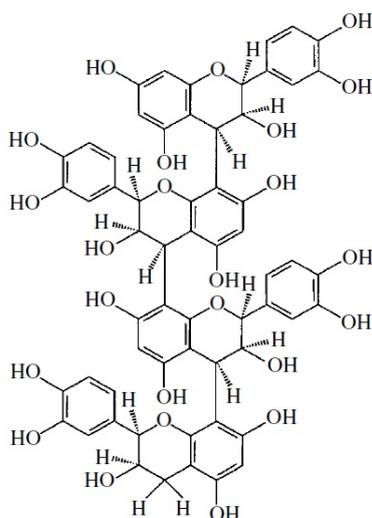


Figura10: Ejemplo de una polimerización de taninos.

2.3.1.2 Polimerización cruzada

Se lleva a cabo con una molécula de acetaldehído, que en medio ácido forma un carbocatión, reaccionando con una proantocianidina o flavanol. Se forma la molécula bencil- alcohol, que en medio ácido es susceptible a la creación de otro carbocatión que reaccione con otra molécula de flavanol o tanino (Figura 11).

De esta reacción se obtienen polímeros heterogéneos, (Ribéreau-Gayon, 2006)

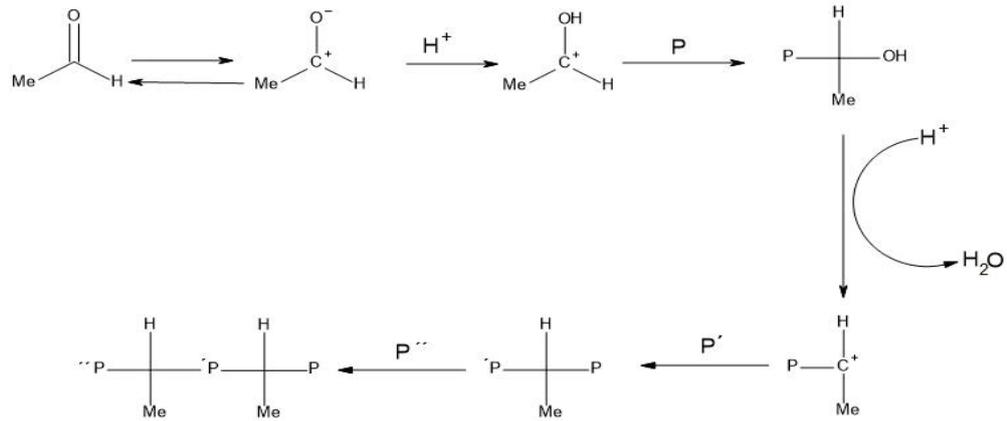


Figura 11: Esquema de la polimerización cruzada de procianidinas (P).

2.2.2 Reacciones de taninos con proteínas y polisacáridos

Los taninos pueden formar complejos estables con proteínas y con polisacáridos. Con las proteínas de la boca, forman complejos que llegan a precipitar causando una disminución de la astringencia y del cuerpo en el vino tinto.

Con los polisacáridos, los complejos que se forman permanecen en disolución provocando una disminución de la astringencia y del amargor, manteniendo el cuerpo del vino tinto. (Ribéreau-Gayon, 2006) Estas reacciones dependen de factores como pH, disolvente, temperatura. (Ribéreau-Gayon, 2006)

2.2.3 Reacciones de los antocianos

2.2.3.1 La copigmentación

Se define copigmentación a las asociaciones hidrofóbicas que suceden en medio acuoso entre antocianos monoméricos, en su forma catión flavilio (especie antociánica coloreada) y un copigmento o cofactor de copigmentación. Un copigmento o factor de copigmentación es un compuesto no coloreado que al unirse a un antociano incrementa el color de la disolución. Los mejores copigmentos son los flavonoles, pero en las uvas y en los vinos éstos se encuentran en pequeñas cantidades. También pueden actuar como copigmentos ácidos fenólicos, aminoácidos, nucleótidos o polisacáridos. (Hermosín, 2007)

Se forma un complejo de estequiometría 1:1, en el que la estructura plana de un pigmento se une con la parte plana de un copigmento formando una especie de "sandwich". Esta nueva molécula permanece unida mediante interacciones débiles tipo π - π . (Hermosín, 2007)

2.2.3.2 Reacciones entre los antocianos y los taninos

Están basadas en adiciones nucleofílicas donde los antocianos y los taninos pueden actuar como elementos electrófilos o nucleófilos. Hay tres tipos de reacciones que se pueden dar:

2.2.3.2.1 Condensación directa

Adiciones Antociano-Tanino (A⁺-T)

Se produce por un ataque nucleofílico de las posiciones C₆ o C₈ del flavanol sobre la posición electrófila C₄ del catión flavilio de un antociano, formando un compuesto incoloro. (Blanco, 2013). La presencia de oxígeno o un medio oxidante hace que la molécula vuelva a tener el color rojo (A⁺-T). Aunque alguna de estas moléculas han sido obtenidas por HPLC, su estructura química no ha sido definida. (Ribéreau-Gayon, 2006; Casassa & Catania, 2006)

Adiciones Tanino-Antociano (T⁺-A)

Los enlaces de las proantocianidinas (T-T) pueden romperse en medio ácido formando carbocationes (T⁺), que se unen a las posiciones C₆ o C₈ de la forma carbinol de un antociano.

(Vidal et al., (2002) explica que estos carbocationes reaccionan con otras proantocianidinas, formándose otras moléculas de proantocianidinas diferentes.

Este compuesto formado inicialmente es incoloro al contener base carbinol pero cambia a tonos naranja-rojizo tras la deshidratación.

Esta reacción viene mejorada por la temperatura al poder formarse el carbocatión más fácilmente y se da en ausencia de oxígeno, justificando la evolución del color del vino en la botella o en depósitos. (Ribéreau-Gayon, 2006)

2.2.3.2.2 Condensación indirecta

Condensación mediante puente de etilo

El etanal o acetaldehído es un compuesto natural del vino. Su origen puede ser tanto microbiano al producirlo las levaduras durante la fermentación alcohólica (Morata, Calderón, González, Gómez-Cordovés & Suárez, 2007) como oxidativo al producirse a partir de la oxidación del etanol.

En medio ácido, el etanal forma un carbocatión que reacciona con las zonas negativas de los flavanoles (C₆ o C₈). Esta estructura formada hará de electrófilo al reaccionar con los antocianos en su forma hidratada. Se obtiene un compuesto de color rojo-violáceo. (Ribéreau-Gayon, 2006)

La formación de estos compuestos tiene lugar durante el envejecimiento. Esto se manifiesta en que los vinos tintos van perdiendo su característico color rojo,

cambiando su tonalidad de rojo-púrpura hacia el rojo anaranjado. Por otra parte, los efectos de la copigmentación van desapareciendo a medida que el vino tinto va envejeciendo, por lo que la evolución y estabilización del color en el envejecimiento está relacionado con la formación de los pigmentos poliméricos. (*Hermosín, 2007*)

(*Somers, 1968*) definió los pigmentos poliméricos como la combinación de los taninos de la piel y la semilla de las uvas con los antocianos monoméricos de la piel formados durante la crianza del vino. (*Wollmann, N., & T. Hofmann. 2013*) también incluyen en la estructura de los pigmentos poliméricos otros metabolitos como manoproteínas, polisacáridos, carbohidratos y ácidos orgánicos.

2.3.3.3 Formación de los piranoantocianos.

Los piranoantocianos son estructuras formadas por cicloadición entre el C₄ y el grupo hidroxilo del C₅ de un antociano con una molécula de bajo peso molecular que tenga un doble enlace que permita la cicloadición. Algunas de estas moléculas, como el ácido pirúvico o el acetaldehído son metabolitos provenientes de las levaduras durante la fermentación. (*Morata, Calderón, González, Gómez-Cordovés & Suárez, 2007; Casassa & Catania, 2006*) Mediante esta reacción se forma un nuevo anillo de pirano. (*Morata, Calderón, González, Gómez-Cordovés & Suárez, 2007*) La formación de este anillo de pirano en el C₄ del antociano provoca un impedimento estérico que hace que los piranoantocianos sean más estables a la decoloración del SO₂, a los cambios de pH, a la oxidación y a la temperatura que el antociano de partida. (*Casassa & Catania, 2006*)

Estos compuestos se forman en la parte final de la fermentación alcohólica y en etapas siguientes de crianza de los vinos.

Podemos destacar a las vitisinas como un tipo muy importante de piranoantocianos presentes en el vino.

- Vitisina A: Formada por una cicloadición de malvidina 3-glucósido con una molécula de ácido pirúvico, procedente de la fermentación de las levaduras (Figura 12) (*Morata, Calderón, González, Gómez-Cordovés & Suárez, 2007*)
- Vitisina B: Formada por una cicloadición de una molécula de acetaldehído sobre malvidina 3-glucósido procedente de la fermentación de las levaduras. (Figura 13) (*Morata, Calderón, González, Gómez-Cordovés & Suárez, 2007*)

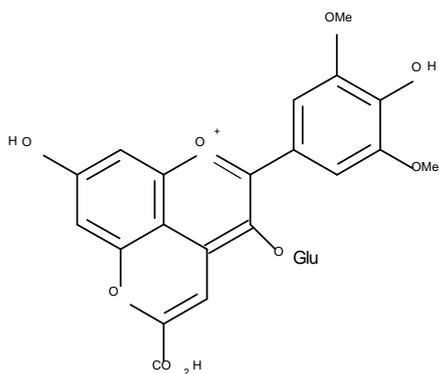


Figura 12: Vitisina A.

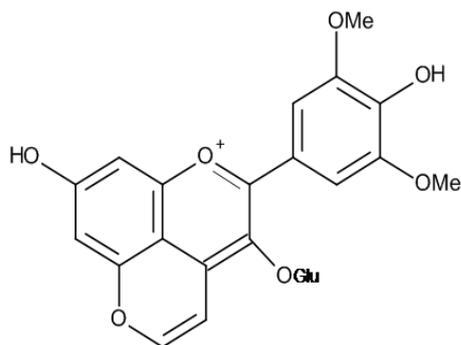


Figura 13: Vitisina B.

Además, los antocianos también reaccionan con unidades de vinil-flavanol, que proceden de la despolimerización de los flavanoles mediada por el acetaldehído o de la hidrólisis de la condensación antociano-etil-flavanol. También pueden hacerlo con los vinilfenoles, que proceden de la descarboxilación de los ácidos hidroxicinámicos. (Casassa & Catania, 2006)

2.3 Importancia de los compuestos fenólicos

2.3.1 En los seres humanos

Como indica (Ma et al., 2014), los compuestos fenólicos son beneficiosos en nuestra salud al prevenir el envejecimiento, la obesidad, el cáncer y diferentes enfermedades del corazón.

Por ejemplo, al resveratrol y sus polímeros se les atribuyen propiedades anticancerígenas y cardiosaludables. (Blanco, 2013). Incluso se han llegado a hacer pruebas en animales con resultados aceptables en enfermedades relacionadas con el cáncer, Alzheimer, enfermedades cardiovasculares y pulmonares (Vicente, 2010)

También, se está investigando que los taninos hidrolizables y condensados puedan tener un gran impacto en el mundo de la medicina.

Dentro de los taninos hidrolizables, el compuesto más estudiado es la pentagaloiil glucosa (PGG) (Figura 14), que tiene cierta actividad anticancerígena, antidiabética y antioxidante. La actividad anticancerígena de la PGG se ha probado en cáncer de próstata y pulmón, disminuyendo el tamaño del tumor e impidiendo su crecimiento. (Vázquez-Flores, Alvarez-Parrilla, López-Díaz, Wall-Medrano & De la Rosa, 2012)

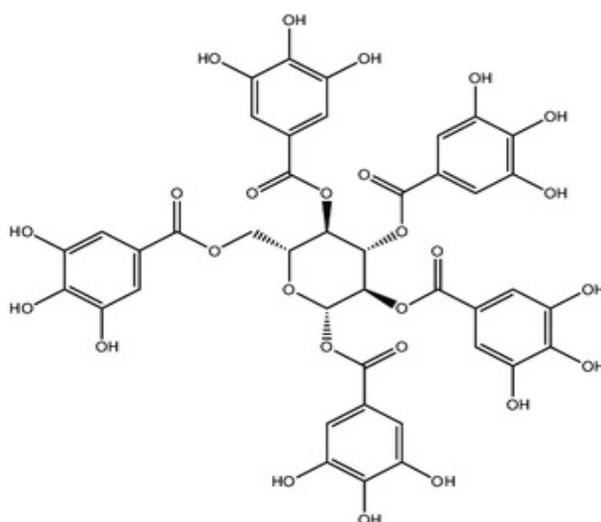


Figura 14: Pentagaloil glucosa.

Los taninos condensados han sido más estudiados debido a su actividad antioxidante al inhibir la oxidación de tejidos mejor que, como, por ejemplo, la vitamina C. El extracto de semilla de uva tiene un efecto hipocolesterolemia, disminuyendo la concentración de LDL (lipoproteínas de baja densidad) en plasma y aumentando las HDL (lipoproteínas de alta densidad), conocidas como colesterol bueno. (Vázquez-Flores, Alvarez-Parrilla, López-Díaz, Wall-Medrano & De la Rosa, 2012)

También poseen actividad antibacteriana en infecciones urinarias y evitan riesgos de enfermedades coronarias ("*PROANTOCIANIDINAS en IQB*", 2014)

Recientemente, se ha descubierto que su ingesta puede ser beneficiosos contra enfermedades relacionadas con la obesidad (Ibars et al., 2017)

2.3.2 En el vino

Los compuestos fenólicos de la uva influyen en la calidad del futuro vino, sobre todo en el color, astringencia o amargor (De Freitas & Glories, 1999), en su posible crianza en barrica y envejecimiento en botella (Blanco, 2013)

2.3.2.1 En el color

El color de un vino tinto es el resultado de diferentes reacciones que van ocurriendo, siendo los antocianos monoméricos los responsables de ello. Durante la fermentación y, especialmente en la crianza el color va cambiando debido a la copigmentación y a los pigmentos poliméricos, respectivamente.

En los vinos tintos jóvenes, los antocianos son los principales compuestos que aportan el color. A pH muy ácido, la especie predominante será el catión

flavilio(A^+), de color rojo. A medida que aumenta el pH, A^+ se va transformando en base quinona (AO) de color azul-violeta y ésta se puede transformar a base carbinol (AOH), incoloro. Si se aumenta la temperatura, AOH puede transformarse en calcona cis y trans. La calcona trans puede oxidarse para formar ácidos fenólicos. (Ribéreau-Gayon, 2006)

El equilibrio entre las distintas especies antociánicas es reversible excepto la degradación de la especie calcona que si ocurre, supondría la pérdida del color del vino. (King, G.A.; Sweeney, J.C. Radford, T. Y Lacobucci, G.A. (1980) Como se ve en la figura 15, en el pH del vino hay un equilibrio reversible entre A^+ , AO Y AOH. A pH más bajos, el vino tendrá tonos más rojizos mientras que al ir aumentando el pH, el rojo irá desapareciendo predominando los tonos azules.

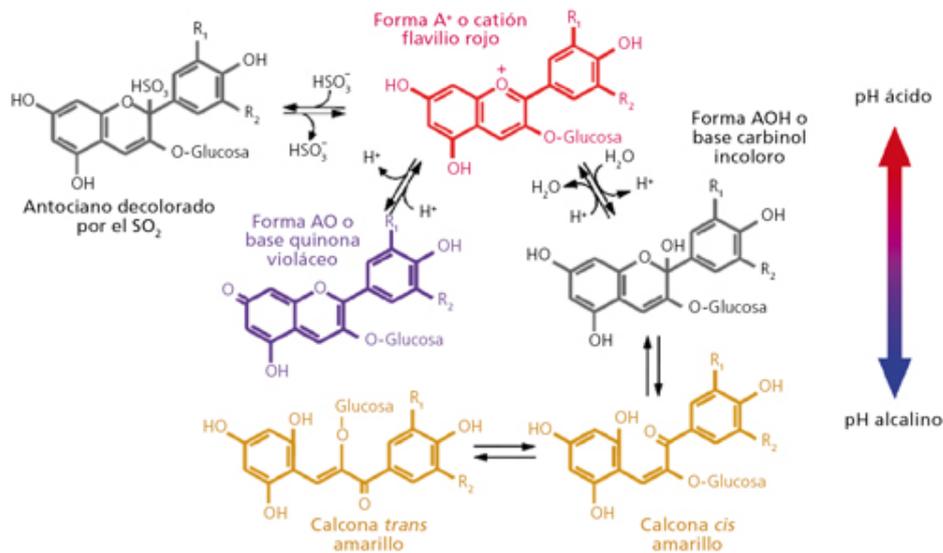


Figura 15: Formas que se encuentran los antocianos a diferente pH en el vino.

El catión flavilio da una especie incolora al unirse al anión bisulfito, que proviene del SO₂, usado como agente antioxidante y antiséptico que se añade al vino. Esta reacción se da en el C₂.

- Influencia de la copigmentación:

Los antocianos son resistentes a la decoloración por el SO₂, contribuyendo a la estabilización del color en los vinos tintos jóvenes. (Mirabeu, Saucier, Guerra & Glories, 1999)

- Formación de los pigmentos poliméricos:

Los vinos tintos van perdiendo su característico color rojo hacia tonos más anaranjados. (Hermosín, 2007)

No presentar cambios en el pH del vino y que no se decoloran al usar bisulfito. (Somers, 1968, 1971) Como consecuencia, el vino obtiene un color químicamente más estable.

- Influencia de los piranoantocianos:

Se ha demostrado que estos compuestos contribuyen al color de los vinos envejecidos ya que son más estables a la decoloración del SO₂, a la oxidación, cambios de pH y a la temperatura que el antociano de partida. Tienen un característico tono rojo-anaranjado.

No están presentes en gran cantidad en los vinos, pero son muy estables variando apenas su composición durante el envejecimiento, contribuyendo en gran medida al color de los vinos envejecidos (Casassa & Catania, 2006)

2.3.2.2 En la astringencia

En los vinos tintos, la astringencia se define como la sensación en boca producida por la precipitación de las proteínas de la saliva con los taninos presentes en los vinos. (Ma et al., 2014) (Revelette, Kennedy & Yacco, 2015)

Varios autores (Gawel, 1998; Sáenz-Navajas, Avizcuri, Ferreira, & Fernández-Zurbano, 2012) anotan que las proantocianidinas poliméricas son las principales responsables de la astringencia que se unen a la prolina de la saliva por interacciones hidrofóbicas.

(Revelette, et al., 2015), dan una gran importancia a las antocianidinas porque en su unión a los taninos en la formación de los pigmentos poliméricos, estos productos son menos astringentes.

2.3.2.3 En el amargor:

El amargor es una percepción reconocida por las papilas gustativas de la lengua. (Ma et al., 2014)

En los vinos tintos, se relaciona el amargor principalmente con los flavan-3-ols y sus polímeros menores de tres unidades, aunque también puede venir dado por flavonoles (Sáenz-Navajas et al., 2010) y derivados de los ácidos benzoicos e hidroxicinámicos.

El amargor se reduce cuando el peso molecular del tanino condensado aumenta, a diferencia de la astringencia.

3 La microoxigenación

Se sabe que el oxígeno es muy importante durante la vinificación ya que los compuestos fenólicos son compuestos reductores que intervienen en reacciones de óxido-reducción y, además, participan en diferentes reacciones de condensación, y polimerización. (Sartini et al., 2007; Rivero-Pérez et al., 2008)

Sin embargo, una adicción en exceso de O₂, provoca efectos negativos en el vino como la oxidación de los compuestos fenólicos, lo que conduce a pérdida de color, aumento de notas oxidadas en el aroma o mayor astringencia (Ertan Anli & Algan Cavuldak, 2012; San Martín-Larrasoña, 2010) Por lo tanto, la adición de O₂ tiene que ser controlada, tal y como ocurre durante el envejecimiento en barricas donde además de un proceso de extracción ocurre un proceso de microoxigenación de los vinos

La microoxigenación es una técnica que empezó a desarrollarse a mediados de la década de los 90 en Francia, cuya finalidad es reproducir lo que ocurre en la crianza en barrica. (Gómez-Plaza and Cano-López, 2011)

Consiste en inyectar dosis pequeñas y controladas de O₂ para mejorar la calidad del color y de los aromas de los vinos tintos (González-del Pozo et al., 2010). Para ello, es necesario un equipo especializado en regular las dosis de O₂ mediante un difusor poroso. (Gómez-Plaza and Cano-López, 2011)

Las principales ventajas de su aplicación en los vinos tintos son:

- Estabilización del color frente al ataque de SO₂ en el pH del vino al formarse unos compuestos nuevos y más complejos, los pigmentos poliméricos, por condensación directa o por puentes de etilo entre los antocianos y los flavanoles. (Sartini et al., 2007; Gómez-Plaza and Cano-López, 2011) y mediante reacciones de cicloadición para formar los piranoantocianos. (Picariello, Gambuti, Picariello & Moio, 2017; Gómez-Plaza and Cano-López, 2011)
- Reduce la astringencia ya que los taninos, moléculas responsables de la astringencia, reaccionan con el acetaldehído mediante uniones C4-C8 y C4-C6, polimerizando con los antocianos. (Gómez-Plaza and Cano-López, 2011) (Ertan Anli & Algan Cavuldak, 2012)
- Mejora en el aroma al reducir los aromas a reducción y los olores vegetales, aumentando las notas frutales.

La microoxigenación se puede utilizar en cualquier momento de la elaboración, aunque depende del parámetro que se quiera mejorar durante la vinificación.

Generalmente, se aplica después de la fermentación alcohólica (FOH) y antes de la fermentación maloláctica (FML) y después de la FML.

En el primer caso, ya que aumenta la producción de acetaldehído tras la oxidación del etanol, consiguiendo un color más estable, eliminando las notas herbáceas. (*San Martín-Larrasoña,2010*) y en el segundo caso si se quiere disminuir la astringencia. (*San Martín-Larrasoña,2010*)

4 Análisis de polifenoles

4.1 Medidas de los polifenoles totales

Los métodos más importantes para medir los polifenoles totales son el índice de polifenoles totales (IPT) y en el que se utiliza el reactivo de Folin-Ciocalteu.

4.1.1 Índice de polifenoles totales(IPT)

Esta técnica está basada en que los anillos bencénicos de los compuestos fenólicos presentan un máximo de absorbancia en longitudes de onda comprendidas entre 275-280 nm. (*San Martin-Larrasoña,2010*) (*Durán O. & Trujillo N., 2008*)

Las medidas se realizaron en un espectrofotómetro UV, usando cubetas de cuarzo para evitar las interferencias que puedan dar en ese rango del espectro las cubetas de plástico. (*Harbertson & Spayd, 2006*)

4.1.2 Polifenoles totales (Índice de Folin-Ciocalteu)

Desarrollado por Singleton y Rossi, está basado en el uso del reactivo de Folin-Ciocalteu. El reactivo está formado por la mezcla del ácido fosfotúngstico y del ácido fosfomolibdico. (*San Martin-Larrasoña,2010*)

Esta reacción está basada en las propiedades de oxidación- reducción. Al añadir el reactivo y posteriormente un medio básico, los compuestos fenólicos se oxidan a estructuras quinoideas mientras que el reactivo de Folin-Ciocalteu se reduce, ganando un electrón, pasando de un estado de oxidación +6 a +5. La solución pasa de un color amarillo a tonos más azulados. (*Harbertson & Spayd, 2006*) (*García-Martínez, Fernández-Segovia & Fuentes-López, n.d.*)

Previamente se debe hacer una recta patrón con concentraciones conocidas de ácido gálico, expresando el resultado final en mg de ácido gálico/litro. (*San Martin-Larrasoña,2010*)

Para realizar este trabajo las medidas de los polifenoles totales se hicieron el método de los IPT debido a la simplicidad del método y la disposición tanto del material necesario como del espectrofotómetro.

4.2 Pigmentos poliméricos

El método más empleado es el de Harbertson. Consiste en la combinación de precipitación de proteínas con el blanqueamiento con bisulfito para obtener con la ayuda de un espectrofotómetro los diferentes tipos de pigmentos poliméricos que hay en el

vino: pigmentos poliméricos grandes (LPP), que precipitan con las proteínas, los pigmentos poliméricos pequeños (SPP), que no precipitan con las proteínas, así como la fracción debida a los antocianos libres (MP). (Harbertson, Picciotto & Adams, 2003)

Los reactivos que se utilizan para este ensayo y las concentraciones de las disoluciones se muestran en la tabla 5

Tabla 5. Composición de los buffers usados en el método de Harbertson.

Nombre del buffer	Descripción
Buffer 1	200 mM de ácido acético 170 mM de cloruro de sodio Ajuste de pH con NaOH hasta 4,9
Buffer 2	200 mM de ácido acético 170 mM de cloruro de sodio 1 mg/mL de ovoalbúmina Ajuste de pH con NaOH hasta 4,9
Vino sintético	12% de etanol 5 g/L de ácido tartárico Ajuste de pH con NaOH hasta 3,3
Reactivo decolorante	0,36 M de metabisulfito potásico

(Versari, Parpinello & Mattioli, 2007) describe otro método para calcular los LPP. Para ello, el precipitado proteína-tanino obtenido tras el cálculo de los SPP por el método Harbertson se resuspende en 250 μ L de un buffer de cloruro de sodio/ácido acético, centrifugándose la muestra 1 minuto.

La solución lavada se descarta, añadiendo después 875 μ L de un buffer que contiene 5% (v/v) de TEA(trietanolamina) y 5% (w/v) de SDS(dodecilsulfato de sodio). Se deja reposar 10 minutos a temperatura ambiente y se toma el sobrenadante midiendo la absorbancia a 510 nm.

Recientemente, (*Harbertson, Mireles & Yu, 2015*) usaron urea para disociar el complejo proteína-tanino en vez de SDS debido a su mayor solubilidad en agua y, evitar los problemas que da el SDS al aumentar los errores a la hora de hacer las medidas volumétricas ya que se forman burbujas.

Para realizar este trabajo las medidas de pigmentos poliméricos se hicieron mediante el método de Harberston.

4.3 Medidas de color

4.3.1 Intensidad colorante (IC)

Esta prueba está basada en la medida a tres longitudes de onda diferentes: 420, 520 y 620 nm que corresponden a las longitudes que absorben los compuestos amarillos, rojos y azules respectivamente presentes en el vino. (*San Martín-Larrasoña, 2010*) (*Zamora, 2013*)

4.3.2 Coordenadas de color. Espacio CIELAB

Es un método más exacto que el propuesto anteriormente. Es el sistema más utilizado para especificar el color y fue establecido por la Commission Internationale de l'Eclairage (CIE). (*Pérez-Magariño, & González-Sanjosé, 2003*)

Las características cromáticas de un vino están definidas por las coordenadas cromáticas que son la claridad (L^*) ($L^* = 0$ negro y $L^* = 100$ incoloro), componente de color rojo/verde (a^*) ($a^* > 0$ rojo, $a^* < 0$ verde), componente de color amarillo/azul (b^*) ($b^* > 0$ amarillo, $b^* < 0$ azul) (Figura 16) y por sus magnitudes derivadas que son la croma (C^*) y el tono (H^*). (*Pascualetti, Romano, García & Manzano, n.d.*)

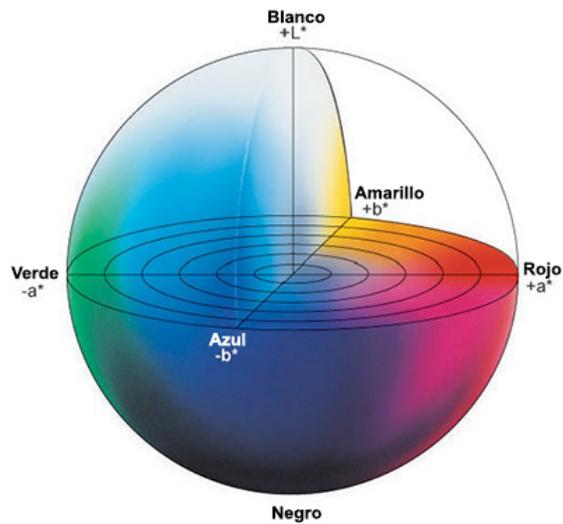


Figura16: Representación de las coordenadas CIELAB.
(<http://sensing.konicaminolta.com.mx/2014/09/entendiendo-el-espacio-de-color-cie-lab/>)

Para realizar este trabajo las medidas de color se hicieron mediante el método de IC debido a la simplicidad del método y la facilidad de tratar los datos posteriormente.

5 Objetivos

Los objetivos a investigar durante este proyecto son:

- Evaluar la existencia de diferencias en la composición fenólica en muestras procedentes de parcelas con distinto potencial vitivinícola.
- Determinar la existencia de diferencias en la composición fenólica de muestras procedentes de distintos estados de madurez.
- Estudiar los cambios que la composición fenólica puede experimentar en presencia y ausencia de oxígeno .

6 Material y métodos

6.1 Muestras

Las muestras proceden de diferentes parcelas de variedad de uva Moristel, en Barbastro, Huesca.

Todos los tratamientos estadísticos de datos se hicieron usando XL-STAT. Se fijó el intervalo de confianza al 95%. ANOVA de un factor se usó para comprobar la homogeneidad de varianzas y la prueba de Fisher para la diferenciación de las medias.

6.1.1 Mistelas

Las parcelas fueron seleccionadas según la estimación de los diferentes potenciales del viñedo al utilizar el Dyosystem®: alto potencial y bajo potencial y en distintos estados de maduración: vegetal, fruta fresca, neutro y fruta madura.

Se elaboraron 8 tipos de mistelas:

Tabla 6: Fecha de la vendimia para realizar la vendimia.

FECHA	ESTADO FENOLÓGICO	VIÑEDO
12/09/2016	VEGETAL	ALTO POTENCIAL
		BAJO POTENCIAL
19/09/2016	FRUTA FRESCA	ALTO POTENCIAL
		BAJO POTENCIAL
26/09/2016	NEUTRO	ALTO POTENCIAL
		BAJO POTENCIAL
03/10/2016	FRUTA MADURA	ALTO POTENCIAL
		BAJO POTENCIAL

6.1.1.1 Elaboración de las Mistelas

Las mistelas se realizaron en garrafas de 5 litros partiendo de pasta de uva despalillada y estrujada. A la pasta se añadió 5g/Hl de metabisulfito potásico para intentar evitar la oxidación y los procesos fermentativos. A continuación, se adicionó etanol, apto para el consumo humano hasta llegar a un grado alcohólico de 15% (v/v).

La mezcla se dejó al abrigo del aire y de la luz, agitando diariamente para facilitar la extracción durante 7 días. Pasada una semana, se separaron por decantación a baja temperatura la mistela de los sólidos. Los hollejos se prensaron levemente, adicionando el líquido obtenido a la mistela.

Transcurridos quince días de la decantación se hizo un trasiego y se embotellaron las mistelas en botellas de 750 mL.

6.1.2 Obtención de fracciones fenólicas

Las fracciones se obtuvieron mediante cromatografía líquida preparativa. Este método nos permite separar e identificar los compuestos en una mezcla líquida (el vino en nuestro caso). Para ello se empaqueta una columna, que hará de fase estacionaria tipo GPC (cromatografía de permeación de gel), se le hace pasar fases móviles de diferente composición para obtener fracciones fenólicas diferentes (http://www4.ujaen.es/~mjayora/docencia_archivos/Quimica%20analitica%20ambiental/Tema6.pdf)

Una de las fracciones anteriormente obtenidas, la que contiene los compuestos de bajo peso molecular, se fracciona mediante extracción en fase sólida, obteniendo tres fracciones fenólicas (flavonoles, flavonoles y antocianos). Se denomina extracción en fase sólida ya que el material de soporte es un sólido por el que pasa un líquido. (<http://www.teknokroma.es/UserFiles/Filtracion/682.pdf>) Se acondiciona el cartucho con un eluyente, se carga la muestra, se lava para eliminar interferencias, se seca para eliminar solvente y mejorar la extracción, se eluye con un solvente con una gran interacción con el analito (Fase 1) y se concentran los compuestos obtenidos tras la elución. ("*Extracción en Fase Sólida EFS-SPE*",)

6.1.2.1 Preparación de las fracciones

Este fraccionamiento se realizó siguiendo el método publicado por Sáenz-Navajas *et al.* (2017)

Para ello, se cogen 350 mL de vino y se lleva al rotavapor para eliminar el etanol. La muestra se liofiliza en matraces redondos de 500 mL. El extracto obtenido se redissuelve con 20 mL de solución hidroalcohólica (12% etanol v/v). Todo el volumen se inyecta en la columna empaquetada con gel Toyopearl, de dimensiones (289mmx129mm).

Se obtuvieron dos fracciones diferentes:

- Fracción 1 (F1) que se extrajo con un eluyente compuesto por etanol/agua mili Q/ ácido fórmico en proporciones (55:44:1, v/v/v). En esta fracción están los compuestos de bajo peso molecular.
- Fracción 2 (F2) que se extrajo con un eluyente compuesto por acetona/agua mili Q en proporciones (60:40, v/v). En esta fracción se encuentran los compuestos de alto peso molecular.

Las fracciones obtenidas se vuelven a llevar al rotavapor para eliminar los eluyentes y al liofilizador.

F1 se redisuelve en 200 mL en una disolución hidroalcohólica (12% etanol v/v) para someterla a una extracción en fase sólida. Se acondiciona el cartucho al pasar 5 mL de metanol y 10 mL de una disolución acuosa a pH 2,5 (La solución está compuesta por 5 g/L de ácido tartárico ajustada a pH 2,5 con NaOH). Después de esto, se obtienen tres fracciones diferentes, que son:

- Fracción 1.1 (F1.1): conseguida al eluir con 5 mL de dietiléter.
- Fracción 1.2 (F1.2): conseguida al eluir con 5 mL de acetato de etilo.
- Fracción 1.3 (F1.3): conseguida al eluir con 10 mL de metanol.

Tras finalizar de eluir F1.3, se usaron 10 mL de acetonitrilo como disolvente de preacondicionamiento para eliminar alguna impureza en el cartucho de extracción de fase sólida. Se va repitiendo el sistema hasta extraer los 200 mL de F1.

Se reúnen los extractos en tres matraces diferentes para llevarlo al rotavapor y después al liofilizador.

Tras liofilizar, estas muestras se redisuelven con 100 mL de una solución hidroalcohólica, cuya composición es: 7% de etanol, 50 mg/L de SO₂ y 80 mg/L de ácido ascórbico. Para enrasar se utilizó agua mineral.

Las composiciones de las fracciones obtenidas se recogieron en la Tabla 7. (Sáenz-Navajas *et al.*, 2017)

Tabla 7: Composición de las diferentes fracciones obtenidas tras el fraccionamiento.

Fracciones	Compuestos fenólicos presentes.
F1.1 y F1.2	Ácidos hidroxicinámicos e hidrobenczoicos y sus ésteres, monómeros y dímeros de flavonoles y flavanoles.
F1.3	Antocianos, incluyendo MP, LPP y SPP.
F2	Flavanoles poliméricos que contienen al menos tres unidades de flavanoles en su estructura.

Tabla 8: Muestras obtenidas tras el fraccionamiento.

MUESTRA	MUESTRA
W-A	W-D
F1+F2-A	F1+F2-D
F1-A	F1-D
F1 _L -A	F1 _L -D
F2-A	F2-D
F11+F12-A	F11+F12-D
F13-A	F13-D
F13+F2-A	F13+F2-D

Tras el fraccionamiento, parte de las fracciones se mantuvieron por separado y parte de estas fracciones fenólicas, que pueden reaccionar entre sí en presencia de oxígeno, se mezclaron (Tabla 8). Todas las muestras fueron preparadas con un vino sintético de características similares al vino de partida fraccionado. Las muestras etiquetadas con una D se les aplicó una microoxigenación de 40 mg/L/mes de oxígeno, guardándolas en la cámara de anoxia y las muestras con una A se mantuvieron en anoxia. Al paso de 4 meses, todas las muestras se sacaron de la cámara para realizar los análisis que se explicarán más adelante.

7 Análisis químicos

Antes de realizar los análisis químicos tanto en las mistelas como en las muestras de microoxigenación, estas se filtraron por un filtro de 0,22 nm.

7.1 Índice de polifenoles totales (IPT)

En un matraz aforado de 50 mL se añade 1 mL de muestra, enrasando con agua destilada. Las medidas se realizaron en un espectrofotómetro UV-Vis a 280 nm en cubetas de cuarzo de 1cm.

Previamente, se hizo un blanco usando agua destilada.

Para obtener el valor de IPT se multiplica la A_{280} por el factor de dilución:

$$IPT = A_{280} \times 50$$

7.2 Índice de color (IC)

En esta ocasión no hace falta hacer ninguna dilución. Las muestras se adicionan en cubetas de vidrio de 2 mm. Las medidas se hicieron en un espectrofotómetro UV-Vis, realizando un barrido entre 380-780 nm. Previamente, se hizo una línea base con agua destilada.

Para obtener el valor de IC se usó la siguiente fórmula:

$$IC = (A_{420} + A_{520} + A_{620}) \times 1/\text{paso óptico}$$

→El paso óptico es la longitud de la cubeta usada en centímetros. Al hacer la cuenta, $1/0,2$ nos da 5. Ese 5 es el factor por el que tendremos que multiplicar las medidas para calcular el IC.

7.3 Pigmentos Poliméricos

La determinación de los pigmentos se realiza con el método propuesto por Harbertson. Se basa en la realización de tres medidas diferentes que llamaremos A, B y C. Para ello, se usó un espectrofotómetro a una longitud de onda fija de 520 nm. (*Harbertson, Picciotto & Adams, 2003*)

Medida A:

En una cubeta de plástico se añaden 1 mL de disolución y 2 mL de buffer 1. Como blanco se usó buffer 1.

Medida B:

En las cubetas usadas anteriormente se añaden 160 μ L del reactivo decolorante esperando 10 minutos para poder medir. Como blanco se usó buffer 1.

Medida C:

En tubos Falcon, se añade 2mL de buffer 2 y 1 mL de muestra y se dejan en agitación suave durante 15 minutos. Luego, se llevan a una centrífuga durante 15 minutos a 5000 rpm. Transcurrido el tiempo, se toman 2 mL del sobrenadante de cada tubo llevándolo a cubetas de plástico y se añaden 160 μ L del reactivo decolorante esperando 10 minutos para poder medir. Como blanco se usó buffer 1.

Cálculos: (*Harbertson, Picciotto & Adams, 2003*)

- Los pigmentos monoméricos (MP), se calcula como: (Medida A- medida B) x10.
- Los pigmentos poliméricos pequeños (SPP), se calcula como: (Medida C) x10
- Los pigmentos poliméricos grandes (LPP), se calcula como: (Medida B- medida C) x10

→Este 10 proviene de la dilución 1:10 que se hizo antes de realizar las medidas.

La composición de los buffers usados es la siguiente:

Tabla 8: Composición y concentración de los buffers usados

Nombre del buffer	Descripción
Buffer 1	200 mM de ácido acético 173 mM de cloruro de sodio Ajuste de pH con NaOH concentrado hasta 4,9
Buffer 2	202,6 mM de ácido acético 174,4 mM de cloruro de sodio 1,12 mg/mL de ovoalbúmina

	Ajuste de pH con NaOH concentrado hasta 4,9
Vino sintético	12% de etanol 2,52 g de ácido tartárico Ajuste de pH con NaOH concentrado hasta 3,3
Reactivo decolorante	0,3947 M de metabisulfito potásico 0,3706 M de metabisulfito potásico

Antes de hacer las medidas, se hicieron disoluciones en matraces de 10 mL adicionando 1 mL de muestra y enrasando con el vino sintético realizado anteriormente, cuya composición se puede ver en la Tabla 8.

La disolución de metabisulfito potásico debe realizarse el mismo día que se vayan a hacer las medidas.

8 Resultados y Discusión

8.1 Mistelas

Las mistelas que se usaron para hacer los análisis de los compuestos fenólicos son las mismas que se explican anteriormente en el punto 6.1.1.1

8.1.1 Índice de Polifenoles Totales (IPT)

La tabla 9 muestra los diferentes valores de IPT para las mistelas obtenidas. Se puede ver que las mistelas procedentes del viñedo de alto potencial tienen los valores de IPT mayores que las de bajo potencial, alcanzándose el valor máximo en el último muestreo llamado "fruta madura". En el caso de las mistelas procedentes del viñedo de bajo potencial, el valor máximo de IPT se alcanza en el tercer punto de maduración denominado neutro.

Tabla 9: Resultados de IPT en las mistelas.

MUESTRAS	IPT		DESV
Vegetal B.P	24,7	±	0,1
Vegetal A.P	27,37	±	0,03
F. Fresca B.P	26,92	±	0,13
F. Fresca A.P	30,50	±	0,09
Neutra B.P	29,67	±	0,10
Neutra A.P	26,57	±	0,03
Fruta Madura B.P	29,33	±	0,08
Fruta Madura A.P	34,82	±	0,03
Máximo A.P	34,82		
Máximo B.P	24,7		

Tabla 10: Anova realizado de los IPT para las mistelas de bajo potencial.

MUESTRA	IPT
Vegetal B.P	24,650 d
F. Fresca B.P	26,917 c
Neutra B.P	29,667 a
F. Madura B.P	29,333 b
Pr > F	< 0,0001
Significativo	Sí

Letras diferentes indican que hay diferencia con ($p < 0,05$)

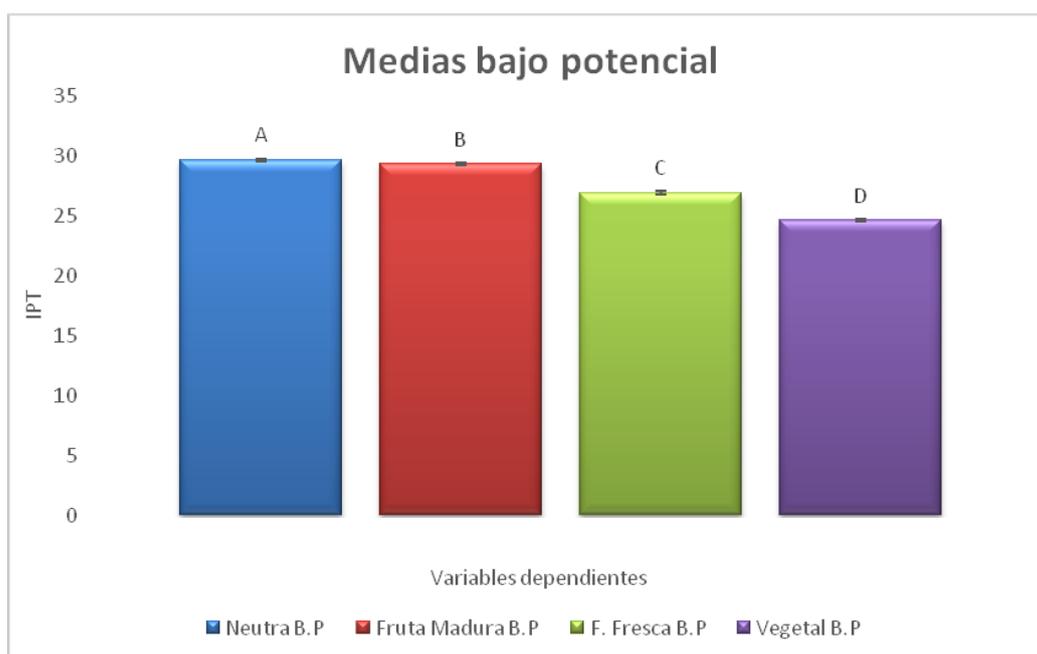


Gráfico 1: Representación de los IPT de las mistelas de bajo potencial.

En el Gráfico 1 y la Tabla 11 se observan diferencias entre los diferentes puntos de maduración en los viñedos de bajo potencial.

Tabla 11: Anova realizado de los IPT para las mistelas de alto potencial.

MUESTRA	IPT
Vegetal A.P	27,367 c
F. Fresca A.P	30,500 b
Neutra A.P	26,567 d
F. Madura A.P	34,817 a
Pr > F	< 0,0001
Significativo	Sí

Letras diferentes indican que hay diferencia con ($p < 0,05$)

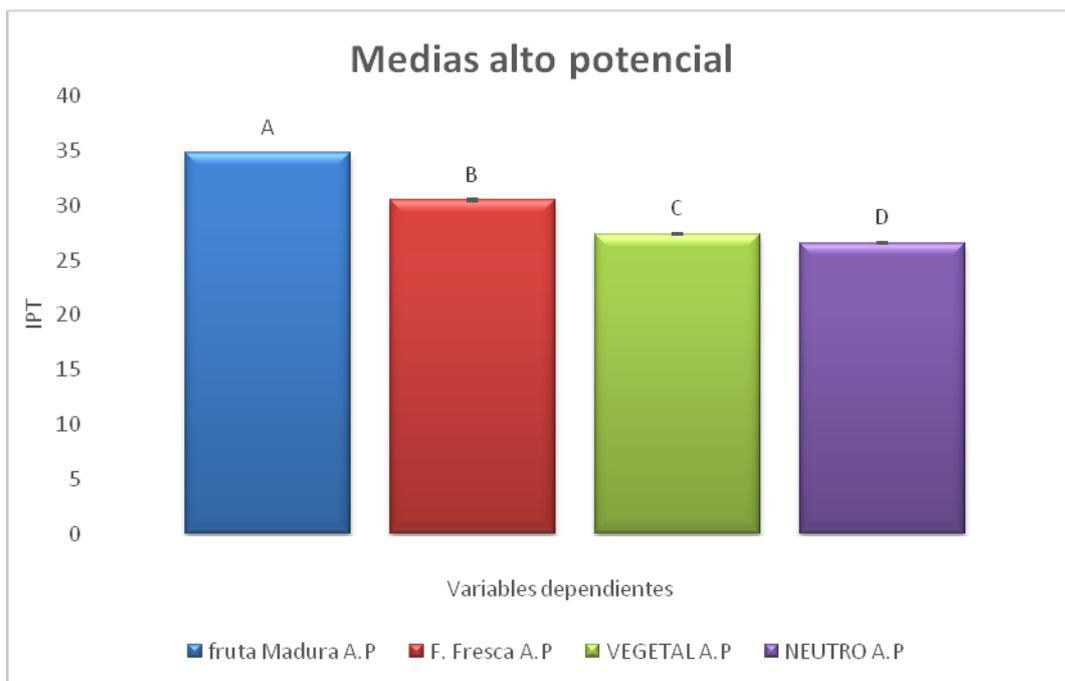


Gráfico 2: Representación de los IPT de las mistelas de bajo potencial.

En el Gráfico 2 y en la Tabla 11 se observan diferencias entre los diferentes puntos de maduración en los viñedos de alto potencial.

8.1.2 Índice de Color (IC)

La tabla 12 expone los valores de IC para cada una de las mistelas. Al igual que en la tabla de IPT, se observa la tendencia de mayor IC en las muestras de alto potencial respecto al de bajo potencial.

Tabla 12: Resultados de IC en las mistelas.

MUESTRA	IC		DES
Vegetal A.P	7,70	±	0,04
Vegetal B.P	5,13	±	0,03
Fruta Fresca A.P	7,683	±	0,004
Fruta Fresca B.P	5,50	±	0,04
Neutra A.P	7,518	±	0,025
Neutra B.P	6,68	±	0,00
Fruta Madura A.P	10,440	±	0,007
Fruta Madura B.P	7,801	±	0,018
Máximo A.P	10,44		
Máximo B.P	7,801		

Tabla 13: Anova realizado del IC para las mistelas de bajo potencial.

MUESTRAS	IC
Vegetal B.P	5,125 d
F. Fresca B.P	5,495 c
Neutra B.P	6,675 b
F. Madura B.P	7,803 a
Pr > F	< 0,0001
Significativo	Sí

Letras diferentes indican que hay diferencia con ($p < 0,05$)

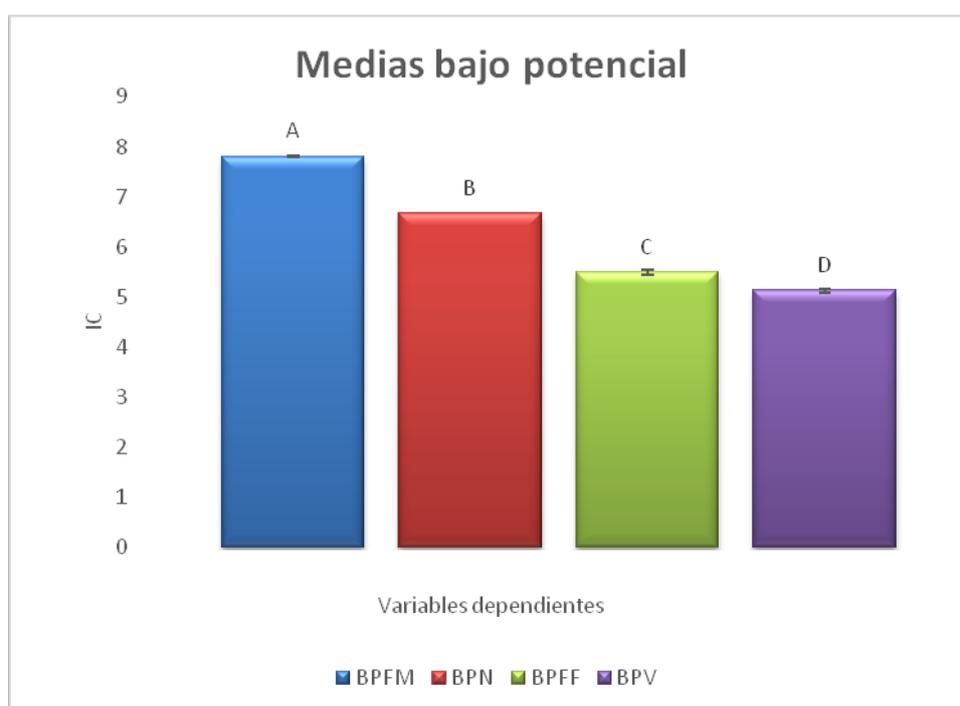


Gráfico 3: Representación del IC de las mistelas de bajo potencial.

Tras observar la Tabla 12 y el Gráfico 3, se ve un aumento del IC en bajo potencial a medida que se incrementa la madurez de la uva.

Tabla 14: Anova realizado del IC para las mistelas de alto potencial.

MUESTRA	IC
Vegetal A.P	7,703 b
F. Fresca A.P	7,683 b
Neutra A.P	7,518 c
F. Fresca A.P	10,440 a
Pr > F	< 0,0001
Significativo	Sí

Letras diferentes indican que hay diferencia con ($p < 0,05$)

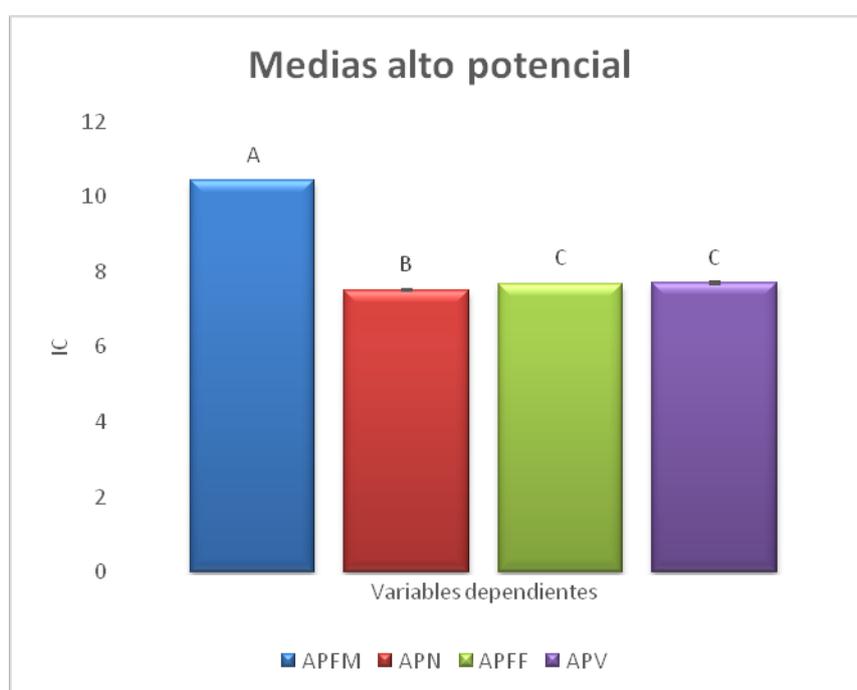


Gráfico 4: Representación de los IC de las mistelas de alto potencial.

Se puede ver en el gráfico 4 un IC prácticamente constante durante las tres primeras semanas de maduración, con un gran aumento en la última semana.

No se observan diferencias significativas en la parcela de alto potencial entre los puntos de maduración vegetal y fruta fresca

8.1.3 Pigmentos

Tabla 15 : Datos de los análisis de pigmentos.

MUESTRA	MP	SPP	LPP	LPP+SPP
VEGETAL B.P	0,325 ±	0.17 ± 0.00	0.11 ± 0.00	0,28 ± 0,00

	0,007			
FRUTA FRESCA B.P	0,350 ± 0,014	0.195 ± 0.007	0.12 ± 0.00	0,315 ± 0,007
NEUTRA B.P	0,44 ± 0,00	0.225 ± 0.007	0.140 ± 0.014	0,365 ± 0,007
FRUTA MADURA B.P	0,320 ± 0,014	0.125 ± 0.007	0.110 ± 0.014	0,235 ± 0,007
VEGETAL A.P	0,605 ± 0,007	0.265 ± 0.007	0.160 ± 0.014	0,425 ± 0,007
FRUTA FRESCA A.P	0,480 ± 0,014	0.245 ± 0.021	0.200 ± 0.014	0,445 ± 0,007
NEUTRO A.P	0,50 ± 0,04	0.215 ± 0.007	0.170 ± 0.014	0,385 ± 0,007
FRUTA MADURA A.P	0,725 ± 0,007	0.215 ± 0.007	0.11 ± 0.00	0,325 ± 0,007
Máximo A.P	0,725	0,265	0,200	0.445
Máximo B.P	0,44	0,225	0,140	0,365

Para este caso dividiremos la discusión en tres puntos:

1. Comparación de parcelas de bajo potencial:

Observando la Tabla 15, los MP van aumentando con el paso del tiempo de maduración menos en fruta madura que descienden.

Viendo la Tabla 16 y el Gráfico 5 no se ven diferencias significativas entre los puntos de maduración fruta fresca y vegetal y entre fruta fresca y fruta madura.

Al observar la tabla 15, los SPP van aumentando con el paso del tiempo de maduración

menos en fruta madura que descienden.

Viendo la Tabla 16 y el Gráfico 5, hay diferencias significativas entre todos los estados de maduración

Al observar la tabla 15, los LPP van aumentando con el paso del tiempo de maduración menos en fruta madura que descienden.

Viendo la Tabla 16 y el Gráfico 5, el valor de p es mayor de 0,05. Por lo tanto, no hay diferencias para los LPP en los diferentes estados de madurez.

En la Tabla 15 se ve que los valores de LPP+SPP van aumentando con el paso del tiempo de maduración menos en fruta madura que descienden.

Viendo la Tabla 16 y el Gráfico 5, hay diferencias significativas entre todos los estados de maduración

2. Comparación de parcelas de alto potencial:

Observando la Tabla 15, los MP bajan su valor entre el estado de madurez vegetal a fruta fresca, siendo muy parecido en neutro y ascendiendo notablemente en fruta madura.

Viendo la Tabla 17 y el Gráfico 6, no hay diferencias entre los estados de madurez fruta fresca y neutra.

Al observar la tabla 15, los SPP van descendiendo a medida que pasa el tiempo, manteniéndose constante entre neutro y fruta madura.

Viendo la Tabla 17 y el Gráfico 6, no hay diferencias significativas entre los estados de madurez fruta fresca y vegetal ni entre fruta fresca, neutro y fruta madura.

Al observar la tabla 15, los LPP aumentan de vegetal a fruta fresca, disminuyendo al pasar a neutro, siguiendo bajando en fruta madura.

Viendo la Tabla 17 y el Gráfico 6, no hay diferencias entre el estado de madurez fruta fresca y neutro y ni entre vegetal y neutro.

Al observar la tabla 15, los valores de LPP+SPP aumentan del estado de madurez vegetal a fruta fresca, descendiendo en neutro y en fruta madura.

Viendo la Tabla 17 y el Gráfico 6, hay diferencias entre todos los estados de madurez.

3. Comparación entre las parcelas de bajo y alto potencial

Observando la Tabla 15, se ve que los MP de las mistelas realizadas a partir de las uvas procedentes de viñedos de alto potencial son mayores que los de bajo potencial, lo que indica que son mistelas con un mayor contenido en antocianos que las mistelas provenientes de parcelas de bajo potencial.

Como se ve en la Tabla 15, los SPP de las mistelas hechas a partir de las uvas procedentes de viñedos de alto potencial son mayores que los de bajo potencial excepto en el punto de maduración neutro, en el que el valor de bajo potencial es superior.

En la Tabla 15 se ve que los LPP de las mistelas hechas a partir de las uvas procedentes de viñedos de bajo potencial son menores que los de alto potencial excepto en fruta madura que son iguales.

En la Tabla 15 se ve que los valores de LPP+SPP de las mistelas realizadas a partir de las uvas procedentes de viñedos de bajo potencial son en todos los casos menores que en alto potencial.

Tabla 16: Datos de las medias y posterior agrupamiento de pigmentos poliméricos de bajo potencial.

MUESTRA	MP	LPP	SPP	LPP+SPP
Vegetal B.P	0,325 bc	0,110 b	0,170 c	0,280 c
F.Fresca B.P	0,350 b	0,120 ab	0,195 b	0,315 b
Neutra B.P	0,440 a	0,140 a	0,225 a	0,365 a
F.Madura B.P	0,320 c	0,110 b	0,125 d	0,235 d
Pr > F	0,001	0,107	0,000	0,000
Significativo	Sí	No	Sí	Sí

Letras diferentes indican que hay diferencia con ($p < 0,05$)

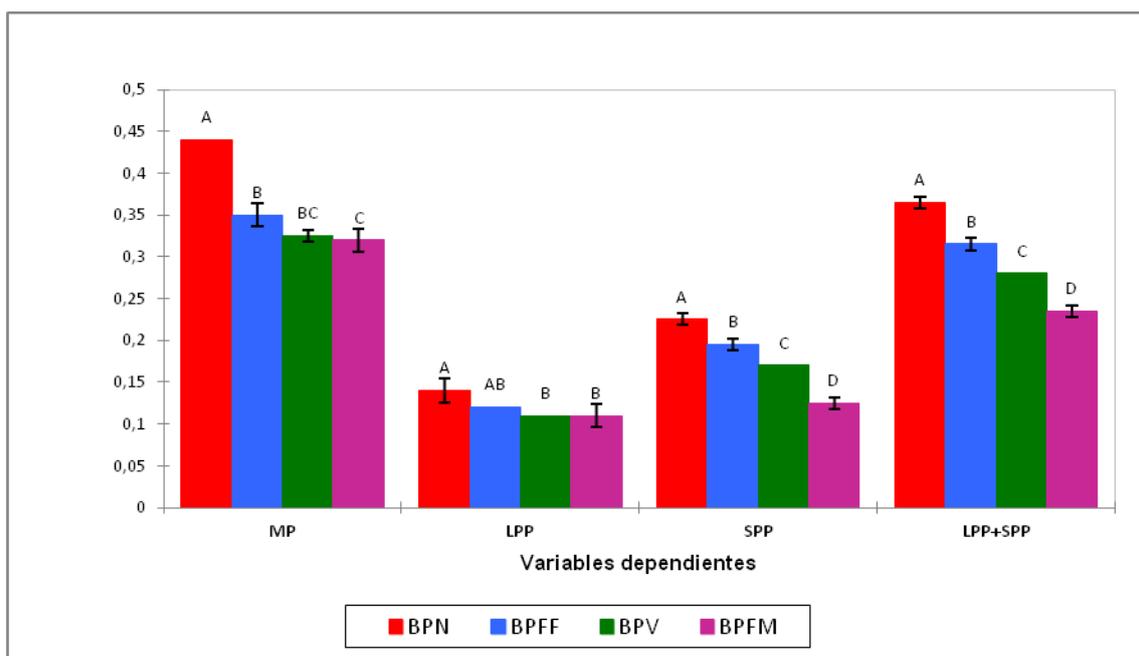


Gráfico 5: Representación de las medias de pigmentos poliméricos de bajo potencial.

Tabla 17: Datos de las medias y posterior agrupamiento de pigmentos poliméricos de alto potencial.

MUESTRA	MP	LPP	SPP	LPP+SPP
Vegetal A.P	0,605 b	0,160 b	0,265 a	0,425 b
F. Fresca A.P	0,480 c	0,200 a	0,245 ab	0,445 a
Neutra A.P	0,495 c	0,170 ab	0,215 b	0,385 c

F. Madura A.P	0,725 a	0,110 c	0,215 b	0,325 d
Pr > F	0,001	0,008	0,036	0,000
Significativo	Sí	Sí	Sí	Sí

Letras diferentes indican que hay diferencia con ($p < 0,05$)

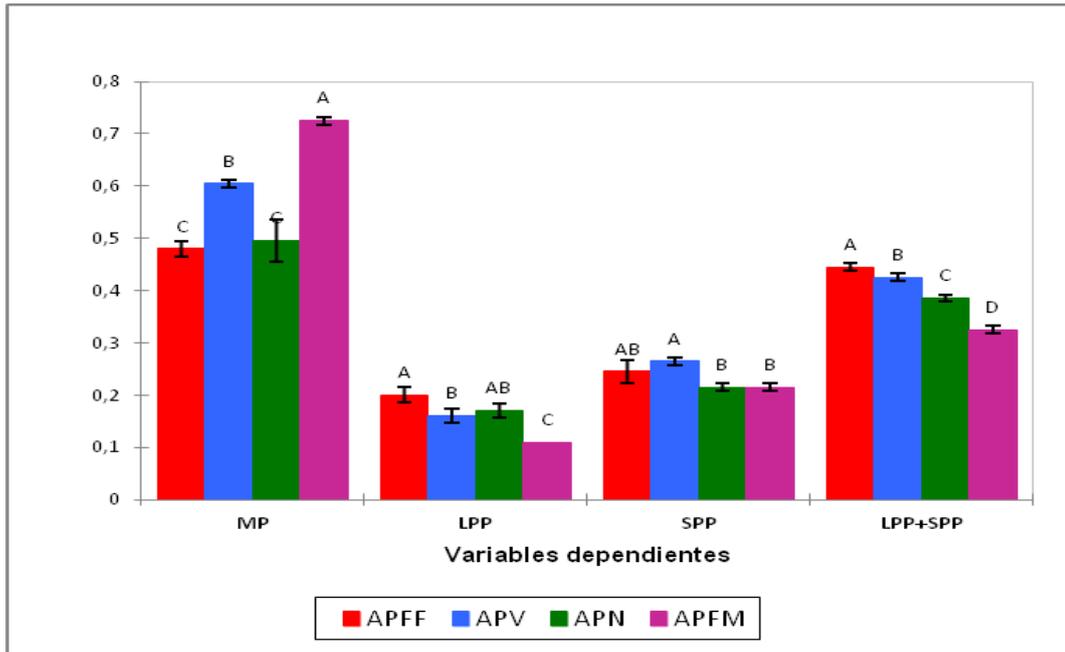


Gráfico 6 : Representación de las medias de pigmentos poliméricos de alto potencial.

8.2 Microoxigenación

Las muestras que se usaron para la microoxigenación son las descritas en el punto 6.1.2.1, nombradas igual que en la Tabla 8.

8.2.1 Índice de Polifenoles Totales (IPT)

Tabla 18: Datos de IPT para las muestras de microoxigenación y anoxia

MUESTRA	IPT
W-D	56,10 ± 0,16
F1+F2_D	48,1 ± 0,3
F1_D	44,1 ± 0,7
F1L_D	20,51 ± 0,05
F2_D	20,45 ± 0,09
F11+F12_D	6,45 ± 0,17
F13_D	14,25 ± 0,12
F13+F2_D	23,84 ± 0,16
W-A	66,3 ± 0,4
F1+F2_A	61,04 ± 1,00
F1_A	47,1 ± 0,7
F1L_A	25,5 ± 0,9
F2_A	17,9 ± 0,5
F11+F12_A	6,44 ± 0,16
F13_A	18,0 ± 0,5
F13+F2_A	36,54 ± 0,19

D: muestras microoxigenadas, A: muestras en anoxia

Observando el Gráfico 7 y la Tabla 18, se ve un mayor valor de IPT en aquellas muestras que han permanecido en anoxia exceptuando la muestra F11+F12, que se mantiene muy similar y en F2, donde el valor de IPT de la muestra microoxigenada es mayor que la que estuvo en anoxia.

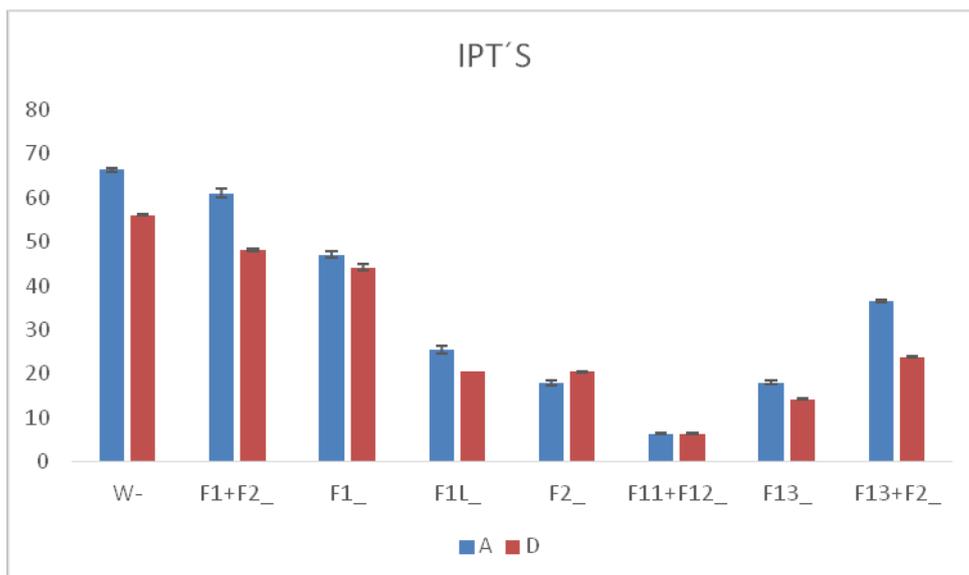


Gráfico 7: Representación de los IPT de las muestras mantenidas en condiciones de microoxigenación y de anoxia.

Tabla 19: Datos de las medias y agrupamiento de las muestras de microoxigenación y de anoxia.

MUESTRA	IPT
W-A	66.325 a
F1+F2_A	61.038 b
W-D	56.100 c
F1+F2_D	48.113 d
F1_A	47.100 e
F1_D	44.138 f
F13+F2_A	36.538 g
F1L_A	25.525 h
F13+F2_D	23.838 i
F1L_D	20.513 j
F2_D	20.450 j
F13_A	17.950 k
F2_A	17.913 k
F13_D	14.250 l
F11+F12_D	6.450 m
F11+F12_A	6.438 m
Pr > F	< 0,0001
Significativo	Sí

Letras diferentes indican que hay diferencia con ($p < 0,05$)

Como se ve en la tabla 20, sólo en F11+F12 no hay diferencias significativas si se mantiene en anoxia o se añade oxígeno. Para el resto de muestras si se ven cambios en la composición polifenólica.

La muestra W se corresponde con el vino real sin fraccionar, y es la que mayor cantidad de IPT. La muestra con los IPT más bajos respecto al vino real se corresponde con F11+F12, mientras que la muestra que ha sufrido un menor cambio respecto al vino de partida ha sido F1+F2.

8.2.2 Índice de Color (IC)

Tabla 20: Resultados de IC de las muestras de microoxigenación y de anoxia.

MUESTRA	IC
W-A	11,07 ± 0,05
F1+F2_A	10,638 ± 0,025
F1_A	9,888 ± 0,005
F1L_A	7,54 ± 0,13
F2_A	1,36 ± 0,03
F11+F12_A	0,25 ± 0,04
F13_A	6,27 ± 0,03
F13+F2_A	7,98 ± 0,04
W-D	8,91 ± 0,11
F1+F2_D	7,08 ± 0,09
F1_D	8,219 ± 0,023
F1L_D	5,67 ± 0,03
F2_D	2,85 ± 0,12
F11+F12_D	0,805 ± 0,022
F13_D	5,043 ± 0,019
F13+F2_D	4,88 ± 0,06

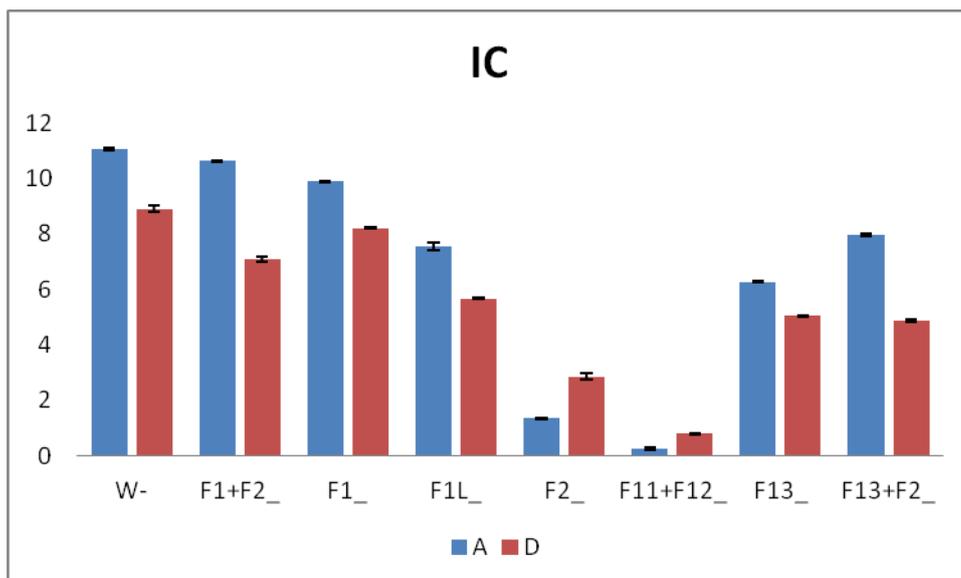


Gráfico 8: Representación de IC de las muestras mantenidas en condiciones de microoxigenación y de anoxia.

El comportamiento que siguen las muestras es muy similar respecto al Gráfico 7, Hay un aumento de color en las muestras F11+F12 y F2 que han estado en presencia de oxígeno porque hay un aumento de la absorbancia a 420 nm debido a la polimerización de flavanoles y taninos, incrementando el color amarillo.

Tabla 21: Datos de las medias y agrupamiento de las muestras de microoxigenación y de anoxia.

MUESTRA	IC
W-A	11.073 a
F1+F2_A	10.638 b
F1_A	9.887 c
W-D	8.909 d
F1_D	8.219 e
F13+F2_A	7.983 f
F1L_A	7.536 g
F1+F2_D	7.080 h
F13_A	6.270 i
F1L_D	5.669 j
F13_D	5.043 k
F13+F2_D	4.875 l
F2_D	2.851 m
F2_A	1.361 n
F11+F12_D	0.805 o
F11+F12_A	0.252 p
Pr > F	< 0,0001
Significativo	Sí

Letras diferentes indican que hay diferencia con ($p < 0,05$)

Como se puede ver en la tabla 21, hay diferencias significativas entre las muestras que han permanecido en anoxia y las que han sufrido una microoxigenación.

Viendo la Tabla 20 y el Gráfico 8, W, que es la muestra del vino real es la que tiene un mayor valor de IC. El menor cambio de IC en las muestras que han estado en anoxia corresponde a F1+F2, mientras que en las muestras que han sufrido una microoxigenación F1 es la que ha sufrido un menor cambio.

La muestra que menor valor de IC tiene tanto para aquellas que han estado en anoxia como para las que han estado en contacto con el oxígeno ha sido F11+F12.

8.2.3 Pigmentos:

Tabla 22: Resultados de pigmentos poliméricos de las muestras de microoxigenación y de anoxia.

MUESTRA	MP	LPP	SPP	LPP+SPP
W-A	0,77± 0,02	0,42± 0,03	0,44± 0,03	0,853± 0,013
F1+F2_A	0,73± 0,05	0,42± 0,05	0,398± 0,015	0,82± 0,06
F1_A	0,69± 0,04	0,315± 0,013	0,445± 0,006	0,760± 0,018
F1L_A	0,51± 0,04	0,178± 0,005	0,313± 0,021	0,490± 0,018
F2_A	0,083± 0,019	0,12± 0,03	0,030± 0,008	0,145± 0,024
F11+F12_A	0,000± 0,008	0,010± 0,016	0,025± 0,017	0,035± 0,006
F13_A	0,508± 0,013	0,135± 0,006	0,278± 0,022	0,413± 0,021
F13+F2_A	0,63± 0,05	0,30± 0,04	0,29± 0,03	0,585± 0,006
W-D	0,500± 0,018	0,400± 0,022	0,36± 0,01	0,758± 0,021
F1+F2_D	0,39± 0,03	0,32± 0,03	0,260± 0,008	0,58± 0,03
F1_D	0,470± 0,016	0,348± 0,013	0,33± 0,01	0,680± 0,012
F1L_D	0,368± 0,015	0,20± 0,01	0,210± 0,008	0,41± 0,01
F2_D	0,133± 0,021	0,585± 0,021	0,028± 0,005	0,613± 0,025
F11+F12_D	0,058± 0,015	0,013± 0,015	0,033± 0,005	0,045± 0,013
F13_D	0,358± 0,005	0,185± 0,006	0,175± 0,006	0,36± 0,00
F13+F2_D	0,333± 0,019	0,260± 0,018	0,135± 0,017	0,40± 0,01

Tabla 23: Datos de las medias y agrupamiento de las muestras de Mox.

MUESTRA	MP	LPP	SPP	LPP+SPP
W-A	0.770 a	0.415 b	0.438 a	0.853 a
F1+F2_A	0.730 b	0.423 b	0.398 b	0.820 b
F1_A	0.688 c	0.315 d	0.445 a	0.760 c
W-D	0.500 ef	0.400 b	0.358 c	0.758 c
F1_D	0.470 f	0.348 c	0.333 d	0.680 d
F13+F2_A	0.628 d	0.295 d	0.290 ef	0.585 ef
F1+F2_D	0.393 g	0.318 cd	0.260 g	0.578 f
F1L_A	0.513 e	0.178 f	0.313 de	0.490 g
F2_D	0.133 i	0.585 a	0.027 k	0.613 e
F13_A	0.508 ef	0.135 g	0.278 fg	0.413 h
F1L_D	0.368 gh	0.203 f	0.210 h	0.413 h
F13+F2_D	0.333 h	0.260 e	0.135 j	0.395 h
F13_D	0.358 gh	0.185 f	0.175 i	0.360 i
F2_A	0.082 j	0.115 g	0.030 k	0.145 j
F11+F12_D	0.057 j	0.013 h	0.033 k	0.045 k
F11+F12_A	0.000 k	0.010 h	0.025 k	0.035 k
Pr > F	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001
Significativo	Sí	Sí	Sí	Sí

Letras diferentes indican que hay diferencia con ($p < 0,05$)

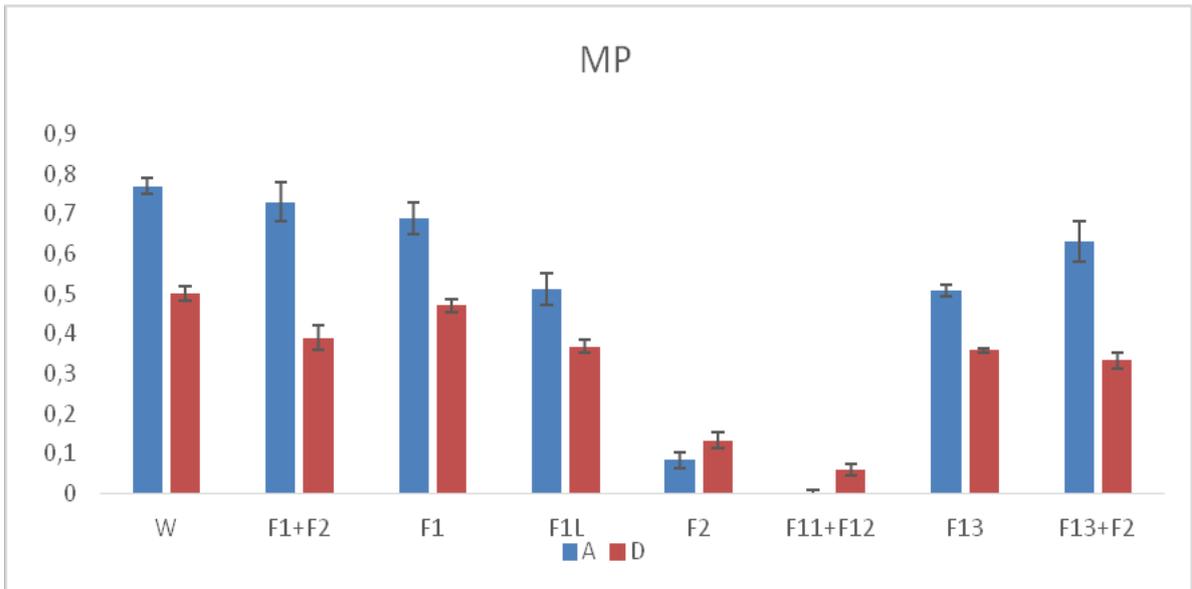


Gráfico 9: Representación de MP de las muestras de microoxigenación y de anoxia.

En el Gráfico 9 se puede ver que quitando en F2 y en F11+F12, la cantidad de pigmentos monoméricos es mayor en las muestras que han permanecido en anoxia. Este resultado es similar al visto en los gráficos de IPT y de IC.

Observando la Tabla 23, se ve que para los MP hay diferencias significativas entre las muestras que han estado en anoxia frente a las que han sufrido una microoxigenación.

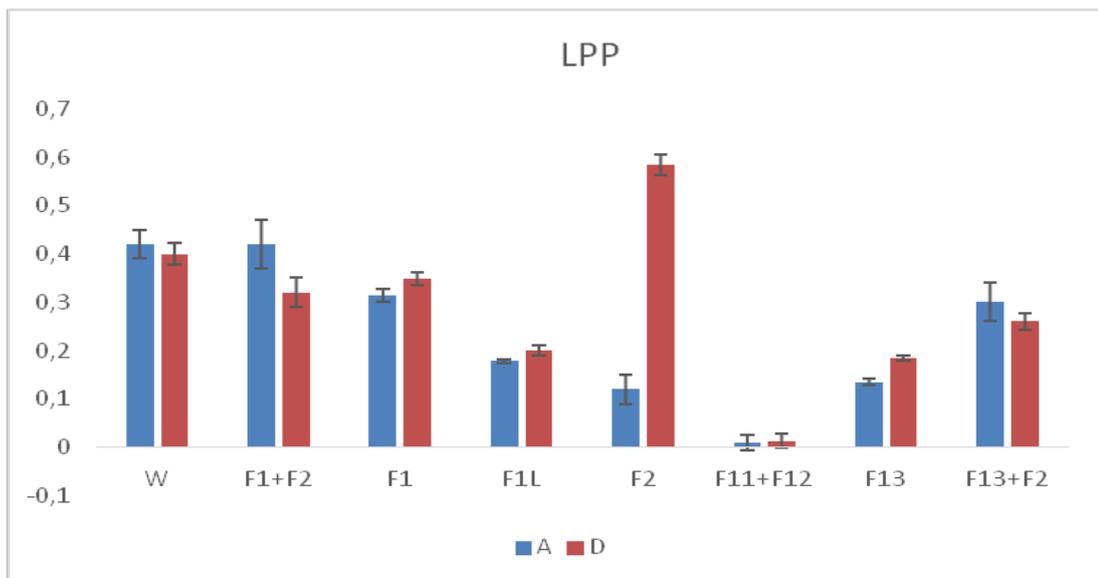


Gráfico 10: Representación de LPP para las muestras de microoxigenación y de anoxia.

Observando el Gráfico 10 y la Tabla 22, se ve que el valor de LPP en las muestras F1, F1_L, F2, F11+F12 Y F13 es mayor en las muestras que han sufrido una microoxigenación frente a las que han estado en anoxia.

Viendo la Tabla 23, se ve que hay diferencias entre las muestras que han estado en anoxia frente a las que han sufrido una microoxigenación, excepto para las muestras W, F1_L y F11+F12 donde no hay diferencias.

Siendo W el vino real sin fraccionar, analizando la Tabla 22 se ve que en anoxia junto a la muestra F1+F2 son las que tienen un valor de LPP mientras que en las muestras que han sufrido microoxigenación, el valor más alto de LPP es el correspondiente a la muestra F2. Esto es debido a que esta muestra está compuesta por los flavanoles poliméricos, que en presencia de oxígeno sufren reacciones de polimerización.

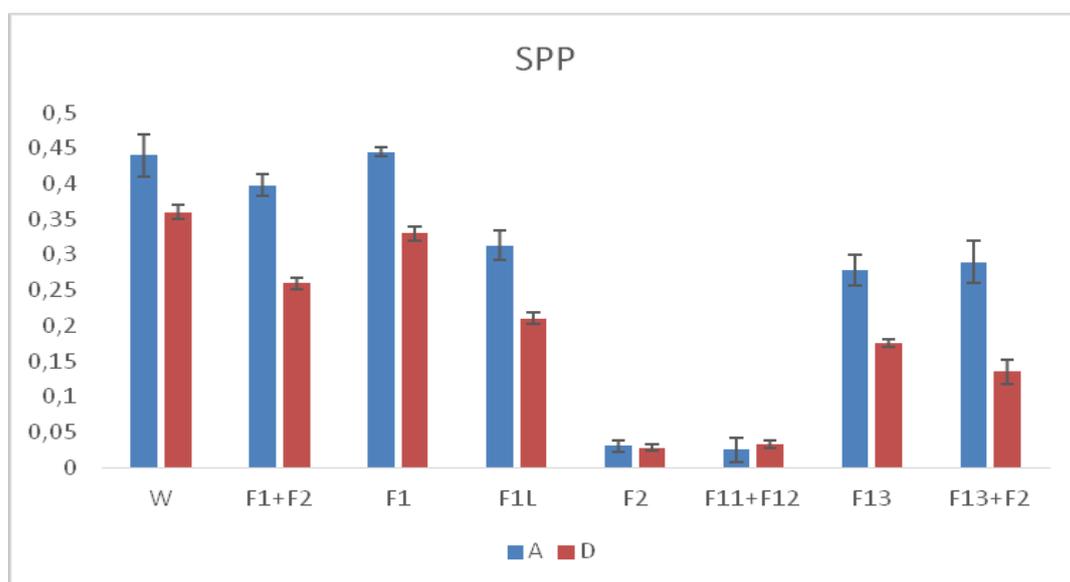


Gráfico 11: Representación de los datos de SPP de las muestras de microoxigenación y de anoxia.

Viendo el Gráfico 11, lo primero que se observa es que la cantidad de SPP es superior en las muestras que han estado en anoxia, excepto en F11+F12 donde el aumento es muy leve, respecto a las que se les adicionó oxígeno.

Tras ver la Tabla 23, se observan diferencias significativas entre las muestras que han estado en anoxia frente a las que han sufrido una microoxigenación, excepto entre las muestras F2 y F11+F12.

Siendo W el vino real sin fraccionar, observando la Tabla 22 y el Gráfico 11 se ve que para las muestras que han estado en anoxia el máximo valor de SPP

corresponde con la muestra F1 mientras que en las muestras que han estado en presencia de oxígeno, la muestra W es la que tiene un mayor valor de SPP.

El menor valor de SPP para las muestras que han estado en anoxia es la muestra F11+F12 mientras que para las muestras que han sufrido microoxigenación el valor más bajo es el de la muestra F2.

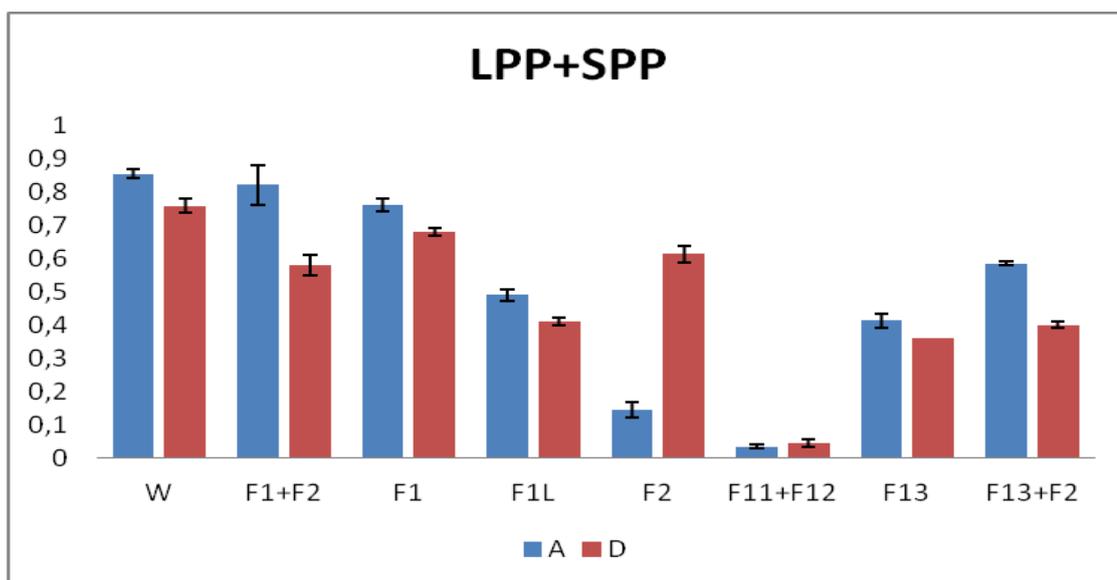


Gráfico 12: Representación de LPP+SPP de las muestras de Mox.

Observando el Gráfico 12 se llega a la conclusión que excepto en F2 y en F11+F12, la suma de LPP+SPP es mayor en las muestras que se guardaron en anoxia.

Tras ver la Tabla 23, se ve que hay diferencias entre las muestras que permanecieron en anoxia frente a las que han estado en presencia de oxígeno, excepto en la muestra F11+F12, donde no se vieron diferencias.

Siendo W el vino real sin fraccionar, viendo el Gráfico 12 y la Tabla 22 se observa que para la muestra W el valor de la suma de LPP+SPP es el más alto tanto en las muestras de anoxia como en las que ha habido una microoxigenación. El valor que menos varía respecto al vino de partida es la muestra F1+F2 en anoxia mientras que la muestra F1 al trabajar en la microoxigenación.

Sin embargo, la muestra en la que más variación hay tanto al trabajar en anoxia como en microoxigenación es F11+F12.

9 Conclusiones

- En la mayoría de los parámetros determinados en este estudio y relacionados con la composición fenólica, existen diferencias significativas entre las mistelas provenientes de parcelas de alto potencial respecto a los de bajo potencial vitivinícola.
- Las muestras procedentes de los últimos muestreos en ambas parcelas son las que mostraron un mayor índice de color (IC)
- De acuerdo con la información obtenida de los análisis realizados, la parcela de alto potencial, sería más adecuada realizar la vendimia en el 4º punto de madurez (punto de madurez denominado Fruta madura) mientras que en la parcela de bajo potencial podría ser vendimiada en el 3º muestreo realizado punto de madurez denominado Neutro)
- El aporte de oxígeno provoca una disminución de los pigmentos procedentes de la uva (MP) que las muestras mantenidas en anoxia.
- Respecto a los pigmentos poliméricos, se pueden diferenciar los pigmentos poliméricos pequeños (SPP) presentes en menor cantidad en las muestras microoxigenadas y los pigmentos poliméricos grandes (LPP) en concentraciones muy similares en las muestras microoxigenadas y en las muestras de anoxia.
- Se confirma la formación de Pigmentos tanto en anoxia como en condiciones de microoxigenación.

10 Bibliografía

(<http://sensing.konicaminolta.com.mx/2014/09/entendiendo-el-espacio-de-color-cielab/>)

Blanco, D. (2013). Formación y evolución de pigmentos de tipo piranoantociano en la elaboración de vinos tintos y rosados.

Casassa, F., & Catania, C. (2006). PIRANOANTOCIANOS, NUEVOS PIGMENTOS EN LOS VINOS TINTOS Aspectos científicos e implicancias tecnológicas. *Revista Enología*, (3)

Revelette, M., Kennedy, J., & Yacco, R. (2015). Stickiness: New concept in grape and wine tannin analysis. *Practical Winery & Vineyard*, 32-37. Retrieved from http://www.researchgate.net/publication/270581769_Stickiness_New_concept_in_grape_and_wine_tannin_

Casassa, L. and Harbertson, J. (2013). El efecto de la matriz del vino en la extracción de taninos durante la maceración y la percepción de astringencia. *treceGRADOS*, [online] pp.22-31. Available at: <https://www.researchgate.net/publication/259581900>.

De Freitas, V., & Glories, Y. (1999). Concentration and compositional changes of procyanidins in grape seeds and skin of white *Vitis vinifera* varieties. *Journal Of The Science Of Food And Agriculture*, 1601-1606.

Durán O., D., & Trujillo N., Y. (2008). ESTUDIO COMPARATIVO DEL CONTENIDO FENÓLICO DE VINOS TINTOS COLOMBIANOS E IMPORTADOS. *VITAE, REVISTA DE LA FACULTAD DE QUÍMICA FARMACÉUTICA*, (15), 17-24.

Extracción en Fase Sólida EFS-SPE. Retrieved from http://www.cromlab.es/EFSS_Principal.htm

García-Martínez, E., Fernández-Segovia, I., & Fuentes-López, A. *Determinación de polifenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu Apellidos*, [Ebook]. Valencia.

Retrieved from

<https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/52056/Garcia%20Mart%C3%ADnez%20et%20al.pdf?sequence=1>

Gawel, R. (1998). Red wine astringency: a review. *Australian Journal Of Grape And Wine Research*, (4), 74-95.

Glories (1999) Substances responsables de l' astringence, de l' amertume et de la couleur des vins. En "La dégustation". J.Inter. Vigne-Vin, N° Hors de se´rie, 115-118.)

Ma, W., Guo, A., Zhang,, Y., Wang, H., Liu, Y., & Li, H. (2014). A review on astringency and bitterness perception of tannins in wine. *Food Science & Technology*, 6-19.

Gómez-Plaza, E. and Cano-López, M. (2011). A review on micro-oxygenation of red wines: Claims, benefits and the underlying chemistry. *Food Chemistry*, (125), pp.1131-1140.

González-del Pozo, A., Arozarena, Í., Noriega, M., Navarro, M. and Casp, A. (2010). Short- and long-term effects of micro-oxygenation treatments on the colour and phenolic composition of a Cabernet Sauvignon wine aged in barrels and/or bottles. *European Food Research and Technology*, (231), pp.589-601.

Harbertson, J., & Spayd, S. (2006). Measuring Phenolics in the Winery. *American Journal Of Enology And Viticulture*, (57:3), 280-288.

Harbertson, J., Mireles, M., & Yu, Y. (2015). Improvement of BSA Tannin Precipitation Assay by Reformulation of Resuspension Buffer. *American Journal Of Enology And Viticulture*, (66:1), 95-99.

Harbertson, J., Picciotto, E., & Adams, D. (2003). Measurement of polymeric pigments in grape Berry extracts and wines using a protein precipitation assay combined with bisulfite bleaching. *American Journal Of Enology And Viticulture*, (54:4), 301-306.

Hermosín, I. (2007). Copigmentación y piranoantocianos: el papel de los flavonoles y los ácidos hidroxicinámicos en el color del vino tinto. *ACE Revista De Enología*.

Retrieved from http://www.acenologia.com/ciencia81_2.htm

<http://www.teknokroma.es/UserFiles/Filtracion/682.pdf>

http://www4.ujaen.es/%7Emjayora/docencia_archivos/Quimica%20analitica%20ambiental/Tema6.pdf

https://www.researchgate.net/publication/282611830_Ensenanza_participativa_de_la_a_signatura_Bioproducto

Ibars, Ardid-Ruiz, Suárez, Muguerza, Bladé, & Aragonès. (2017). Proanthocyanidins potentiate hypothalamic leptin/STAT3 signalling and Pomc gene expression in rats with diet-induced obesity. *International Journal Of Obesity*, 129-136.

King, G.A.; Sweeney, J.C. Radford, T. Y Lacobucci, G.A. (1980). The ascorbic/O₂ degradation of anthocyanidins. *Bull.Liaison Groupe Polyphenols.*, 9, p. 121-128.

Martínez de Toda Fernández, F. (2002). Viticultura de calidad: factores que afectan al contenido de compuestos fenólicos. *ACE Revista de Enología*. [online] Available at: http://www.acenologia.com/ciencia59_1.htm

Mirabeu, M., Saucier, C., Guerra, C., & Glories, Y. (1999). Copigmentation in Model Wine Solutions: Occurrence and Relation to Wine Aging. *American Society For Enology And Viticulture*, 211-218.

Mouls, L., & Fulcrand, H. (2012). UPLC-ESI-MS study of the oxidation markers released from tannin depolymerization: toward a better characterization of the tannin evolution over food and beverage processing. *Journal Of Mass Spectrometry*, (47), 1450-1457. Retrieved from <http://doi.org/10.1002/jms.3098>

Pascualetti, G., Romano, R., García, L., & Manzano, H. *Diferenciación Varietal por Medio del Espacio CIELab simplificado de vinos tintos monovarietales* [Ebook].

Mendoza

Pérez-Magariño, S., & González-Sanjosé, M. (2003). Application of absorbance values used in wineries for estimating CIELAB parameters in red wines. *Food Chemistry*, (81), 301-306.

Picariello, L., Gambuti, A., Picariello, B., & Moio, L. (2017). Evolution of pigments, tannins and acetaldehyde during forced oxidation of red wine: Effect of tannins addition. *Food Science And Technology*, 370-375.

Principales países productores de vino en el mundo 2017 | Ranking. Retrieved from <https://es.statista.com/estadisticas/511879/produccion-del-vino-en-el-mundo-por-pais/>
Radiografía del sector del vino en España - Blog Solunion. (2018). Retrieved from <https://www.solunion.es/blog/radiografia-del-sector-del-vino-en-espana/>

- PROANTOCIANIDINAS en IQB. (2014). Retrieved from <http://www.iqb.es/monografia/fichas/proantocianina.htm>
- Ribéreau-Gayon, P. (2006). *The chemistry of wine*. Chichester: Wiley.
- Rivero-Pérez, M., González-Sanjosé, M., Muñiz, P. and Pérez-Magariño, S. (2008). Antioxidant profile of red-single variety wines microoxygenated before malolactic fermentation. *Food Chemistry*, (111), pp.1004-1011.
- Sáenz-Navajas, M., Avizcuri, J., Ferreira, V., & Fernández-Zurbano, P. (2012). Insights on the chemical basis of the astringency of Spanish red wines. *Food Chemistry*, (134), 1484-1493. Ertan Anli, R., & Algan Cavuldak, Ö. (2012). A review of microoxygenation application in wine, (118), 368-385.
- Sáenz-Navajas, M., Avizcuri, J., Ferrero-del-Teso, S., Valentin, D., Ferreira, V. and Fernández-Zurbano, P. (2017). Chemo-sensory characterization of fractions driving different mouthfeel properties in red wines. *Food Research International*, (94), pp.54-64
- Sáenz-Navajas, M., Ferreira, V., Dizy, M. and Fernández-Zurbano, P. (2010). Characterization of taste-active fractions in red wine combining HPLC fractionation, sensory analysis and ultra performance liquid chromatography coupled with mass spectrometry detection. *Analytica Chimica Acta*, (673), pp.151-159.
- San Martín-Larrasoña, M. (2010). MICROOXIGENACIÓN: EVOLUCIÓN POLIFENÓLICA A CORTO-MEDIO PLAZO. Retrieved from <http://academica.e.unavarra.es/bitstream/handle/2454/1969/577154.pdf?sequence=1>
- Sartini, E., Arfelli, G., Fabiani, A. and Piva, A. (2007). Influence of chips, lees and micro-oxygenation during aging on the phenolic composition of a red Sangiovese wine. *Food Chemistry*, (104), pp.1599-1604.
- Somers, T. (1968). Pigment profiles of grapes and of wines. *Vitis*, (7), 303-320.
- Somers, T. (1971). Polymeric nature of wine pigments. *Phytochemistry*, (10), 2175-2186. Morata, A., Calderón, F., González, M., Gómez-Cordovés, M., & Suárez, J. (2007). Formation of the highly stable pyranoanthocyanins (vitisins A and B) in red

wines by the addition of pyruvic acid and acetaldehyde. *Food Chemistry*, (100), 1144-1152.

Vázquez-Flores, A., Alvarez-Parrilla, E., López-Díaz, J., Wall-Medrano, A., & De La Rosa, L. (2012). Taninos hidrolizables y condensados: naturaleza química, ventajas y desventajas de su consumo. *TECNOCIENCIA Chihuahua*, 84-93.

Versari, Parpinello, & Mattioli. (2007). Characterisation of Colour Components and Polymeric Pigments of Commercial Red Wines by Using Selected UV-Vis Spectrophotometric Methods. Retrieved from <http://www.sawislibrary.co.za/dbtextimages/41483.pdf>

Vicente, C. (2010). Retrieved from https://www.researchgate.net/publication/282611830_Ensenanza_participativa_de_la_a_signatura_Bioproductos

Vidal, S., Cartalade, D., Souquet, J., Fulcrand, H. and Cheynier, V. (2002). Changes in Proanthocyanidin Chain Length in Winelike Model Solutions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, (50), pp.2261-2266.

Wollmann, N., & T. Hofmann. 2013. Compositional and sensory characterization of red wine polymers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 61:2045-2061.

Zamora-Marín, F. (2013). La química del color del vino. *ACE Revista de Enología*.. [online] Available at: http://www.acenologia.com/cienciaytecnologia/quimica_color_vino_cienc1213.htm

