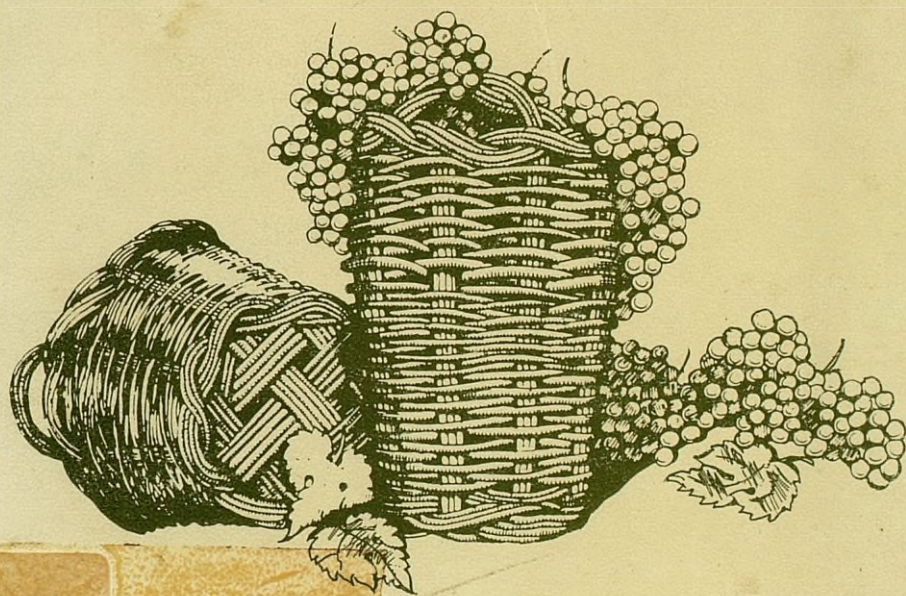


V JORNADAS UNIVERSITARIAS DE VITICULTURA Y ENOLOGIA EN JEREZ

Junio-Julio 1989



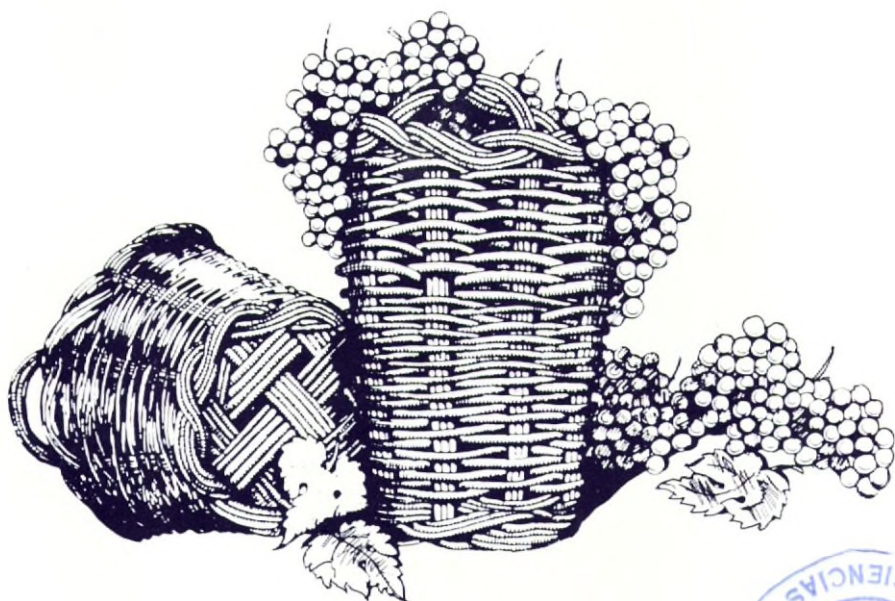
SERVICIO DE PUBLICACIONES
UNIVERSIDAD DE CADIZ

663.2
JOR

13.311

V JORNADAS UNIVERSITARIAS DE VITICULTURA Y ENOLOGIA EN JEREZ

Junio-Julio 1989



DEPARTAMENTO DE INGENIERIA QUIMICA
Facultad de Ciencias

SERVICIO DE PUBLICACIONES
UNIVERSIDAD DE CADIZ



xx

UNIVERSIDAD DE CADIZ



3700319300

V JORNADAS UNIVERSITARIAS DE VITICULTURA Y ENOLOGIA EN JEREZ

Organizadas por el Departamento de Ingeniería Química de la Facultad de Ciencias de
la Universidad de Cádiz y patrocinadas por las O.I.V.



Junio-Julio 1989

Salón de Grados de la Facultad de Derecho
de la Universidad de Cádiz
Jerez (Cádiz)

Entidades colaboradoras:

- Universidad de Cádiz.
- Consejería de Educación y Ciencia de la Junta de Andalucía.
- Consejo Regulador de la Denominación de Origen Jerez-Xérès-Sherry y Manzanilla de Sanlúcar.
- FEDEJEREZ.
- Caja de Ahorros de Cádiz.
- Caja de Ahorros de Jerez.
- Cámara de Comercio de Jerez.

I.S.S.N.: 0214-9788

D.L.: CA-717/91

JIMENEZ-MENA, artes gráficas, s.l.

Pol. Ind. Zona Franca. C/ La Línea de la Concepción, s/n. Cádiz

INDICE

| | <u>Páginas</u> |
|--|----------------|
| PRESENTACION DE LAS JORNADAS | |
| Prof. Miguel Angel Galán Serrano | 13 |
| CONFERENCIAS PLENARIAS | |
| — Los compuestos fenólicos en los vinos y su evolución. <i>Prof. Dr. L. Usseglio Tomasset</i> | 19 |
| — La legislación Vitivinícola: Panorama general. <i>Prof. Dr. D. José Luis García Ruiz y D. F. Luis Bretón</i> | 39 |
| COMUNICACIONES SOBRE VITICULTURA | |
| — Herbicidas naturales en la vid: Actividad alelopática sobre <i>Amarantus retroflexus</i> . <i>J.C. García Galindo, F.A. Macías, G.M. Massanet, F. Rodríguez Luis</i> | 83 |
| — Seguimiento de distintas podas de formación en Jerez. <i>C. Pemán, G. Rascón</i> | 93 |
| — Comportamiento vitícola de nuevas variedades de vid obtenidas por cruzamiento. <i>B. Puertas, M. Lara,, A. García de Luján</i> | 103 |
| — Distribución de pesos moleculares de las proteínas de semilla y hollejo de uva palomino. <i>J.M. Igartuburu, G.M. Massanet, E. Pando, F. Rodríguez Luis</i> | 111 |
| — Composición en aminoácidos de las proteínas de la semilla y el hollejo de la uva palomino. <i>J.M. Igartuburu, G.M. Massanet, E. Pando, F. Rodríguez Luis</i> | 119 |

COMUNICACIONES SOBRE ENOLOGIA

| | |
|---|-----|
| + Levaduras responsables de la fermentación industrial de mostos en Jerez. M.J. Valcárcel Muñoz, L. Pérez Rodríguez, P. González Ramos, B. Domecq Williams..... | 135 |
| + Efecto de la modificación del pH mediante la corrección de la acidez sobre la flora fermentativa de la zona del Jerez. M.J. Valcárcel Muñoz, L. Pérez Rodríguez, P. González Ramos, B. Domecq Williams..... | 143 |
| + Diferenciación de vinos blancos varietales producidos en la zona del Jerez. B. Puertas Garcá,, C. García Barroso..... | 151 |
| + Estudio de parámetros ambientales que condicionan la crianza del vino fino. J. I. Lozano Romero, F. Perdigones Fernández..... | 167 |
| + Participación de los compuestos polifenólicos en la caracterización y diferenciación de los vinos de Jerez. C. García Barroso, P. López Pérez, E. Bru, J.A. Pérez Bustamante..... | 181 |
| — Estudio de los compuestos polifenólicos en el fenómeno de remontado del vino fino de Jerez. C. García Barroso, M.J. Martínez, E. Bru, R. Cela, J.A. Pérez Bustamante..... | 195 |
| — Contenido y evolución de aminoácidos libres en vinos de jerez durante el proceso de elaboración. M.A. Botella, L. Pérez Rodríguez, B. Domecq, V. Valpuesta..... | 213 |
| — Determinación de carbamato de etilo en vinos mediante HPLC con derivatización y detección fotométrica y fluorométrica. R. Suaú, V. Valpuesta, I. Medina, F. García Sánchez..... | 225 |
| — Determinación conjunta de vainillina y siringaldehído en ron mediante el modelo gráfico isodiferencial. C. Carnero Ruiz, M. Hernández, J.C. Márquez..... | 239 |
| — Control analítico en la vinificación del Jerez. J. Díez Martín, J. Gómez Benítez, C. García Barroso..... | 249 |
| — Estudio comparativo de la vinificación del mosto de Jerez. Desfangado y filtrado. J. Díez Martín, J. Gómez Benítez, C. García Barroso..... | 261 |
| — Limpieza de la muestra de vino previa al análisis de compuestos polifenólicos. D.A. Guillén, F. Merello, C. García Barroso, R. Cela, J.A. Pérez Bustamante..... | 279 |
| — Utilización de filtros anaerobios en la depuración de vertidos de las destilerías de alcohol vínico. E. Nebot Sanz, D. Sales Márquez, L.I. Romero García, L. Ramírez Viente..... | 299 |
| — Digestión anaerobia termofílica de vinazas de vino con separación de fases. L. Ramírez Viente, E. Nebot Sanz, D. Sales Márquez, L.I. Romero García.. | 313 |

COMUNICACIONES FUERA DE PROGRAMA

| | |
|---|-----|
| — La poda de la vid después de una granizada en la comarca lagunera (México). J.L. Reyes Carrilo..... | 323 |
|---|-----|

| | |
|--|-----|
| — Ampelografía descriptiva de las principales variedades de vitis vinifera L. cultivadas en la D.O. Montilla Moriles. <i>M.C. Duque-Martínez, F. Pérez Camacho</i> | 325 |
| — Proyecto de reconversión varietal en vid para el departamento de Tinogasta (Provincia de Catamarca. Argentina). Capacitación en la técnica del injerto en "T" leñoso como un medio para cambiar la variedad. <i>J.A. Casas</i> | 331 |
| — La enología en Brasil. Presente y Futuro. <i>L. Copat</i> | 341 |
| — La viticultura tropical en Colombia. <i>R.D. García Ordoñez</i> | 347 |

**PRESENTACION DE
LAS JORNADAS**

PRESENTACION DE LAS JORNADAS

PROF. DR. D. MIGUEL ANGEL GALAN SERRANO
Catedrático de Ingeniería Química
Universidad de Salamanca

Excmo. y Mgco. Sr. Rector. Dignísimas autoridades. Señores y Sras. Queridos amigos.

Es un honor y una satisfacción para mí, que los organizadores de estas V, ¿habrá quinto malo? Jornadas sobre viticultura y enología en Jerez se hayan acordado de este atípico presentador. Y soy atípico porque procedo y vivo en tierra del cereal donde el vino es algo que nos dan hecho y simplemente se bebe, pero además porque ya ocupé este mismo lugar presentando las anteriores Jornadas y creo que eso de repetir no es bueno, pues puede acontecer, y en este caso así sucede, que el que ha presentado una vez tenga poco más que decir sobre lo que en su momento ya dijo, y todo ello conduce a la transmisión de un cierto cansancio a parte del auditorio y además, vamos a decir aquello de.. ¡lagarto, lagarto!, nunca segundas partes.

Sin embargo, no me arrepiento de haber aceptado el ofrecimiento que me han hecho, y aunque es claro que los arrepentimientos suelen ser tardíos, en este caso, insisto, no me puedo arrepentir porque dado que los avatares me han llevado a otros lugares, este hecho me permite de forma real "recorrer los surcos de mi ilusión" que dijo el poeta, ya que sigo añorando mi personal Arcadia, la siempre buscada y casi nunca encontrada y que yo tuve la fortuna de poseer al estar aquí en Cádiz, no sólo por el entorno, que también, sino por haber tenido la fortuna de convivir con todos ustedes, sus gentes, durante cinco años y que yo siguiendo "la razón de mi sinrazón" perdí. ¡Quizá era demasiado bonito para un simple mortal!

Dejando a un lado melancolías, que son muchas, vamos a centrarnos en la Jornadas.

Analizando el discurrir de las mismas, desde las primeras hasta las presentes, se puede observar de una manera singular la evolución social o al menos de pensamiento social de nuestras Instituciones.

En las primeras, la Universidad vivía en su "templo dorado", me resisto continuar con lo "de la Ciencia", alejada de toda tentación terrenal, mientras que la Empresa la veía como algo distante del diario acontecer y que no le servía para resolver sus problemas.

Así, los primeros intentos de las Jornadas se basaron en conseguir un acercamiento entre la Universidad y la Empresa, para lo cual se impartieron unos cursos, lecciones magistrales, donde los conferenciantes exponían, desde sus distintos campos, aspectos del saber que los otros ignoraban y viceversa.

Se clamaba entonces para conseguir el ansiado acercamiento Universidad-Empresa.

En las siguientes, comenzaron a presentarse comunicaciones sobre los trabajos que se realizaban tanto en la Universidad como en la Empresa, muchos de ellos modestos y algunos quizás no muy interesante, pero dotados de un gran entusiasmo e interés por servir a la comunidad.

El acercamiento comenzaba a fraguarse.

Por último en las cuartas Jornadas, debido a una serie de cambios sociales ocurridos en el país, estaba aceptado el hecho de que ambas Instituciones, Universidad y Empresa, se necesitaban, por lo que los organizadores de aquellas Jornadas, entre los que me encontraba, nos planteamos, aceptado el maridaje, que las Jornadas sirvieran para algo, que fueran útiles, aunque sólo fuera el hecho de que nos conociáramos un poco mejor las gentes que trabajamos en ambas Entidades.

Ello llevaría a una desmitificación que serviría para vencer una serie de susceptibilidades y tabúes, que hacían del ocultismo y la prepotencia armas donde ocultar nuestros frutos débiles, y por qué no, nuestra ignorancia en muchos aspectos, de los que surge, en el mejor de los casos el menosprecio hacia las respectivas Instituciones.

Sobrepasada esta etapa cabe preguntarse: ¿Cuál será la finalidad de estas V Jornadas? ¿Cuál es la razón de mi asistencia a las mismas?

Desde el punto de vista del asistente cualquier congreso y estas Jornadas lo son, presenta una magnífica oportunidad para dos cosas, en primer lugar conocer lo que piensan y hacer especialistas o al menos gente, que trabaja en campos afines al mío, y en segundo lugar exponer mis ideas y mis trabajos de forma que entre todos se llegue a una mejora del conocimiento.

Por tanto la asistencia a cualquier congreso ha de ser fundamentalmente participativa, no sólo presentando sus logros en el diario quehacer, sino también trayendo sus inquietudes, sus ideas, sus pareceres... incluso sus dudas, que serán seguramente compartidas y ayudarán, a clasificar muchas posturas e ideas.

Por tanto, han de tener presente, que los auténticos protagonistas de estas Jornadas, son evidentemente todos ustedes, de forma, como ya indiqué en las precedentes, ¡Ah la inevitable repetición!, que han de hacerlas suyas y serán lo que ustedes quieran que sean, porque el contenido científico, no quiero decir "el nivel" palabra abstracta que nada indica, será el que ustedes le den.

Para ello, estas Jornadas se han hecho coincidir con el "Curso Superior de Viticultura y Enología en climas Cálidos", con el fin de poder contar con la presencia de auténticos especialistas que dictan y asisten a estos cursos.

Estas Jornadas están enfocadas a tres aspectos fundamentales, cuales son la Viticultura se comenzará con una conferencia plenaria a cargo del Dr. Boubals de la Escuela Superior de Agricultura de Montpellier (Francia) sobre la "Influencia de los distintos factores en la relación producción-calidad del viñedo".

A la que seguirán la presentación de comunicaciones sobre Viticultura, para terminar con acto social, pues es bueno cultivar las relaciones y solazar el espíritu.

Debido a la razón antes apuntada se interrumpen las Jornadas hasta el día 5 de julio, con lo que para los que somos de fuera, se nos presenta la magnífica ocasión de volver a estas hermosas tierras, donde se confirmarán con una conferencia sobre "Los componentes fenólicos de los vinos y su evolución" dictada por el Dr. D. Usseglio Tomasset del Instituto Experimental de Enología de Asti (Italia) al que seguirán las comunicaciones correspondientes sobre aspectos enológicos.

El viernes, día 7, se dará otra conferencia sobre "La legislación vitivinícola: panorama general" impartida por el Prof. Dr. D. José Luis García Ruiz de la Facultad de Derecho de la Universidad de Cádiz, seguida de la correspondiente presentación de comunicaciones, conclusiones y cena de clausura.

Por último, no quiero terminar sin agradecer a la Comisión Organizadora el enorme esfuerzo que han realizado para la elaboración de estas Jornadas, pues me consta que han tenido que quitar tiempo a sus numerosos y diarios quehaceres para su preparación.

Quiero, asimismo, expresar mi homenaje a todos los componentes del Departamento de Ingeniería Química de la Universidad de Cádiz, alma de estas Jornadas y Departamento del cual me sentiré siempre miembro por las muchas atenciones y cariño que continuamente me han demostrado y cuyo afecto y nombre de cada uno de ellos que no voy ahora a enumerar porque me llevaría lejos su recuerdo, prometo guardar en lo más profundo y mejor de mí.

A todos ustedes, darles la más cordial de las bienvenidas y desearles que el éxito les acompañe no sólo en estas Jornadas, sino en su tarea diaria.

Esto es todo y ¡Muchas gracias!

**CONFERENCIAS
PLENARIAS**

LOS COMPUESTOS FENOLITICOS DE LOS VINOS Y SU EVOLUCION

L. USSEGLIO TOMASSET
Istituto Sperimentale per l'Enologia-Asti

Los compuestos fenólicos de los vegetales a causa de su importancia taxonómica, organoléptica y farmacéutica representan uno de los más estudiados entre las clases de los compuestos naturales.

En la uva y en el vino a pesar de la intensa actividad investigadora, demostrada por los numerosos trabajos publicados, quedan, aún hoy día, dudas ya sea sobre su naturaleza y origen o sobre su evolución.

En síntesis en las uvas se encuentran los compuestos fenólicos siguientes:

–ácidos fenólicos de tipo cinámico

*p-cumérico

*cafeico

*ferúlico

–flavenoles glucídicos de:

*kanfenol

*quercetina

*miricetina

–antocianos monoglucósidos de:

*cianidina

*pereomidina

*delfinidina

*petunidina

*malvidina

–flavanos

*catequina

- *epicatequina
- *catequina galato
- *epicatequina galato
- procianidinas
 - *dímeros o polímeros
 - *decatequinas y/o
 - *epicatequinas

–Otras clases de componentes minoritarios señalados en trabajos recientes por investigadores americanos.

Se admite que los antocianos están en general contenidos en los hollejos, los ácidos fenólicos del tipo cinámico principalmente en el jugo y las catequinas y procianidinas en los hollejos y las pipas: no se considera los polifenoles de los raspones, puesto que no tienen importancia particular en enología.

Cuando la uva se prensa para la elaboración de vinos blancos, pasan al mosto los ácidos fenólicos y una parte de las catequinas y procianidinas contenidas en los hollejos en función del sistema de recolección, de transporte y de prensado.

En general el contenido de compuestos fenólicos en el mosto aumenta cuando se pasa de la recolección manual a la mecánica (en función de la temperatura exterior y del tiempo de permanencia en la caja durante el transporte desde el viñedo a la bodega) y del prensado o desvinado dinámico.

En la producción de vinos rosados y tintos, el mosto semejante inicialmente al del blanco, se enriquece progresivamente en principio de los compuestos presentes en los hollejos y después de los de las pipas.

Cuando el grano está roto, con los compuestos fenólicos pasan a los mostos enzimas naturales (tirosinasa) que catalizan las oxidaciones de los compuestos que contienen ortodifenoles.

A veces otras enzimas llegan hasta la degradación de todas las clases de compuestos polifenólicos.

En la vinificación en blanco la adición de SO₂ al mosto realiza una inactivación parcial de las enzimas y consume el oxígeno, que habría oxidado a los fenoles.

En el mosto quedan pues compuestos fenólicos de débil grado de polimerización, que se pueden oxidar, provocando los pardeamientos, cuando las condiciones físico-químicas del vino lo permitan.

Para bajar el contenido de los fenoles oxidables no quedan más que dejar que las enzimas de la uva completen su acción, evitando inactivarlas por el SO₂ en otros tratamientos. A continuación se clarifica y, si se quiere, se añade pequeñas cantidades de SO₂ antes de la fermentación con el fin de controlar el desarrollo de las levaduras salvajes y de bacterias: en el mosto así tratado quedarán solamente los ácidos hidroxicinamiltartárico y trazas de catequinas y procianidinas, que darán aumentos del color.

La presencia de ácidos fenólicos (en particular el ácido cafeiltartárico) no son de temer puesto que sus formas esterificadas son poco oxidables y por contra, como los otros ésteres del ácido cafeico, presentan propiedades desintoxicantes y analgésicas.

Es necesario prestar atención para evitar tratamientos con enzimas pectolíticas en

las que se han encontrado la presencia de esterasas, que hidrolizan rápidamente los esteres liberando los ácidos hidroxinámicos susceptibles de ser oxidados con modificaciones del color y del gusto.

El cuadro más simple de fenoles de los vinos blancos jóvenes puede evolucionar hacia la formación de esteres etílicos y de ácidos hidroxicinamiltartáricos y hacia polímeros pardos cuando están presentes catequinas, procianidinas y aldehído acético.

En los vinos blancos se encuentran también pequeños contenidos de ácidos fenólicos libres del tipo benzoico, como los ácidos gálicos, salicílico, protocatequico, p-oxibenzoico, gentsílico, vainílico, siringico y los ácidos cinámicos libres: p-cumarico, cafeico, ferúlico.

Los vinos rosados y los vinos tintos presentan un cuadro fenólico mucho más complejo.

A diferencia de los vinos blancos, en los tintos los fenoles son factores importantes de calidad.

Cualitativamente se encuentra los mismos ácidos fenólicos que en los vinos blancos (con frecuencia notablemente superior, según la cepa), antocianos, catequinas y procianidinas, las últimas hasta algunos gramos por litro.

Se admite que en las primeras fases de la maceración son extraídos los ácidos hidrocínámicos y los antocianos, compuestos muy solubles en agua, mientras que con el aumento de la concentración de alcohol, pasan a solución las catequinas y las procianidinas.

En la elaboración de vinos tintos jóvenes se conduce a la maceración durante tiempo limitado para obtener la menor astringencia posible, mientras que para los vinos destinados a envejecimiento las maceraciones son prolongadas con la extracción de procianidinas polímeras.

En la tabla 1 se muestra el desarrollo de la extracción de los compuestos fenólicos en una vinificación de uva Nebbiolo para la elaboración de Barolo de la vendimia 1987.

Se puede notar que no siempre a los mayores tiempos de maceración corresponde un aumento sensible en la extracción de fenoles.

Por el contrario en el caso ilustrado se alcanza para los antocianos un máximo seguido de una disminución, mientras que para las procianidinas y los ácidos fenólicos por encima de un cierto límite el contenido queda constante.

La extracción depende de la añada, puesto que en otros ensayos (en el año 1982) se había obtenido una cantidad de fenoles totales mucho más elevada.

Para los vinos destinados al envejecimiento se busca en general extraer mucho.

De los estudios para esclarecer la evolución de los compuestos fenólicos en los vinos, conducidos en soluciones modelo conteniendo antocianos, catequinas, procianidinas purificadas, se llega a los resultados siguientes, sacados de los trabajos de Haslaur, Timberlake, Briolle y Dournel:

1.º— Las soluciones de antocianos puros pierden lentamente el color, mostrando una degradación, que se puede explicar por un mecanismo de hidrólisis y de transformación sucesiva de antocianidinas muy reactivas.

2.º— Las antocianinas en presencia de otros compuestos fenólicos forman complejos

con enlace de hidrogeno, que provocan un aumento de color y un desplazamiento de la longitud de onda máxima.

3.º— Las procianidinas por una reacción de oxido-reducción interior, a causa de la labilidad del enlace C-C, pueden dar de catequinas o de epicatequinas y carbocationes, que reaccionando con otras procianidinas, forman compuestos de peso molecular más elevado. Es posible también una polimerización oxidativa en presencia de oxígeno con la formación de quinonas reactivas que actúan como iniciación de una cadena, así como sucede en las soluciones de catequinas.

4.º— Entre las catequinas, las procianicinas y los antocianos se observa una débil reactividad, con la formación de sales xanthylium, evidenciables en las soluciones que contienen un gran exceso de flavonas.

Parece que las catequinas sean más reactivas que las procianidinas pero tal conclusión puede resultar incierta a causa de la transformación de las procianidinas.

5.º— En presencia de aldehído acético los antocianos reaccionan con la formación de polímeros observables por el aumento de la resistencia a la decoloración por el SO₂. Se observa aún un aumento de la intensidad de color.

6.º— En presencia de aldehído acético y de flavonas los antocianos son transformados más rápidamente que en el caso precedente con un aumento notable del color y la producción de polímeros resistentes al SO₂. Según Timberlake el inicio de la cadena de reacciones se da por la revocación formada a continuación del ataque por el aldehído acético sobre las flavonas; según Dournel se tendría probablemente por el contrario un ataque de aldehído acético sobre los antocianos en la posición 4 y a continuación un enlace con los puentes CH₃-CHO en las posiciones 6 u 8 de las catequinas y de las procianidinas.

Como prueba de este mecanismo se señala su reactividad elevada de los antocianos con el aldehído acético y la formación de al menos dos compuestos de salida entre catequinas, aldehído acético y antocianos: las determinaciones hechas por Di Stefano parecen confirmar esta última interpretación (ver cromatogramas).

7.º— Entre el aldehído acético y las flavonas no se observa una reactividad elevada, puesto que las observaciones y las conclusiones resultan difíciles a causa de la escisión de las procianidinas con la formación de polímeros.

En los vinos jóvenes se sucede la serie de reacciones descritas con la formación de los polímeros y la modificación del color y de los caracteres organolépticos.

En efecto el color rojo con tonos violáceos pasa a atejados a causa de la contribución de los pigmentos pardos; al mismo tiempo el gusto se suaviza.

Los vinos tintos destinados al envejecimiento necesitan de una maduración prolongada, sea para dar al vino la posibilidad de enriquecerse en sustancias minerales y de modificar su acidez, sea con el fin de extraer lo más posible los polifenoles de los hollejos y de las pipas. Los vinos al principio son muy ricos en sustancias fenólicas que le hacen excesivamente astringente. Durante el envejecimiento a causa de la disminución de la acidez debida a la fermentación maloláctica la astringencia disminuye, pero quedaría aún muy elevada, sino se enriqueciese el vino en oxígeno durante los trasvases. Los compuestos quinónicos formados, más reactivos que los fenoles, llegan a la formación de po-

límeros que en parte precipitan y en parte quedan en solución en estado coloidal con proteínas, polisacáridos, pero con propiedades tánicas inferiores: esta estructura coloidal influye de una manera importante sobre el gusto del vino.

La permanencia en la madera debe ser establecida por el técnico y para cada vino.

Es necesario decir que solo el análisis detallado del cuadro fenólico de un vino tinto no permite establecer su aptitud al envejecimiento.

Es necesario señalar aún que las levaduras por descarboxilación de los ácidos hidrocínámicos pueden formar 4-vinilfenol y 4-vinilguayacol, mientras que las bacterias realizan la reducción a ácidos fenilpropiónicos y la descarboxilación a 4-etilfenol y 4-etilguayacol, de una notable importancia cuantitativa y organoléptica.

En los vinos tintos se encuentran además ácidos fenólicos libres de tipo benzoico, en contenido notablemente más elevado que el encontrado en los vinos blancos. Singleton y Trousdale tienen la hipótesis para el ácido gálico de un origen en las pipas por la hidrólisis del epicatequinagalato. En efecto el ácido gálico es el más representado entre los ácidos fenólicos. Los otros derivan de la transformación de otros compuestos fenólicos o de la degradación de la lignina de los hollejos y de las pipas.

En el cuadro 2, indicamos la composición en antocianos de tres cepas francesas cultivadas en Argentina.

Se ve que la malvina predomina, seguida de la petumina, salvo en el caso del Merlot, donde hay una presencia notable de paenmina.

En las figuras 1 y 2 se observa respectivamente el espectro de absorción y el cromatograma de cromatografía líquida de sustancias colorantes extraídas de la uva Lambrusco y purificada sobre columna de Sephadex LH: se señala la diferencia de composición según las cepas del cuadro 2.

En el cuadro 3 se refiere la composición en antocianos de una serie de cepas.

Se pueden señalar grandes diferencias.

La delfinina va de 1,5% a 23,5%; la cianina de 1,7% a 22,2%; la petumina de 1,45% a 18,58%; la paenmina de 7,49 a 56,34; la malvinida 15,32% a 67,25%. En las figuras 3 y 4 se tienen ejemplos de cromatogramas.

Se puede pues afirmar que la composición de los antocianos es característica, si no de la cepa, de un cierto grupo de cepas.

La figura 5 da un esquema de polimerización de catequinas y de procianidinas, mientras que la figura 6 muestra la posibilidad teórica de condensación de la malvidina con la catequina para el intermediario del etanol.

Se aportan las fórmulas de los antocianos de los antocuyanos acilados, de los flavonoles y de las procianidinas (figura 7 y 8).

Y para terminar, algunas palabras sobre experiencias realizadas personalmente, concernientes a la evolución del color y de los antocianos.

Para evaluar la influencia del contenido en catequinas y procianidinas, se ha sometido uvas blancas Couteuse a una vinificación con maceración en ausencia y presencia de raspones. En otra se ha utilizado un vino Barbera 1976, proveniente de una cepa caracterizada por un contenido elevado en antocianos y bajo en polifenoles.

Se ha preparado una serie de mezclas en proporciones diferentes (20%, 50%, 80%,

de Barbera) bien con el vino Coutese obtenido en presencia de raspones, bien con el vino Coutese extraído de uvas desrasponadas.

Los vinos han sido investigados durante un periodo de 2 años y 7 meses.

Los datos expresan en la tabla 4 y las figuras 9, 10, 11, 12 y 13 la evolución de los compuestos y del color durante el envejecimiento. Examinado ahora la evolución de los antocianos, 137 días después del embotellado, se ha constatado una baja importante del valor de los antocianos en todas las muestras: la disminución ha estado comprendida entre el 45% y el 56% del valor inicial.

En el fondo de las botellas estaba presente un precipitado abundante intensamente coloreado en rojo violáceo y con un aspecto cristalino.

El precipitado ha sido separado por centrifugación, lavado dos veces con alcohol al 10% en volumen. Las aguas de lavado quedaban incoloras.

Secado a vacío, el precipitado ha dado para la Barbera 1,3 g/l.

Se ha tratado el precipitado por el ácido clorhídrico normal y se ha obtenido una solución intensamente coloreada en rojo, mientras que con el etanolclorhídrico (HCL concentrado 0,1%) no se ha obtenido la menor disolución de los antocianos.

Los ensayos descritos muestran la imposibilidad de disolver en alcoholes sustancias colorantes sin haber previamente destruido el residuo cristalino que le engloba.

El análisis del precipitado ha dado los resultados siguientes:

| | |
|------------------------------|-----------|
| Antocianos | 69 mg/l |
| proteínas..... | 17,1 mg/l |
| ac. galacturónico coloidal . | 0,39 mg/l |
| galactosa coloidal..... | 0,65 mg/l |
| leucoantocianos..... | trazas |

Se trata pues casi exclusivamente de bitartrato de potasio y de antocianos.

Los antocianos solubilizados han sido cromatografiados en capa fina (solvente tolueno: acetato de etilo: metanol: ácido formico 5:5:3.5:1.5) y se han encontrado antocianos monómeros.

Los antocianos monómeros determinados en el precipitado de bitartrato representan el 46% de la disminución registrada para el vino.

Un examen análogo ha sido realizado para la mezcla de Barbera y de Coutese.

La mezcla Barbera 80% y Coutese 20% tras eliminación del precipitado ha sido saturada por aire y embotellado. Tras un mes las botellas se ha abierto y saturado nuevamente con aire. Tras otros 2 meses se ha recojido el precipitado separado sobre el fondo.

Este precipitado se ha mostrado insoluble en ácido clorhídrico normal, poco soluble en alcohol conteniendo 0,1% de HCL concentrado, bastante soluble en alcohol con 1% de HCL concentrado.

La cromatografía en capa fina ha revelado solamente pequeñas cantidades de antocianos libres, mientras que la mayor parte de la sustancia colorante está bajo forma polimerizada.

La figura 14 muestra los hechos descritos, a la izquierda se ven las bandas del precipitado aislado tras 3 meses en saturación con aire la mezcla Barbera 80% y Cuotese 20%, a la derecha el precipitado obtenido de la Barbera y al centro el mismo precipitado tras

disolución clorhídrica y extracción por alcohol isoamílico.

En conclusión se puede decir:

a) Los antocianos disminuyen progresivamente en el tiempo;

b) Se observa una caída importante de antocianos en el primer periodo de conservación del vino y una disminución sucesiva más lenta;

c) La mayor parte de los antocianos precipitan en el vino con el bitartrato de potasio; el precipitado en los vinos jóvenes contienen los antocianos en forma monómera, mientras que las precipitaciones sucesivas muestran los antocianos bajo forma polimerizada.

d) La disminución en porcentaje de los antocianos no parece estar influenciada ni por el contenido inicial ni por la cantidad de polifenoles presentes; esto puede ser a causa de la desproporción siempre a favor de los polifenoles;

e) La evolución de la intensidad colorante se muestra estrechamente correlacionada a la de los antocianos.

Nosotros hemos dado únicamente una visión sobre los polifenoles, el color de los vinos tintos los problemas que le conciernen; el sujeto es inmenso y estaríamos muy satisfechos si hemos podido aportar algunas pequeñas precisiones útiles.

BIBLIOGRAFIA

- ASEN, S. STEWART; R.N. NORRIS, K.N. (1972).- Copigmentation of anthocyanins in plant tissues and its effect on color-Phytochemistry, **11**, 1139.
- DI STEFANO; R. CIOLFI, G. (1983).- Formazione di antociani polimeri in presenza di flavani ed evoluzione degli antociani monomeri durante la fermentazione - Riv. Vific. E-nol., **36**, 325.
- DI STEFANO; R. CORINO, L. (1984).- Terpeni e antociani di alcuni uverosse aromatiche - Riv. Vitic. Enol., **37**, 581.
- GLORIES, Y. (1978).- Recherches sur la matière colorante des vins rouges - Thèse Université Bordeaux II.
- HASLAM, E. (1980).- In vino veritas: oligomeric procyanidins and the ageing of red wines - Phytochemistry, **19**, 2577.
- SOMERS, T.C. (1971).- The polymeric nature of wine pigments - Phytochemistry, **10**, 2175.
- SOMERS, T.C. EVANS, M.E. (1979).- Grape pigment phenomena interpretation of major colour tones during vinification - I.Sci. Food. Agric. **30**, 623.
- TIMBERLAKE, C.F.; BRIDLE, P. (1976).- Interactions between anthocyanins, phenolic compounds, and acetaldehyde and their significance in red wines - Am. J. Enol. Vitic., **27**, 97.
- USSEGLIO-TOMASSET; L. DI STEFANO, R. (1980) - Osservazioni sull'evoluzione dei colori di vini rossi - Vini d'Italia, **22**, 118.

Tableau 1

| Barolo 1987 | 25-X | 27-X | 30-X | 3-XI | 8-XI | 18-XI | 18-XII | 18-I |
|--------------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|--------------|---------------|-------------|
| Polifenoles totales F.C. mg/l | 320 | 1840 | 2200 | 2120 | 2140 | 2140 | 2170 | 2115 |
| Antocianos " | 117 | 286 | 285 | 253 | 198 | 210 | - | 164 |
| Procianidinas " | 428 | 1017 | 1251 | 1324 | 1344 | 1339 | 1470 | - |
| Catequinas " | 16 | 53 | 72 | 62 | 61 | 70 | 81 | 68,6 |
| Epicatequina " | 8 | 25 | 37 | 31 | 29 | 34 | 39 | 26,2 |
| Delfinina % | 4,6 | 4,7 | 4,3 | 3,0 | 2,5 | 2,5 | 4,0 | |
| Cianina % | 4,4 | 5,2 | 4,8 | 4,9 | 5,0 | 4,6 | 5,0 | |
| Petunina % | 5,6 | 6,9 | 6,9 | 5,5 | 5,4 | 5,5 | 5,8 | |
| Paeonina % | 43,7 | 44,1 | 42,8 | 48,7 | 52,0 | 48,0 | 45,1 | |
| Malvina % | 41,6 | 39,2 | 41,2 | 37,9 | 35,1 | 39,4 | 40,1 | |
| Ac. CafeiltartáricoCis mg/l | 1,5 | 1,9 | 1,6 | 1,4 | 1,4 | 1,5 | 1,5 | 1,1 |
| Ac. CafeiltartáricoTrans " | 27,9 | 31,8 | 34,4 | 30,3 | 26,2 | 30,4 | 34,8 | 28,8 |
| Ac. p-cumariltartárico-Gluc " | 4,5 | 5,4 | 5,7 | 5,2 | 5,2 | 5,1 | 4,6 | 4,1 |
| Ac. p-cumariltartárico libre " | 8,1 | 14,1 | 13,3 | 12,6 | 11,4 | 11,5 | 10,5 | 10,2 |

25-X: trois jours après le foulage-égrappage

8-XI: conservation en fût

3-XI: fin de la fermentation

TABLA 2

| ANTOCIANOS % | MALBECK | MERLOT | CABERNET |
|--------------|---------|--------|----------|
| Delfinina | 0.39 | 0.30 | 5.00 |
| Cianina | 0.10 | 0.18 | 0.35 |
| Petumina | 3.93 | 7.90 | 8.80 |
| Paeonina | 1.39 | 10.29 | 2.52 |
| Malvina | 94.19 | 81.33 | 83.33 |

Antocianos(%)

| | Ruché | Brachetto | Moscato nero | Moscato Amburgo | Malvasia Schizzano | Malvasia Morello | Malvasia lunga | Bonarda | Grignolino | Frisa | Nebbiolo | Delcetto | Barbera |
|---------------------|-------|-----------|-----------------|--------------------|-----------------------|---------------------|-------------------|---------|------------|-------|----------|----------|---------|
| DELFININA | 3,56 | 1,79 | 9,38 | 6,13 | 15,70 | 12,96 | 1,54 | 19,02 | 1,68 | 3,41 | 4,20 | 7,84 | 23,50 |
| CIANINA | 2,77 | 2,99 | 14,69 | 10,35 | 10,63 | 13,89 | 3,62 | 2,89 | 18,93 | 22,18 | 12,88 | 1,67 | 10,07 |
| PETUNINA | 4,78 | 4,29 | 9,33 | 5,55 | 14,72 | 12,36 | 2,58 | 13,63 | 1,45 | 3,99 | 3,97 | 8,43 | 18,58 |
| PEONINA | 39,97 | 27,25 | 37,74 | 53,57 | 16,77 | 16,65 | 56,34 | 8,22 | 61,35 | 55,10 | 54,87 | 14,78 | 7,49 |
| MALVINA | 48,91 | 63,68 | 28,85 | 24,40 | 42,17 | 44,13 | 35,91 | 56,24 | 16,60 | 15,32 | 24,08 | 67,25 | 40,36 |
| ANTOCIANOS | 91,57 | 96,47 | 96,97 | 96,62 | 96,51 | 95,13 | 98,12 | 78,64 | 95,70 | 97,75 | 90,75 | 68,23 | 82,73 |
| ANTOCIANOS ACILADOS | 8,43 | 3,53 | 3,03 | 3,38 | 3,49 | 4,87 | 1,88 | 21,36 | 4,30 | 2,25 | 9,25 | 31,77 | 17,27 |

TABLA 4

| | | Polifenoles totales E 1 cm. | Anto- cianos mg/l | Reacción con vainilla Δ E 2 cm. | Leucoanto- cianos g/l | Intensidad colorante E ₄₂₀ + E ₅₂₀ 1 cm. | Tinta E ₄₂₀ /E ₅₂₀ | pH |
|----------------|-----------------------------|--------------------------------------|-------------------------|--|-----------------------------|---|---|------|
| 16-XI 1976 | CD Cortese dirasp. | 1,525 | — | 0,272 | 2,098 | 0,021 | 3,077 | 3,17 |
| | CG Cortese con graspi | 1,850 | — | 0,305 | 2,763 | 0,029 | 2,945 | 3,21 |
| | B Barbera | 1,200 | 295 | 0,142 | 1,718 | 0,812 | 0,476 | 3,03 |
| 2-IV 1977 | CD | 1,510 | — | 0,257 | 2,079 | 0,021 | 3,600 | 3,15 |
| | CG | 1,840 | — | 0,268 | 2,744 | 0,033 | 3,514 | 3,20 |
| | CD 80 B 20 | 1,430 | 28 | 0,233 | 2,010 | 0,113 | 0,819 | 3,11 |
| | CG 80 B 20 | 1,695 | 26 | 0,263 | 2,459 | 0,121 | 0,888 | 3,16 |
| | CD 50 B 50 | 1,330 | 81 | 0,208 | 1,944 | 0,264 | 0,620 | 3,06 |
| | CG 50 B 50 | 1,525 | 69 | 0,207 | 2,005 | 0,278 | 0,722 | 3,19 |
| | B | 1,180 | 145 | 0,130 | 1,690 | 0,574 | 0,603 | 3,11 |
| 23-VI 1977 | CD | 1,495 | — | 0,248 | 2,060 | 0,22 | 3,889 | 3,13 |
| | CG | 1,630 | — | 0,258 | 2,744 | 0,030 | 3,917 | 3,19 |
| | CD 80 B 20 | 1,420 | 25 | 0,220 | 2,005 | 0,113 | 0,915 | 3,09 |
| | CG 80 B 20 | 1,680 | 26 | 0,250 | 2,440 | 0,119 | 0,951 | 3,13 |
| | CD 50 B 50 | 1,325 | 71 | 0,190 | 1,910 | 0,255 | 0,673 | 3,05 |
| | CG 50 B 50 | 1,510 | 63 | 0,200 | 1,984 | 0,271 | 0,782 | 3,18 |
| | B | 1,180 | 138 | 0,125 | 1,670 | 0,590 | 0,616 | 3,14 |
| 12-XII 1977 | CD | 1,480 | — | 0,243 | 2,060 | 0,025 | 3,712 | 3,20 |
| | CG | 1,830 | — | 0,242 | 2,725 | 0,036 | 3,590 | 3,27 |
| | CD 80 B 20 | 1,425 | 20 | 0,203 | 1,985 | 0,102 | 1,162 | 3,26 |
| | CG 80 B 20 | 1,680 | 23 | 0,245 | 2,440 | 0,106 | 1,178 | 3,32 |
| | CD 50 B 50 | 1,325 | 54 | 0,172 | 1,910 | 0,223 | 0,826 | 3,22 |
| | CG 50 B 50 | 1,480 | 49 | 0,192 | 1,965 | 0,246 | 0,853 | 3,26 |
| | B | 1,180 | 101 | 0,125 | 1,645 | 0,476 | 0,700 | 3,18 |
| 3-III 1978 | CD | 1,475 | — | 0,240 | 2,030 | 0,026 | 3,830 | 3,17 |
| | CG | 1,800 | — | 0,240 | 2,680 | 0,035 | 4,058 | 3,23 |
| | CD 80 B 20 | 1,430 | 20 | 0,200 | 1,950 | 0,101 | 1,149 | 3,22 |
| | CG 80 B 20 | 1,670 | 20 | 0,240 | 2,320 | 0,108 | 1,204 | 3,26 |
| | CD 50 B 50 | 1,330 | 53 | 0,170 | 1,813 | 0,216 | 0,859 | 3,17 |
| | CG 50 B 50 | 1,475 | 48 | 0,190 | 1,950 | 0,237 | 0,874 | 3,21 |
| | B | 1,175 | 101 | 0,125 | 1,640 | 0,457 | 0,705 | 3,14 |
| 9-XI 1978 | CD | 1,470 | — | 0,234 | 2,022 | 0,040 | 4,077 | 3,16 |
| | CG | 1,765 | — | 0,248 | 2,545 | 0,046 | 3,978 | 3,23 |
| | CD 80 B 20 | 1,415 | 18 | 0,218 | 1,870 | 0,111 | 1,297 | 3,21 |
| | CG 80 B 20 | 1,655 | 19 | 0,240 | 2,240 | 0,113 | 1,368 | 3,25 |
| | CD 50 B 50 | 1,330 | 34 | 0,188 | 1,670 | 0,216 | 0,948 | 3,17 |
| | CG 50 B 50 | 1,440 | 29 | 0,164 | 1,775 | 0,246 | 0,955 | 3,19 |
| | B | 1,170 | 58 | 0,090 | 1,499 | 0,426 | 0,790 | 3,10 |
| 17-V 1979 | CD | 1,460 | — | 0,188 | 1,841 | — | — | 3,19 |
| | CG | 1,750 | — | 0,225 | 2,355 | — | — | 3,27 |
| | CD 80 B 20 | 1,420 | 10 | 0,180 | 1,746 | 0,111 | 1,365 | 3,24 |
| | CG 80 B 20 | 1,645 | 11 | 0,218 | 2,136 | 0,116 | 1,410 | 3,29 |
| | CD 50 B 50 | 1,335 | 28 | 0,175 | 1,556 | 0,206 | 1,000 | 3,21 |
| | CG 50 B 50 | 1,435 | 26 | 0,189 | 1,765 | 0,237 | 0,991 | 3,23 |
| | B | 1,170 | 53 | 0,105 | 1,118 | 0,402 | 0,827 | 3,16 |

Fig. 1.-
Espectro de absorción de los
antoncianos purificados.
Medio sintético a
pH. 3,40

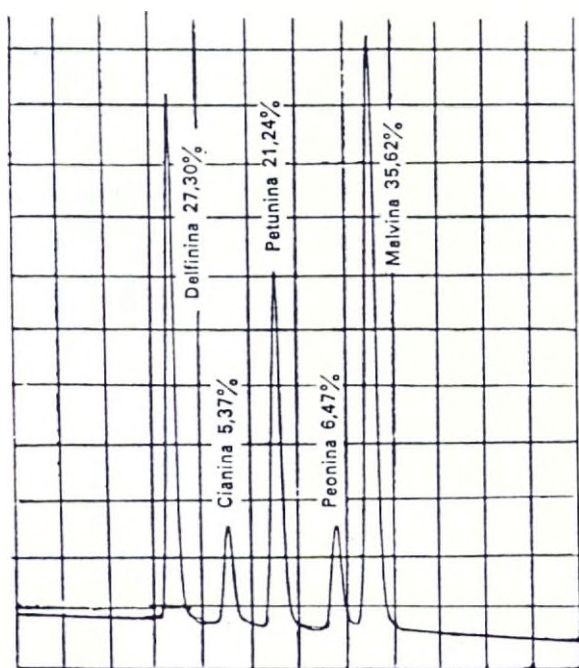
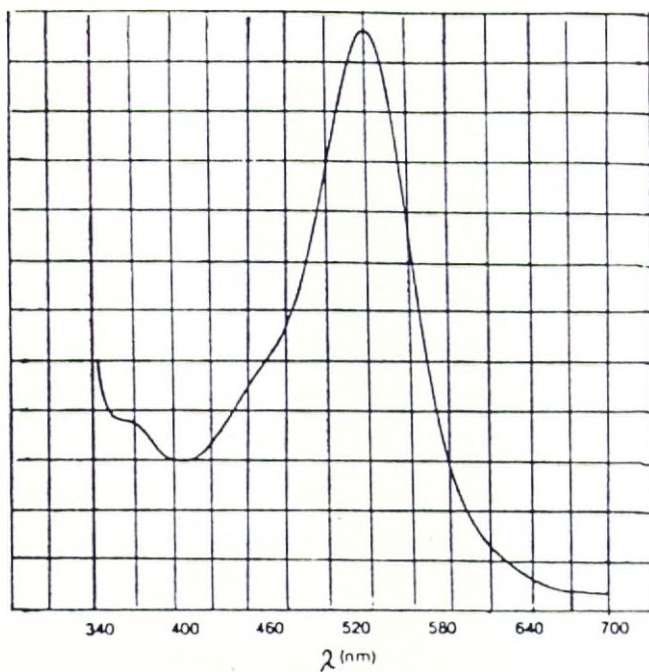


Fig. 2.-
Cromatograma
liquido-liquido de
antoncianos purificados.

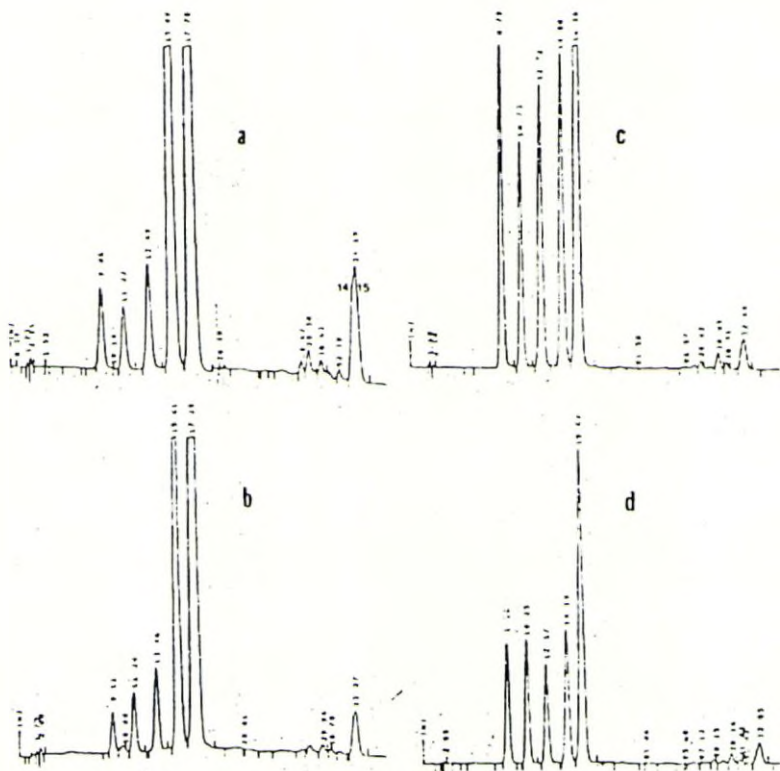


Fig. 3.-
 ANTOCIANOS PRESENTES EN LA UVA:
 a) Ruché, b) Brachetto, c) Malvasía de Schierano, d) Malvasía Morello.

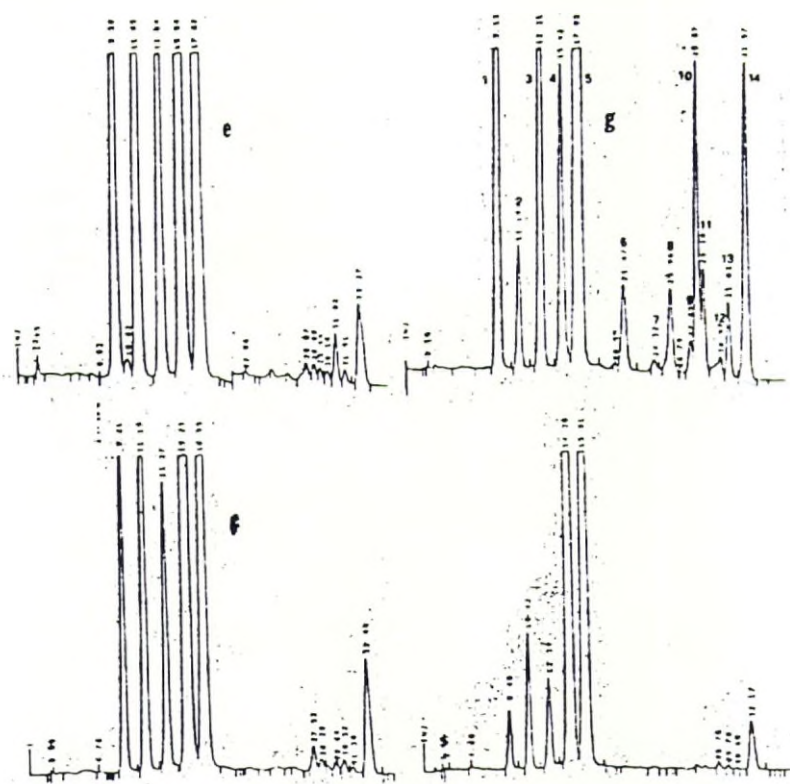
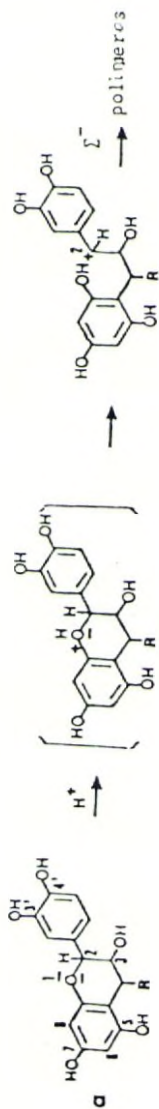


Fig. 4.-
 ANTOCIANOS PRESENTES EN LA UVA:
 e) Moscatel negro de Acqui, f) Moscatel de Hamburgo, g) Bonarda, h) Malvasia larga.
 1) Delfinina, 2) Malvina, 6-10) Antocianos acilados con ácido acético,
 11-15) Antocianos acilados con ácido cinámico.



R = H : catequinas
 R = Catequinas : proclanidina dimera
 R = proclanidina : proclanidina polimera

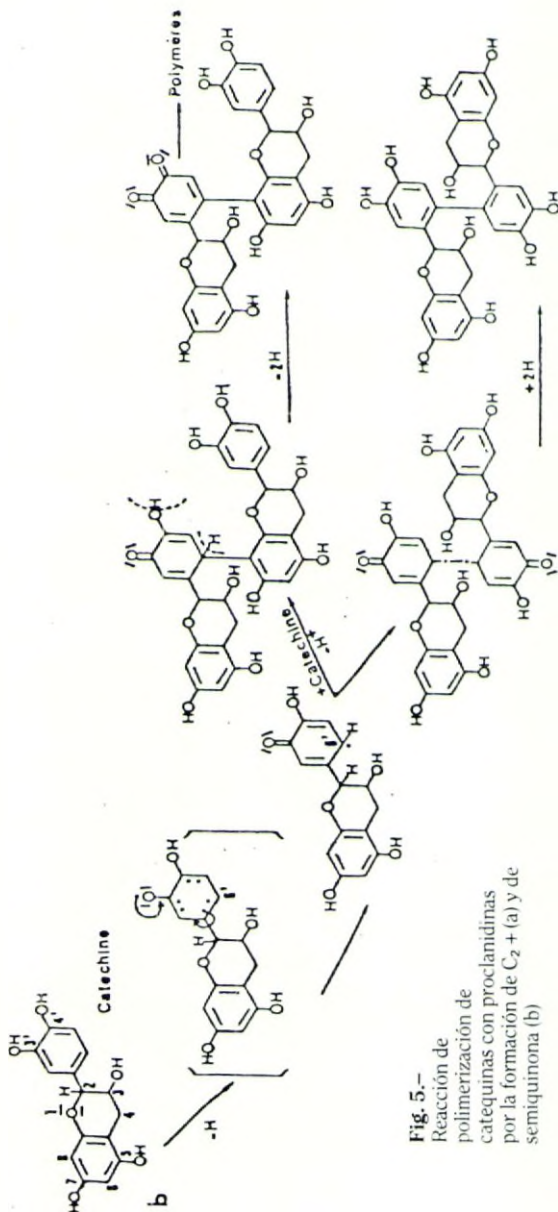


Fig. 5.-
 Reacción de
 polimerización de
 catequinas con proclanidinas
 por la formación de C₂ + (a) y de
 semiquinona (b)

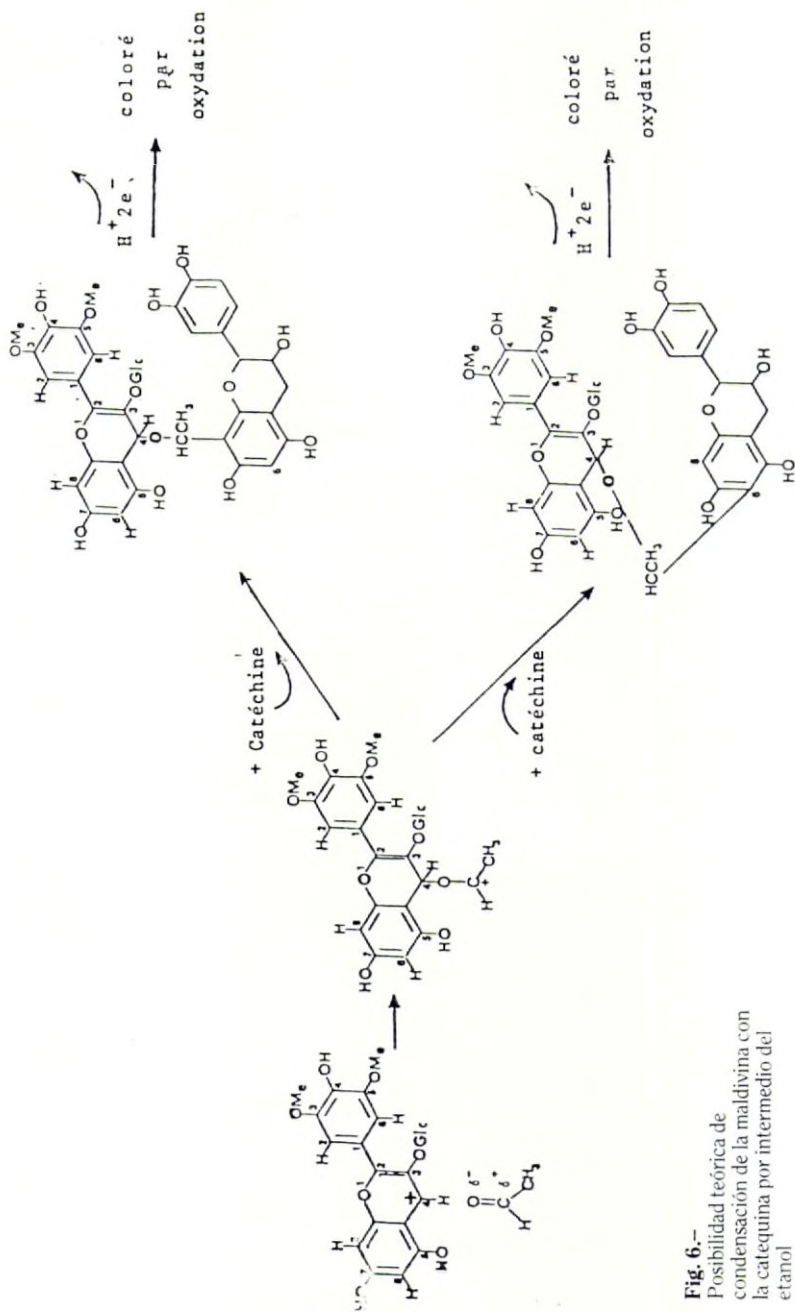
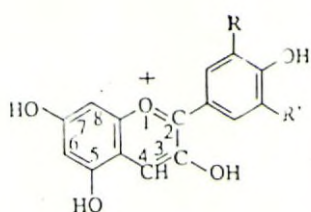
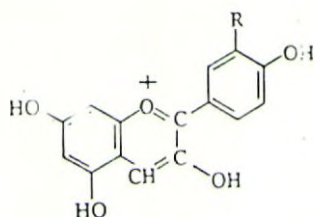


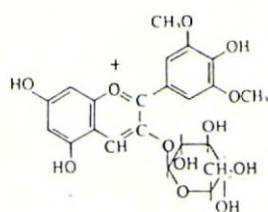
Fig. 6.-
 Possibilité théorique de
 condensation de la malvidine avec
 la catéchine par intermédiaire del
 étanol



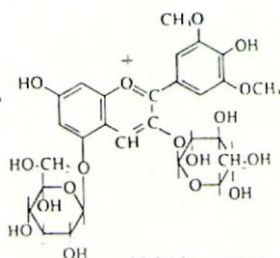
- 1 R = R' = OH; delphinidina
 2 R = OCH₃; R' = OH; petunidina
 3 R = R' = OCH₃; malvidina



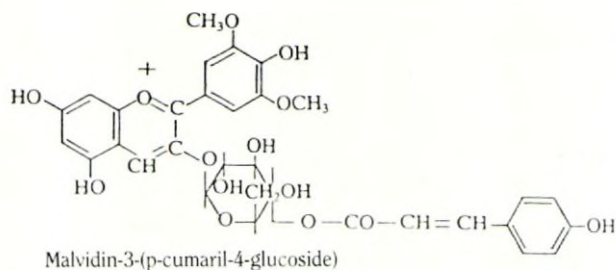
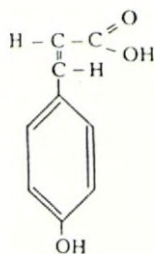
- 4 R = OH; cianidina
 5 R = OCH₃; peonidina



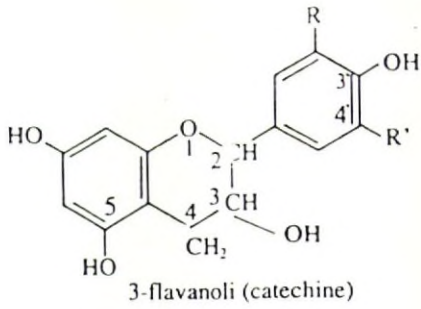
Malvidina-3-monoglucoside



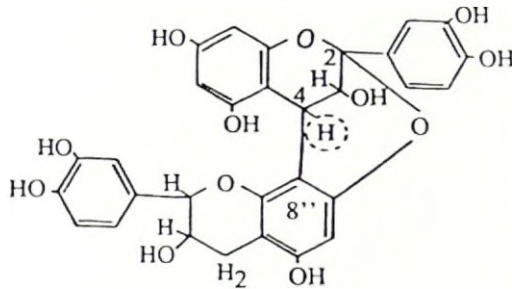
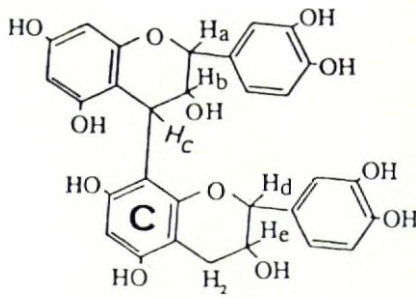
Malvidina-3,5-diglucoside



Malvidin-3-(p-cumaril-4-glucoside)



- R = R' = H afzelechina
- R = OH R' = H catechina
- R = R' = OH gallo catechina



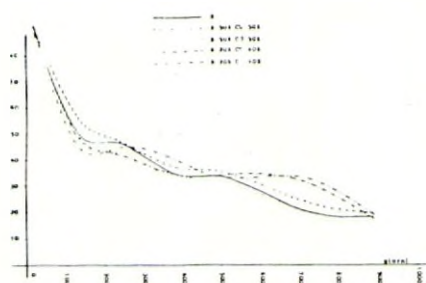


Fig. 9.-
Evolución porcentual de los
antocianos con el tiempo

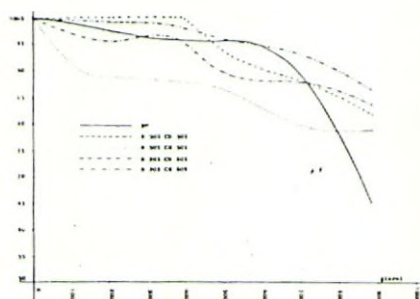


Fig. 10.-
Evolución porcentual del
leucoantociano con el tiempo

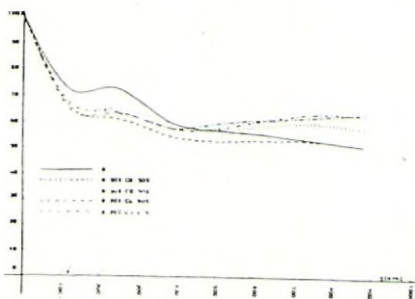


Fig. 11.-
Evolución porcentual de la
intensidad colorante con el tiempo

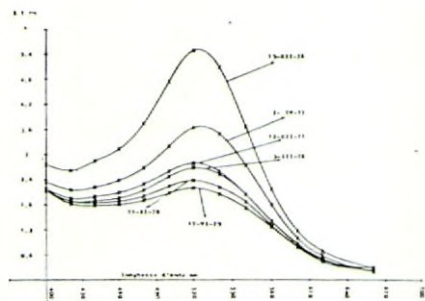


Fig. 12.-
Barberá. Espectro de absorción

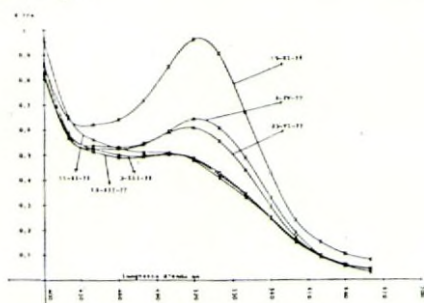


Fig. 13.-
Barberá 20% Cortese 80%
espectro de absorción

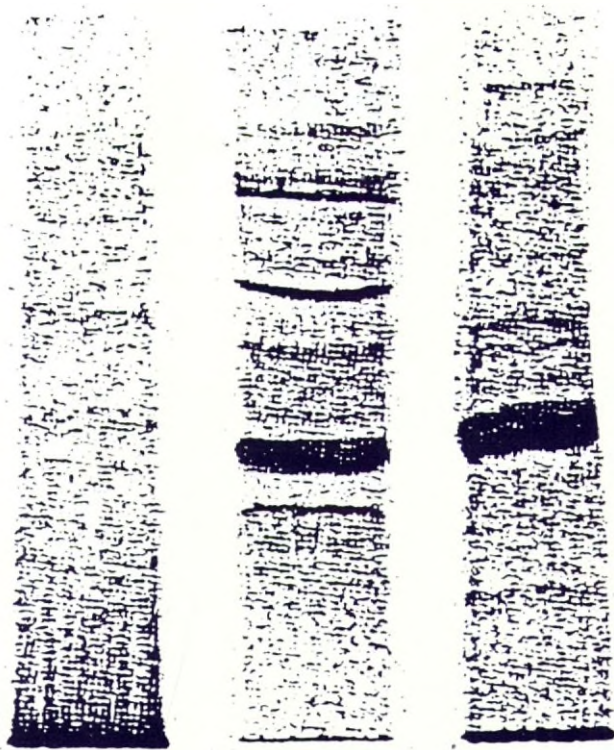


Fig. 14.-

LEGISLACION VITIVINICOLA: PANORAMICA GENERAL

El Doctor García Ruiz que no puede estar aquí hoy, como es su deseo y estoy seguro que también el de todos nosotros, había preparado su intervención con el cuidado y el rigor exquisitos que caracterizan todo su trabajo, pero circunstancias fuera de su control le impiden transmitir a ustedes directamente el resultado de su esfuerzo. Al sugerir una de las personas responsables del programa la posibilidad de que en lugar de suprimirse esta parte del mismo y dada la importancia para la región de Jerez de todo lo vitivinícola, preparara yo una intervención, no me pareció inoportuna la aceptación que mi presencia ante ustedes materializa, y ello fundamentalmente por razones particulares de servicio a los demás, en función de mi puesto de trabajo, que es el de Director de FEDEJEREZ (FEDERACION DE BODEGAS DEL MARCO DE JEREZ), y en función, también de lo relativamente singular de mis casi 25 años de vida en el Marco de Jerez alrededor, justamente, de los temas vitivinícolas que se dan en el mismo, primero como director de dos empresas líderes del Sector y desde 1978 dedicado a la gestión de las cuestiones de interés común para las bodegas exportadoras del Marco, dentro y fuera de España.

En este espíritu y abusando un poco de la estrecha relación de trabajo que me une al Doctor García Ruiz que como Presidente de FEDEJEREZ, es mi presidente, me ha parecido disculpable construir esta intervención mía sobre una doble plataforma, la primera formada por un resumen, que voy a leer, de la parte preparada por el Doctor García Ruiz y la segunda por un repaso general a lo ocurrido en el mundo vitivinícola español desde la Adhesión.

RESUMEN DE LO PREPARADO POR EL DR. GARCIA RUIZ

El título de la conferencia, "Legislación Vitivinícola: panorámica general" permitía orientar la intervención hacia muy diversos campos que tocan de una forma u otra la realidad del vino de Jerez. El tema de los Consejos Reguladores, su carácter de Corporaciones de Derecho Público, la legislación que los regula y la problemática de todo ello en

relación con el estado autonómico y las competencias asumidas en la materia por la Junta de Andalucía; el del Tratado de Adhesión de España a las Comunidades Europeas y, singularmente, lo referente a materia vinícola; la problemática específica creada para nuestros vinos y nuestro Marco de Jerez por el Artículo 129, ya famoso, del Tratado de Adhesión; o la derivada de los palos de ciego o en cierta medida las gruesas inexactitudes y errores cometidos por nuestra administración agrícola en materia, por ejemplo, de normas de etiquetado.

No obstante, el Doctor García Ruiz había decidido que las palabras utilizadas para identificar la conferencia requieren ceñirse a una problemática mucho más estricta, y adecuarse a lo que quizás se ha pretendido cuando se ha establecido una rúbrica para identificar esta conferencia de esa manera: encararnos con la problemática que plantea el conocimiento de cual puede ser la legislación vitivinícola que esté efectivamente vigente. Llevamos unos años en que los juristas han perdido su función más esencial, que es la de interpretar la norma jurídica y ofrecerle a los Organos Jurisdiccionales interpretaciones posibles de acuerdo con el conjunto del ordenamiento jurídico estableciendo aquello que se denomina principios generales, y han tenido que aplicarse a una labor posiblemente mucho más modesta pero realmente necesaria en los tiempos que vivimos: la de ser capaces de presentarle al Organo Jurisdiccional competente cual es efectiva e indubitadamente la norma que tiene que aplicar entre esa maraña inmensa de normas que siguen estando publicadas en las colecciones oficiales y que, sin embargo, muchos casos no están vigentes aún cuando no hayan sido expresamente derogadas. El viejo principio de que "los Jueces conocen el Derecho" no parece tener, en estos momentos la vigencia de siempre. Ocurre que los Jueces españoles, no los que pertenecen a los Tribunales Superiores y más distantes de nosotros mismos, sino todos los Jueces son, al propio tiempo, Jueces del Derecho Comunitario. Y es ya un tópico decir que nuestra incorporación a las Comunidades Europeas ha supuesto la recepción de un número ingente de normas, que estaban ya ahí y que se han convertido automáticamente en Derecho interno del Estado Español. Se trataba además de un tema no negociable: la incorporación a la Comunidad Económica Europea es en este punto inflexible, o lo tomas o lo dejas, pero si lo tomas has de tomarlo con la recepción obligada de lo que se conoce con el nombre de acervo jurídico comunitario. Este acervo jurídico comunitario está compuesto por un conjunto de disposiciones que en páginas del español Boletín Oficial del Estado, supondría unas treinta mil páginas. De estas materias comunitarias hay una que tiene singular importancia y que es la materia de agricultura, y dentro de la materia de agricultura una buena parte de las disposiciones comunitarias se refieren al tema vitivinícola y, por consiguiente, han producido una profunda transformación en la legislación vitivinícola que había en España. Ni que decir tiene que las normas comunitarias que se han ido produciendo después de la Adhesión de España a las Comunidades Europeas constituyen Derecho Interno Español y, habiendo sido transferidas a la Comunidad la mayor parte de las competencias en la materia, la legislación vitivinícola vigente es fundamentalmente comunitaria y no española.

Todo esto no es sino la consecuencia de un principio establecido por el Tribunal de Justicia de la Comunidad Económica Europea y que es el principio del efecto directo d'

la legislación comunitaria, principio que empezó a acuñar el Tribunal Comunitario en el año 1963 en un célebre caso cuyo nombre es VAN GEND-LOOS, y que comporta las siguientes consecuencias:

- a.- En primer lugar, las normas comunitarias se convierten en derecho interno en cuanto tales normas comunitarias han sido publicadas en el Diario Oficial de las Comunidades y, naturalmente, para los Países que accedieron más tarde de la publicación, en cuanto éstos firman su correspondiente tratado de adhesión. Esto significa que la publicación de estas normas en los Diarios Oficiales internos de cada uno de los países de la Comunidad no es necesaria, es más, el Tribunal la considera inaceptable.
- b.- En segundo lugar, estas normas comunitarias publicadas en el Diario Oficial de las comunidades y asumidas por los nuevos Estados miembros en virtud de sus tratados de adhesión a la Comunidad pueden ser directamente invocadas por los ciudadanos de los Estados Unidos miembros antes sus propios Organos Jurisdiccionales, ante sus Jueces naturales; y estos Jueces tienen la obligación de aplicar esa normativa comunitaria.
- c.- En tercer lugar, dichas normas comunitarias establecen derechos u obligaciones que afectan tanto a los Estados miembros como a los particulares o ciudadanos de los mismos en todo tipo de relaciones jurídicas a las cuales les resulte de aplicación el Derecho Comunitario.

Esto es de aplicación, a los llamados Reglamentos CEE o comunitarios. Es decir, los Reglamentos comunitarios son normas de aplicación inmediata y de efecto directo sobre los ciudadanos de la Comunidad y sobre los Estados miembros. Existe, sin embargo, otro tipo de normativa comunitaria, que son las Directivas, cuyos efectos no son directos; se trata de un tipo de norma en la cual se establece un marco o cuadro a partir del cual los Estados miembros deben ejercer sus facultades legislativas en esa materia concreta siempre que, naturalmente, respeten lo establecido en la Directiva y siempre que cumplan su obligación legislativa dentro de unos términos razonables. En el supuesto de que un Estado miembro legislase fuera del marco establecido por una Directiva o no legislase e impidiese por tanto la vigencia de esa Directiva por no realizar la conducta de producción normativa a que viene obligado, en ese supuesto también cabe que las Directivas tengan efecto directo y pudieran ser eventualmente invocadas por los particulares de los Estados miembros ante los Tribunales respectivos de acuerdo con una cierta jurisprudencia comunitaria como es la establecida en los casos VANDUYN y BECKER.

En materia de legislación vitivinícola, la inmensa mayoría, por no decir la totalidad, de la normativa comunitaria, tiene el carácter de Reglamento y, por consiguiente, se trata de una legislación respecto de la cual el principio del efecto directo se produce de forma indubitada.

Junto a este principio del efecto directo de los Reglamentos Comunitarios sobre los poderes públicos y los ciudadanos de un Estado miembro de la Comunidad, y ahora ya nos referimos al Estado Español, se superpone otro principio que lo complementa y que sirve de ayuda en la búsqueda de cual sea la norma realmente aplicable de aquellas que en teoría pudieran estar en vigor. Este segundo principio es el principio de la primacía aplicativa del Derecho Comunitario. El principio de la primacía consiste en términos ge-

nerales en la necesidad en que se ve el Jurista para escoger entre dos normas aparentemente iguales y susceptibles de ser aplicadas al caso concreto, una con preferencia a la otra para no producir resultados contradictorios. El principio de primacía, cuando se habla exclusivamente de los Estados Nacionales, y singularmente de los Estados unitarios, se ha establecido siempre muy claramente mediante el principio de la jerarquía normativa, en virtud del cual las normas se escalonan en una especie de pirámide, cuyos escalones ascendentes van siendo ocupados por las normas de mayor rango; y el principio establece que las normas de rango superior siempre prevalecen sobre las de rango inferior, sea cual se la fecha que tengan, y que dentro del mismo escalón o rango las normas de fecha posterior prevalecen sobre las de fecha anterior; en la primacía como consecuencia de la jerarquía normativa lo importante es el órgano de que proviene la norma, de tal manera que de una forma natural todos entendemos que las circulares o directrices de los Directores Generales de la Administración Pública son normas de menor categoría que las órdenes de los Ministros, las cuales, a su vez, son normas inferiores a los Decretos de los Gobiernos y, a su vez, las normas provenientes de los Gobiernos son normas inferiores a las Leyes que provienen de los Parlamentos.

Sin embargo, cuando se producen fenómenos de Estados no unitarios, sea porque el Estado adquiere la complejidad, declarada o no, de un Estado compuesto, como nos puede ocurrir a nosotros con las Autonomías, sea porque el Estado se integra en organizaciones supranacionales como la Comunidad a las cuales se les reconoce capacidad normativa expresa, en todos estos supuestos el principio de jerarquía normativa que nos establecía bien a las claras la primacía de la norma tiene que ser forzosamente completado con otro tipo de principio que sea capaz también de revelarnos cual es la primacía entre órganos que emiten normas aparentemente iguales. Esto ocurre, por ejemplo, en el fenómeno entre las Comunidades Autónomas y el Estado donde las Leyes que hacen los Parlamentos Autonómicos son leyes idénticas a las leyes que hace el Estado, sin que por provenir del Estado tengan más rango porque lo que le da el rango no es la procedencia del Estado o de la Comunidad Autónoma, sino la procedencia de un Parlamento, y tan Parlamento es el Parlamento de la nación como el Parlamento de una Comunidad Autónoma concreta. Y cuando hubo que encararse con la complejidad derivada de estas situaciones, los Juristas no tuvieron más remedio que acordarse de un viejo principio que estaba arrinconado dentro del propio Estado unitario, pero que a veces se aplicaba, bien que con tanta naturalidad, por derivar de las circunstancias, que nadie reparaba en su vigencia y consiguientemente en su valor. Era, por así decirlo, algo que respondía a las reglas del más elemental sentido común. Todos eramos conscientes de que un Decreto del Consejo de Ministros o una Ley del Parlamento era muy superior en cuanto a jerarquía normativa al bando de una alcaldía; sin embargo, todos eramos subconscientemente conscientes de que no era de recibo el admitir que un Decreto o una Ley se ocupase por ejemplo de la ordenación del tráfico en una ciudad concreta, de si las calles debían tener una dirección u otra, y eso, no porque el asunto fuese de una importancia pequeña, sino porque en la lógica y en el sentido común ese tema era competencia de la Alcaldía. Por la misma razón, siendo iguales las Ordenes Ministeriales procedentes de un Ministro que de otro Ministro, a nadie se le ocurría pensar que una Orden del Ministro de Agricultura

podiera reglamentar o establecer el precio de la gasolina y sus derivados, o que una Orden del de Industria hiciera referencia al precio del trigo o del agua; se trataba indudablemente del principio de competencia, según el cual cada Órgano debía moverse en el ámbito estricto competencial que tenía atribuido de acuerdo con el Ordenamiento Jurídico.

Pues bien, la incorporación al Mercado Común supone un desglose material de competencias entre Estados miembros y la Comunidad Económica Europea, y hay toda una serie de materias que, por ser competencia de la Comunidad Europea, hacen que la Normativa que proviene de ésta tenga primacía sobre la normativa interna anterior cualquiera que sea su rango y produciendo, asimismo, el efecto de hacer inviable, por inconstitucional, en cuanto violadora de los artículos de la Constitución que han permitido el acceso al Mercado Común, artículos 93 y 96 de nuestra Constitución, toda aquella normativa posterior al Tratado de Adhesión que pudiera contradecir lo dispuesto en materia de su competencia por la Comunidad Económica Europea. La singularidad, además, en este segundo supuesto de normas internas posteriores al Tratado de Adhesión que devienen inconstitucionales, es que los Jueces nacionales no tienen necesidad de acudir al Tribunal Constitucional para que declare la inconstitucionalidad, sino que, de acuerdo con la propia Jurisprudencia del Tribunal de las Comunidades Europeas, los Jueces internos los que deben hacer es inaplicar la norma interna española por contradecir la norma comunitaria.

En materia de legislación vitivinícola están *vigentes* actualmente 127 Reglamentos Comunitarios. El número de Reglamentos Comunitarios publicados en materia vinícola es muy superior, pero una buena parte de ellos han agotado su capacidad normativa por la modificación que han hecho de Reglamentos anteriores, y por eso, cuando se da el número de Reglamentos vigentes, se trata no de los Reglamentos que han ido saliendo para producir modificaciones puntuales y concretas en otros Reglamentos, sino de los cuerpos normativos con sustantividad propia. Por ejemplo, el Reglamento CEE 822/1987, que es básico en materia vitivinícola, ha sido modificado hasta ese momento preciso por 9 Reglamentos distintos, el último de los cuales ha sido publicado en el Diario Oficial de las Comunidades el 11 de Mayo del corriente año y, naturalmente, al hablar de que hay alrededor de 125 a 130 Reglamentos sustantivos no se trata de todos estos que han ido produciendo modificaciones o alteraciones, o estableciendo la vigencia de una entrada en vigor de los Reglamentos de base, sino exclusivamente, digamos, de los Reglamentos con enjundia propia, es decir, que regulan alguna materia concreta y determinada vitivinícola y que están vigentes en este momento. Por cierto que, con referencia al problema que tiene el Derecho Europeo de sus modificaciones frecuentes, se dice que resulta a veces más fácil modificar un Reglamento comunitario que no una situación establecida y, desde este punto de vista, la construcción del Mercado Común es una construcción con una problemática compleja y específica, pero también llena de sentido común y en muchas ocasiones lo que se produce es la adaptación de la norma a la realidad y no al revés. De ahí, al menos en parte, lo de la Europa de los mercaderes. Y así, quizá queriendo poner coto a todo este problema de las modificaciones reglamentarias, el 1 de abril de 1987 la Comisión Europea decidió la obligatoriedad de que se produzca una especie de texto

refundido de todo Reglamento que haya sido modificado más de diez veces y, en este sentido, aunque la Comunidad, funciona con lentitud, se conocen ya una serie de trabajos en curso en los que se está procediendo a efectuar las labores preparatorias para hacer textos refundidos de algunos Reglamentos en base precisamente a que han sido objeto de muchas modificaciones por Reglamentos posteriores con esa finalidad precisa y específica.

En la actualidad hay 125 Reglamentos vigentes y de aplicación a lo vitivinícola. La relación de estos Reglamentos se incluye al final del texto de esta intervención. Destacándose que el primer Reglamento es el 1019/70 de la Comisión de 29 de mayo de 1970 y el último el 1328/89 de la Comisión del 16 de mayo de 1989.

Hasta aquí el resumen de la parte de la conferencia preparada por el Dr. García Ruiz hace ya más de un mes.

EL MUNDO VITIVINICOLA ESPAÑOL DESPUES DE LA ADHESION

ANTECEDENTES INMEDIATOS A LA ADHESION A LA CEE.

España presenta una superficie total de viñedos del orden de 1,6 millones de hectáreas; unas 80.000 Has. de uva de mesa, y 1,52 millones de Has. plantadas de uva de vinificación.

El viñedo español representa aproximadamente el 16% de la superficie mundial de este cultivo y el 36% del viñedo de la CEE, siendo España el país que dispone de la mayor extensión de viñedo y el tercero en producción de vinos después de Francia e Italia, principales productores. El rendimiento medio español es 25 Hl. de vino por hectárea, el rendimiento medio comunitario, de 70 Hl./Ha., casi tres veces más.

En España ni las condiciones climatológicas ni las características de los terrenos utilizados permiten acercar el rendimiento por hectárea al medio comunitario, ni la política de reducción de los rendimientos emprendida por la Comunidad lo aconseja. Frente a esto, los rendimientos por Ha. en el viñedo de Jerez son hoy superiores a los 80 Hls.

La producción vinícola española, del orden de 36 a 38 millones de hectólitros, presenta grandes fluctuaciones debido fundamentalmente a factores climatológicos, oscilando entre los 21,8 millones de hectólitros de la campaña 1977/78 y de esta campaña 1988/89, y los 48,2 millones de hectólitros de la campaña 1979/80.

Globalmente, antes de la adhesión, los vinos de mesa sin denominación de origen constituían alrededor de 70%; los vinos tranquilos con denominación de origen superaban el 10%; otro 10% estaba constituido por vinos españoles, fundamentalmente generosos, y se destinaba un volumen próximo al 20% para la destilación con destino a la elaboración de brandy, casi en su totalidad elaborado en Jerez.

Una característica importante de esta producción la constituye el predominio de los vinos blancos con relación a los tintos; existe en España la práctica habitual de la mezcla de ambos vinos para satisfacer la demanda interior que se dirige fundamentalmente hacia los vinos tintos.

El mercado vinícola español, al igual que el de la CEE, presenta una situación de excedentes estructurales; grandes fluctuaciones de la producción con tendencia creciente, mientras que el consumo directo se encuentra estacionado e incluso en regresión.

La exportación de vinos se sitúa en el entorno de los 5,5 millones de hectólitros, 1,1 de vino de Jerez.

El "Estatuto de la Viña, del Vino y de los Alcoholes", del año 1970, pretendía dar respuesta a la crisis del Sector, que más que un excedente estructural padecía una inadecuación entre la oferta y la demanda. Entre las principales medidas y actuaciones puestas en práctica desde entonces cabe reseñar:

- a) Limitación de nuevas plantaciones.
- b) Ayudas a la reconversión para sustituir viñedos de mala calidad o situados en terrenos sin vocación vitivinícola.
- c) Prohibición del riego del viñedo.
- d) Destilación obligatoria para los vinos obtenidos a partir de viñedos de uva de mesa.
- e) Medidas reguladoras de la producción, (excepto para determinadas denominaciones de origen), control de viveros, recalificación de variedades, reconversión y reestructuración del viñedo de acuerdo con el Real Decreto 275/84, y la puesta en marcha de planes relativos a determinadas denominaciones de origen.
- f) Mecanismos de regulación del mercado de vinos de mesa, con eliminación de los excedentes por medio de adquisiciones sucesivas con destino a la destilación.
- g) Industrialización y comercialización, con promoción de vinos con denominación de origen a través de ferias y exposiciones, régimen de libertad de precios para los vinos de mesa, programa de información y orientación al consumo, establecimiento de restituciones a la exportación de vinos a granel.

Este programa con algunas modificaciones se mantuvo vigente hasta el momento de la adhesión a la CEE.

La exportación de vinos españoles a la CEE alcanzó en los cuatro años anteriores a la adhesión una cifra próxima a los 2 millones de Hls. anuales, siendo por el contrario las importaciones en España de vinos procedentes de la CEE del orden de 20.000 hls/año. De conformidad con el acuerdo comercial CEE-España de 1970 se acordaron concesiones tarifarias en forma de contingentes para determinados vinos españoles (Jerez, Málaga, Jumilla, Priorato, Rioja y Valdepeñas), con reducción de los derechos de aduana en el entorno del 60%. Las importaciones en la CEE de vino procedente de España estaban sometidas al respeto del precio de referencia y, como contrapartida del acuerdo bilateral, no se aplicaba la exacción reguladora prevista en el reglamento de base.

Las restituciones a la exportación se otorgaban por el FORPPA para los vinos a granel sin denominación de origen, con excepción de los destinados a la CEE, USA y Canadá.

En los contactos oficiales con la Comisión así como en las declaraciones en la Conferencia de negociación se identificaron los distintos problemas que permitieron realizar los trabajos preparatorios de la negociación:

- a) Mezcla de vinos blancos y tintos prohibida en la Comunidad.
- b) Prácticas enológicas, con las necesarias adaptaciones respecto al grado alcohólico mínimo al consumo de los vinos de mesa, contenido en sulfuroso, mantenimiento de la prohibición de la adición de sacarosa (chaptalización), definición de

vinos dulces naturales, y toda la problemática relativa a los vinos de licor (generosos, crianza bajo velo y mistelas), productos derivados del vino: sangría y clarea.

- c) Denominaciones de origen y su adaptación a vinos de calidad producidos en regiones determinadas (v.c.p.r.d.).
- d) "British wines" y "Irish wines" como bebidas tradicionales elaboradas a partir de mosto deshidratado que comportan la palabra vino.
- e) Designación y presentación de productos vitivinícolas con toda la problemática de su etiquetado para los vinos de mesa, v.c.p.r.d., vinos espumosos y vinos de licor.
- f) British Sherry, como grave problema que afecta directamente a la protección de la denominación de origen Jerez-Xérès-Sherry.

El número de Denominaciones de Origen aprobadas hasta el fin del año 1985 era de 28, con volumen global de vino comercializados por las mismas de unos 6,5 millones de Hls.

EL SECTOR VITIVINICOLA ESPAÑOL EN EL TRATADO DE ADHESION

1. **Precios.** Para cada uno de los vinos de mesa del Reglamento CEE 822/97 (en 1985/86, 337/79) se fija antes del 1 de Agosto un precio llamado de orientación. El precio de orientación inicial fue fijado para el vino blanco de mesa a un nivel tal que la relación entre el precio de compra establecido para la destilación obligatoria y el precio de orientación fuera del 50%. El precio de orientación aplicable al vino tinto fue obtenido aplicando al precio de orientación del vino blanco de mesa la relación existente en la Comunidad a diez (expresión ésta que define la situación en 1985) entre los precios de orientación de los vinos de mesa, es decir, de los vinos tranquilos, digamos, ordinarios.

La aproximación de precios institucionales se efectúa en siete etapas a contar desde el 1.º de Marzo de 1986. A Jerez, el precio de orientación le afecta sólo en lo que concierne al aprovisionamiento de vinos tranquilos en Mancha etc. para fabricar aguardientes con destino a la elaboración de brandy.

2. **Destilación obligatoria.** A efectos de aplicación de esta medida, la producción media de vinos de mesa de las tres campañas de referencia se fija en 27,5 millones de Hl. Las condiciones de precio institucional para esta operación de limpieza de excedentes se van endureciendo, buscando la reducción de la producción excedentaria de vino en la Comunidad.
3. **Intercambios.**

3.1. Montantes reguladores.

Ha sido creado un mecanismo de montantes reguladores para los intercambios de productos vitivinícolas que hayan sido objeto de la fijación de un precio de referencia, habiendo sido establecida su cuantía para el vino blanco de mesa en la diferencia entre los precios de orientación en España y en la CEE a diez. Para los vinos tintos ha sido fijado, a niveles inferiores, teniendo en cuenta su precio más elevado en el mercado español.

En ambos casos han ido evolucionando a la baja con la aproximación de precios institucionales.

3.2. Mecanismo complementario de los intercambios.

Para los productos del sector vinícola, entre otros, ha sido creado un mecanismo complementario aplicable a los intercambios entre la CEE a 10 y España, fijándose por productos unos límites indicativos de acuerdo con las exportaciones anteriores a la Adhesión, cuyos volúmenes son incrementados cada campaña, hasta conseguir la libre circulación al final de período transitorio en 1993. En caso de superarse estos límites y si hubiera un riesgo de perturbación del mercado se adaptarán las medidas necesarias para restablecer el equilibrio del mercado.

4. Excepciones contempladas.

4.1. Mezcla de vinos.

Se autoriza en territorio español la mezcla de vinos blancos y tintos hasta el 31 de Diciembre de 1989, no pudiendo mezclarse los vinos españoles con los de otros Estados, miembros durante este período; los vinos obtenidos por mezcla no podrán ser enviados a los otros Estados miembros.

4.2. Vinos enverados.

Hasta final de 1995, los vinos producidos en las regiones de Asturias, Cantabria, Galicia, Guipúzcoa y Vizcaya, podrán tener un grado alcohólico no inferior al 7% vol, quedando restringida su circulación en este caso al territorio español.

4.3. Acidez total.

Para los vinos producidos y comercializados en España, se autoriza un contenido de acidez total no inferior a 3,5 gr/l. expresada en ácido tartárico, en lugar de los 4,5 gr/l., exigidos en el resto de la CEE.

4.4. Jerez-Xérès-Sherry.

Según el artículo 129 del Tratado de Adhesión, se autorizará hasta el 31 de diciembre de 1995 en el Reino Unido e Irlanda la utilización de las denominaciones compuestas a British Sherry, Irish Sherry y Cyprus Sherry. En 1995 el Consejo de Ministros de la Comunidad adoptará una modificación a propuesta de la Comisión teniendo en cuenta los intereses de todas las partes afectadas.

4.5. Ayuda a los mostos de uva.

El artículo 128 prevé que hasta el final de la campaña 1992/93, el importe de la ayuda a los mostos para enriquecimiento será fijado teniendo en cuenta la diferencia del costo con relación a la utilización de sacarosa. Actualmente no está autorizado el enriquecimiento en España, y además ha sido retirada la ayuda al enriquecimiento a aquellos elaboradores que utilicen mostos elaborados en nuestro país, al haber sido anulados los montantes reguladores al mosto.

5. Medidas estructurales.

El Tratado de Adhesión preveía la aplicación a España de las medidas so-

cioestructurales en el viñedo, contempladas en los Reglamentos 777/85 y 458/80. El primero ha sido adaptado a las condiciones específicas del Sector en nuestro país. El Reglamento CEE 1442/88 establece las condiciones de arranque de viñedo y de concesión de primas para incentivarlo/compensarlo, primas que en el caso de Jerez llegará a ser del orden de 1.000.000 ptas./Ha.

6. **Vinos con Denominación de Origen.**

Los vinos españoles considerados, con arreglo a la normativa comunitaria, como vinos de calidad producidos en regiones determinadas (v.c.p.r.d.) son los producidos y efectivamente comercializados por una Denominación de Origen española.

7. **Vinos de licor.**

La definición comunitaria de vinos de licor se adapta para acoger las peculiaridades de elaboración y las características de los tradicionales vinos especiales españoles incluidos en este grupo y que suponen una parte importante de la producción conjunta de la CEE. Dentro de la definición general de vino de licor, se incluyen dos nuevos epígrafes "vino generoso" y "vino generoso de licor" para atender a la situación de estos vinos, que en la práctica son los vinos de Jerez precisamente, en nuestro país. El Reglamento CEE 4252/88 del Consejo establece lo relativo a la elaboración y a la comercialización de los vinos de licor producidos en la Comunidad. En el mismo se reconocen las prácticas tradicionales y las particularidades de la elaboración y crianza de los vinos de Jerez.

8. **El Cava.**

Los vinos espumosos Cava regulados normativamente en el Reglamento de los Vinos Espumosos y Gasificados de 27 de Julio de 1972, se encontraron en el segundo semestre del año 1985 con que la CEE, por una parte, modificó el Reglamento 358/79 sobre condiciones de producción de los vinos espumosos e igualmente estableció, por el Reglamento 3309/85, la normativa aplicable en materia de designación y presentación de este tipo de vinos entre los que se incluían como categoría superior las normas aplicables a los v.e.c.p.r.d. Igualmente este último Reglamento establecía un período transitorio a partir del cual la expresión Methode Champenois se debía dejar de utilizarse en los vinos espumosos no procedentes de la región de Champagne.

Tales hechos fueron antecedentes inmediato junto con la Sentencia del Tribunal de Justicia de Luxemburgo en relación con el término "sekt" (que define a ciertos vinos espumosos alemanes) del cambio legal que supuso para el Cava la publicación de la Orden Ministerial de 27 de julio de 1986, por la que se establece la reserva de esta Denominación para los vinos espumosos de calidad elaborados por el método tradicional en la región determinada y cuyo marco geográfico se delimita en el anexo de la Orden. Tal situación legal posibilitaría a posteriori el acceso del Cava a la consideración comunitaria de v.e.c.p.r.d., lo cual acaba de establecerse en fecha reciente, alcanzando el Cava el mismo nuevo rango especial que Francia había querido reservar para el Champagne.

9. Política de Calidad.

Producida la Adhesión de España a la CEE la normativa reguladora de los vinos de calidad comunitarios estaba recogida con carácter básico en el Reglamento (CEE) 378/39, que establecía disposiciones específicas relativas a los vinos de calidad producidos en regiones determinadas (v.c.p.r.d.) codificado posteriormente por el Reglamento 823/87. Esta regulación que parte del año 1970, cabe considerarla con el carácter de normativa marco en la cual se insertan las distintas legislaciones nacionales sobre Denominaciones de Origen (Francia, Italia, Grecia, España) y sobre vinos de calidad (Alemania y Luxemburgo) respondiendo a la consideración de mínimo común denominador a que deben ajustarse los distintos v.c.p.r.d. En consecuencia y tal como se indica en el artículo 1.º del citado Reglamento, los v.c.p.r.d. deberán atenerse tanto a las disposiciones contenidas en el mismo, como a las efectuadas por los países miembros para los vinos producidos en su territorio.

Debe tenerse en cuenta igualmente el cambio conceptual y legal que se produce en la relación "vino con Denominación de Origen-vino de mesa". En nuestra normativa interna, Ley 25/1970, el vino de mesa era aquel vino, bien con denominación de origen o sin protección, que respondía a práctica comunes de elaboración y procedía de variedades de vinificación autorizadas. En la CEE la diferenciación entre v.c.p.r.d. y los vinos de mesa es neta, tanto a nivel teórico como práctico y de control (declaraciones de cosechas y existencias, circulación, registros, designación y etiquetado, regulación de mercado, etc.).

La necesidad de adecuación al nuevo marco de juego comunitario así como a la situación derivada de solución de competencias en materia de Denominaciones de Origen por las Comunidades Autónomas, ha hecho preciso la actualización de la normativa en esta materia reflejada en la publicación del Real Decreto 157/1988, por el que se establece la normativa a que deben ajustarse las Denominaciones de Origen y Denominaciones de Origen Calificadas y sus respectivos Reglamentos.

Los aspectos más relevantes de tal Decreto son los siguientes:

- Articulación efectiva de nuestros vinos de calidad en dos escalones: Denominaciones de Origen y Denominaciones de Origen Calificadas, con un grado de exigencias y requisitos reforzado en este último nivel. Esta regulación ya prevista en la Ley 25/1970 estimamos que contribuirá a clarificar el mapa de nuestros vinos de calidad, actuando como elemento de sana emulación. Por otra parte, países como Francia e Italia, de inevitable referencia en este tema, cuenta también con un sistema semejante para sus vinos de calidad.
- Clasificación de las zonas productoras de vinos con Denominación de Origen.

El Real Decreto señala que para la vigencia de una Denominación concreta, la misma deberá cumplir las siguientes dos condiciones acumulativas:

- a) Que como mínimo, se encuentre inscrita en sus registros el 25% de la

superficie total de viñedo de vinificación de la zona de producción.

- b) Que dicha denominación de Origen comercialice al menos el 50% del total de vino procedente de los viñedos inscritos como efectivamente amparado y protegido por la Denominación de Origen que corresponda.

Con ello se trata de que la delimitación de las zonas corresponda a una adecuada vocación hacia la producción de vinos de calidad.

El propio Decreto indica que el plazo máximo a partir del cual serán exigibles dichos requisitos no podrá exceder de cinco años. La aplicación de esta normativa, bien por las Comunidades autónomas bien por el propio Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, en el ámbito de sus respectivas competencias, puede producir a medio plazo la reestructuración de algunas de nuestras Denominaciones de Origen, fundamentalmente por la vía de su división en núcleos de carácter más homogéneo, tanto en lo referido a aspectos de cultivo y elaboración, como comerciales.

- El Real Decreto potencia igualmente la conveniente separación entre los vinos de mesa y los vinos con Denominación de Origen, limitando por un lado la permeabilidad entre las situaciones de viñedo para Denominación de Origen y viñedo para vino de mesa, fijándose un plazo de cinco años antes de que una parcela pueda volver a inscribirse tras haberse dado de baja en los registros de la Denominación. Igualmente en el sentido indicado y para las bodegas inscritas se limita la coexistencia de vinos protegidos con aquellos otros que no tengan tal carácter, a que estos últimos procedan de la zona de producción de la respectiva Denominación de Origen, manteniéndose para los procedentes de otras áreas geográficas la restricción relativa a la necesidad de existencia de locales contenida en la generalidad de los Reglamentos de las Denominaciones.
- En relación con el embotellado en origen se mantiene como criterio general de aplicación a nuestras Denominaciones y ello por motivos tanto de índole técnico como de control y de defensa del consumidor. No obstante, nuestra normativa permite que las Comunidades autónomas regulen en el Reglamento de una Denominación de Origen concreta, la posibilidad de que las bodegas embotelladoras de vino protegido puedan situarse fuera de la zona de producción de referencia.
- En lo referente a las Denominaciones de Origen Calificadas se establecen con un criterio geográfico y las mismas podrán abarcar, bien a la totalidad de la zona de producción de una Denominación de Origen, o bien a una unidad geográfica incluida en la zona de producción superior en extensión a, un término municipal. Entre los condicionantes para el acceso al régimen de Denominación de Origen Calificada, debe destacarse el fijado con carácter alternativo sobre la existencia previa de acuerdos colectivos interprofesionales inscritos en el marco de la Ley 19/1982 de contratación Agraria, no tanto como parámetro objetivo de

M por 378R0688 (DO L 093 07.04.78 p.14). (EE 03 V13 p.273).

M por 378R1666 (DO L 192 15.07.78 p.51). (EE 03 V14 p.202).

M por 379R1243 (DO L 158 26.06.79 p.5). (EE 03 V16 p.151).

M por 380R3104 (DO L 324 29.11.80 p.63). (EE 03 V19 p.227).

M por 384R2135 (DO L 196 26.07.84 p.21). (EE 03 V31 p.188).

M por 388R2452 (DO L 212 05.08.88 p.28).

377 R 0643

Reglamento (CEE) n.º 643/77 de la Comisión, de 29 de marzo de 1977, sobre modalidades de aplicación de la mezcla y la vinificación en las zonas francas del territorio geográfico de la Comunidad para los productos del sector del vino que sean originarios de terceros países.

DO L 081 30.03.77 p.7. (EE 03 V12 p.102).

M por 380R3203 (DO L 333 11.12.80 p.18). (EE 03 V20 p.3).

C por 386R0418 (DO L 048 26.02.86 p.8).

377 R 1297

Reglamento (CEE) n.º 1297/77 de la Comisión, de 16 de junio de 1977, sobre cuarta modificación del Reglamento (CEE) n.º 1019/70 relativo a las modalidades de aplicación del establecimiento de los precios de oferta franco frontera y de la fijación del gravamen compensatorio en el sector del vino.

DO L 149 17.06.77 p.10. (EE 03 V12 p.206).

M por 378R0423 (DO L 059 01.03.78 p.38). (EE 03 V13 p.252).

377 R 2682

Reglamento (CEE) n.º 2682/77 de la Comisión, de 5 de diciembre de 1977, relativo a la observación de las cotizaciones y al establecimiento de los precios medios y de los precios representativos para los vinos de mesa.

DO L 312 06.12.77 p.8. (EE 03 V13 p.146).

M por 179H.

M por 381R0031 (DO L 002 01.01.81 p.26). (EE 03 V21 p.4).

M por 386R0418 (DO L 048 26.02.86 p.8).

378 R 1972

Reglamento (CEE) n.º 1972/78 de la Comisión, de 16 de agosto de 1978, por el que se establecen las modalidades de aplicación para las prácticas enológicas.

DO L 226 17.08.78 p.11. (EE 03 V14 p.254).

C por 380R0045 (DO L 007 11.01.80 p.12). (EE 03 V17 p.102).

379 R 0344

Reglamento (CEE) n.º 344/79 del Consejo, de 5 de febrero de 1979, por el que se establecen las normas generales para la fijación del precio de referencia y la recaudación del gravamen compensatorio en el sector del vino.

DO L 054 05.03.79 p.67. (EE 03 V15 p.217).

379 R 0345

Reglamento (CEE) n.º 345/79 del Consejo, de 5 de febrero de 1979, por el que se

centrado en los temas siguientes, que vienen reflejados en los R (CEE) 1441/88 del Consejo, que modifica el R (CEE) 1442/88 del Consejo, sobre concesión para las Campañas vitivinícolas 1988/89 a 1995/96, de primas por abandono definitivo de superficies vitivinícolas.

11.2. **Modificación del artículo 39 del R (CEE) 822/87, en relación con la destilación obligatoria.**

Esta modificación contempla dos aspectos importantes: *armonización de los baremos* progresivos establecidos en función del rendimiento por Ha. para las regiones o países de la Comunidad, y *disminución progresiva del precio de compra* de los vinos de mesa entregados a la destilación obligatoria.

Esta *armonización de los baremos* se refiere exclusivamente a Francia e Italia, ya que España y Grecia cuyos rendimientos son sensiblemente inferiores al rendimiento medio de la Comunidad, continuarán fijando el baremo progresivo con los mismos criterios que los establecidos en las dos campañas anteriores.

La *disminución progresiva* del precio de compra de los vinos de mesa entregados a la destilación obligatoria, constituyen una penalización en aquellas campañas en que se sobrepase el 10% de las utilizaciones normales. En efecto, la situación actual era aplicar el 50% del precio de orientación al volumen de vino que en destilación obligatoria, no superase los 12,5 millones de Hl., y el 40% del precio de orientación para un volumen superior, con la excepción para España relativa a este 40% que debería alcanzarse en la campaña 1990/91.

La nueva situación prevé a partir de la campaña 1990/91 que los anteriores porcentajes serán 50% del precio de orientación para la cantidad total que deba destilarse que no sobrepase el 10% de las utilizaciones normales (unos 9,7 millones de Hl.) y 7,5% del precio de orientación cuando la cantidad total que deba destilarse supere el 10% de las utilizaciones normales. El precio de compra será el resultado de la media ponderada de ambas cifras, estando previsto para las dos campañas intermedias una "transmisión armoniosa" entre aquellos y éstos porcentajes del precio de orientación, que se fijará mediante votación en el Comité de Gestión de Vinos.

Pese a la drástica reducción que supone este 7,5% del P.O., si consideramos el precio medio ponderado de las destilaciones obligatoria y preventiva, para España, consecuencia de la aproximación de precios a la CEE-10, puede estimarse que hasta la campaña 1992/93, continuará subiendo el precio de compra de los vinos de mesa siempre que el productor se acoja a una deducción en concepto de destilación preventiva que oscile entre un 30% y un 50% de su cosecha. (Preventiva + obligatoria).

11.3. **Medidas socio-estructurales.**

El régimen comunitario de fomento del cese de la actividad agrícola, R

(CEE) 1096/88, y la modificación de los Reglamentos en lo relativo a la retirada de tierras de cultivos herbáceos y a la extensificación de la producción, R (CEE) 1094/88, supone una importante modificación del R (CEE) 797/85 relativo a la mejora de la eficacia de las estructuras agrarias. Aunque son reglamentos de carácter horizontal, tienen indudable incidencia en el sector vitivinícola.

El reforzamiento de las medidas de arranque voluntario por abandono definitivo de superficies vitícolas, R (CEE) 1442/88, estará siempre condicionado en su aplicación para España a que las condiciones naturales, riesgo de despoblación, o reestructuración del viñedo en el marco de operaciones colectivas, desaconsejen una reducción de la producción dentro del límite del 10% del potencial de producción española.

11.4. Primas por abandono definitivo de superficies vitícolas.

La concesión, para las campañas 1988/89 a 1995/96, de primas por abandono definitivo de superficies vitícolas, se modula en función de los rendimientos por Ha., a razón de 1.200 ECUS (185.000 Ptas.) para rendimientos inferiores a 20 HL/Ha y 3.800 ECUS (586.000 ptas.) para rendimientos de 40/50 Hl/Ha. Su aplicación se realizará a partir de la campaña 1988/89, existiendo una cláusula especial para España para que el importe de las primas antes citado se aproxime sucesivamente de manera uniforme, al principio de cada una de las campañas intermedias, al nivel comunitario que será aplicable a partir de la campaña 1992/93.

El 31 de mayo de 1989 ha salido publicada en el B.O.E. una Orden mediante la cual se abre el plazo para la presentación de solicitudes para la ayuda al arranque definitivo de la plantación de viñedos. El plazo de presentación de solicitudes para la campaña 89/90 finaliza el próximo 31 de julio. Para las siguientes campañas, hasta la 95/96, el plazo se establece desde el 1 de mayo al 31 de julio de cada año. Las primas por hectáreas varían en función de la campaña en que se solicite el arranque, así como de la producción de las tres últimas campañas, a continuación se reproduce el cuadro de ayudas según producción, para la presente campaña:

| Carretadas/ aranzada | menos de 1,78 | Entre 1,78 y 2,67 | Entre 2,67 y 3,57 | Entre 3,57 y 4,46 | Entre 4,46 y 8,03 | Entre 8,03 y 11,6 | Entre 11,6 y 14,28 | Mas de 14,28 |
|-------------------------------|-----------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Campaña 89-90 ptas./Ha) | 1114 Ecu (173.546) | 2.414 Ecu (376.067) | 3.071 Ecu (478.419) | 3.500 Ecu (545.251) | 4.500 Ecu (701.037) | 6.228 Ecu (970.037) | 7.914 Ecu (1.232.890) | 8.164 Ecu (1.314.911) |

A los socios de cooperativas, se les disminuirá la prima en un 15%, importe éste que será entregado a la Cooperativa para indemnizarla por la menor aportación de uva que recibirá, como consecuencia del arranque primado. Igualmente, en el caso de que la superficie arrancada constituya la totalidad de la superficie vitícola cultivada por el solicitante, se incrementarán las primas anteriores en una cantidad variable que puede llegar a 600 ECUS en la campaña 92-93 (3.472 Ptas./Ha.).

11.5. **Fomento del cese de la actividad agrícola.**

Si el viticultor disfrutara de la indemnización anual (empresarios agrícolas mayores de 55 años, como actividad principal), la prima de abandono definitivo podrá concederse a petición del interesado, en forma de una prima anual de un importe máximo de 1350 ECUS/Ha., y que se concedería por el período fijado para esta indemnización anual.

11.6. **Reglas generales de destilación.**

Se ha finalizado la revisión con las modificaciones del R (CEE) 2179/83, por el que se establecen las normas generales relativas a las destilaciones de los vinos y subproductos de vinificación. En esta modificación se intensifican sustancialmente los controles relativos a la entrada del vino en destilería, para verificar su identidad con el vino objeto de contrato entre el productor y el destilador.

La toma de muestras de la Comisión pretendía se realizase de forma sistemática, finalmente ha sido probado que pueda realizarse mediante sondeo, cuya representatividad deberá establecerse en el Comité de Gestión de Vinos.

11.7. **El Registro Vitícola.**

Base Normativa Comunitaria: R (CEE) 2392/86 del Consejo y R (CEE) 649/87 de la Comisión.

Se trata de conseguir un Registro para la obtención de informaciones indispensables sobre el potencial y evolución de la producción que garantiza el buen funcionamiento de la organización común del mercado vitivinícola y particularmente los regímenes comunitarios de intervención y de plantación, así como de las medidas de control, en particular, en lo referente a determinadas prácticas enológicas (acidificación y desacidificación, etc.).

En el Registro se deben recoger las informaciones relativas a la estructura y a la producción de las explotaciones. La unidad de trabajo para la utilización práctica del registro es la explotación y en torno a ella se reagruparán el resto de las informaciones. Se considera también la conveniencia de realizar expedientes de producción relativos a la transformación y comercialización de los productos.

En cuanto al establecimiento completo del registro se ha considerado un plan máximo de 6 años, expirando dicho plazo el 1 de agosto de 1992.

Por último, el Reglamento establece la necesidad de su permanente actualización y la comprobación regular de sus datos.

La implantación del Registro Comunitario en España es encomendada a la Dirección General de Política Alimentaria mediante Orden Comunicada del Excmo. Sr. Ministro de Agricultura, Pesca y Alimentación de 29 de mayo de 1987, siendo la Subdirección General del INDO la encargada de llevar a cabo los trabajos. Se constituye un Grupo de Trabajo integrado por representantes del FORPPA, SENPA, Dirección General de Producción Agraria y Dirección General de Industrias Agrarias y Alimentarias, que bajo la Presidencia del Ilmo. Sr. Subdirector del INDO, es el encargado de establecer la metodología y las bases de colaboración entre estos Organismos y el Registro.

Con posterioridad han tenido lugar reuniones con representantes de las Comunidades Autónomas informándoles de los planes de realización y la conveniencia de establecer líneas de colaboración entre éstas y la Administración Central para el seguimiento y control de calidad de los trabajos y la posterior actualización de los datos.

Basándose en los trabajos realizados en la provincia de Cuenca en el año 1986, se han elaborado el Pliego de Condiciones Administrativas, Económicas y Técnicas, para la contratación de los Trabajos necesarios para la implantación del Registro en todo el Territorio Nacional.

El programa, para España es el siguiente:

El programa, para España es el siguiente:

| Fase | Iniciación trabajos | Finalización trabajos | Superficie viñedo (Ha) | Superficie actuación Ha |
|------|---------------------|-----------------------|------------------------|-------------------------|
| 1ª | 88 | 90 | 980.800 | 12.670.000 |
| 2ª | 89 | 91 | 447.938 | 21.973.000 |
| 3ª | 90 | 91 | 140.340 | 13.848.000 |

El coste de la inversión que asciende a 5.776,9 millones de pesetas se ha determinado como suma de las valoraciones de los diferentes trabajos necesarios para llevar a cabo la realización del proyecto.

El Reglamento (CEE) 2392/86, establece en su artículo 9.º, punto 1, que la comunidad participará en la financiación del establecimiento del Registro y de las inversiones de material informático necesario para la gestión, a razón del 50% de los costes efectivos.

Como trabajos previos y con el fin de disponer de una cartografía básica, se realizó durante 1987 un vuelo a escala 1/20.000 de las provincias de Albacete, Toledo, Ciudad Real, Cuenca, Zamora, Tarragona, Valencia, Badajoz y Huelva que constituyen la primera fase de los trabajos.

En resumen cabe señalar que, si el Tratado de Adhesión de España y Portugal a las Comunidades Europeas, contiene ya en sí mismo una buena parte de las disposiciones que, a partir de 1986, afectan a todo lo vitivinícola en España, la publicación de sucesivos Reglamentos comunitarios ha precisado los detalles necesarios y viene fijando las reglas del juego que aplican al viñedo y al vino español como parte del conjunto vitivinícola comunitario. Mientras tanto, el gobierno español ha venido acomodando la legislación interna española en algunos aspectos, vía Ordenes Ministeriales o incluso Reales Decretos, pero todavía no ha terminado el proceso de revisión a fondo del Estatuto de la Viña, del Vino y de los alcoholes que se anunció a poco de iniciarse la andadura comunitaria española. En términos prácticos, tal revisión no ha sido ni quizá sea necesaria. La viticultura española ha seguido funcionando y se ha beneficiado de la aplicación de la normativa comunitaria a España. El comercio vinícola sufrió bastante inicialmente, sobre todo en su proyección hacia los demás Estados miembros, pero aquella situación de angustia inicial puede considerarse superada, bien que a costa de pérdidas y sufrimientos por parte de algunos.

En todo caso, las cuestiones vitivinícolas españolas están sujetas a la legislación comunitaria cada día en mayor medida. De todos modos, el gobierno español como el de cualquier otro Estado miembro, puede siempre aplicar medidas más restrictivas que las derivadas de la legislación comunitaria. Es este un aspecto importante en el orden práctico, porque España, siempre dispuesta a mostrar al resto del mundo su capacidad de llegar más allá, viene aplicando unos criterios más restrictivos que los habituales en Francia, Italia o Alemania, lo cual no facilita las cosas a los profesionales vitivinícolas españoles. Como contrapartida, este rigor ordenancista evidenciado por los representantes de la Administración española en la etapa inicial de nuestra presencia en los foros comunitarios de Bruselas da la sensación de haber resultado útil cuando a la hora de imponer prácticas tradicionales españolas en el contexto de nuevos Reglamentos comunitarios; al menos, tal ha sido el caso con determinados aspectos del Reglamento CEE 4252/88, sobre los vinos de licor, en cuyo texto final, como se ha señalado antes, se recoge la totalidad de las prácticas tradicionales

de elaboración y de crianza del vino de Jerez, anteriormente ignoradas por la comunidad primero de los seis y luego de los nueve.

Es una sensación positiva que me brinda la oportunidad de terminar esta intervención con una nota de optimismo acompañada por mi profundo reconocimiento a los organizadores y a ustedes por la atención que han tenido conmigo. Muchas gracias.

AGRICULTURA
PRODUCTOS QUE ESTAN SUJETOS A UNA ORGANIZACION
COMUN DE MERCADOS

VINO

362 D 0072

Decisión de la Comisión, relativa a la creación de un Comité consultivo vitivinícola.
DO P 072 08.08.62 p.2034. (EE 03 V1 p.63).

370 R 1019

Reglamento (CEE) n.º 1019/70 de la Comisión, de 29 de mayo de 1970, relativo a las modalidades de aplicación del establecimiento de los precios de oferta franco frontera y de la fijación del gravamen compensatorio en el sector del vino.

DO L 118 01.06.70 p.13. (EE 03 V3 p.228).

M por 374R0639 (DO L 077 22.03.74 p.32). (EE 03 V7 p.166).

M por 375R0612 (DO L 064 11.03.75 p.2).

M por 376R3059 (DO L 345 15.12.76 p.11). (EE 03 V11 p.90).

M por 377R1297 (DO L 149 17.06.77 p.10). (EE 03 V12 p.206).

370 R 1135

Reglamento (CEE) n.º 1135/70 de la Comisión, de 17 de junio de 1970, relativo a la notificación de las plantaciones y replantaciones de vid a efectos del control del desarrollo de las plantaciones.

DO L 134 19.06.70 p.2. (EE 03 V3 p.231).

M por 179H.

370 R 1594

Reglamento (CEE) n.º 1594/70 de la Comisión, de 5 de agosto de 1970, relativo a las declaraciones, ejecución y control de las operaciones de aumento artificial del grado

alcohólico natural, acidificación y desacidificación en el sector vinícola.

DO L 173 06.08.70 p.23. (EE 03 V4 p.18).

M por 172B.

M por 179H.

M por 377R2531 (DO L 294 18.11.77 p.10). (EE 03 V13 p.120).

M por 380R0632 (DO L 069 15.03.80 p.33). (EE 03 V17 p.186).

M por 386R0418 (DO L 048 26.02.86 p.8).

370 R 1618

Reglamento (CEE) n.º 1618/70 de la Comisión, de 7 de agosto de 1970, relativo a las condiciones de control de la edulcoración de los vinos de mesa y de los v.c.p.r.d.

DO L 175 08.08.70 p.17. (EE 03 V4 p.22).

370 R 1698

Reglamento (CEE) n.º 1698/70 de la Comisión, de 25 de agosto de 1970, relativo a determinadas excepciones referentes a la elaboración de los vinos de calidad producidos en regiones determinadas.

DO L 190 26.08.70 p.4. (EE 03 V4 p.24).

M por 172B.

M por 373D0101(01) (DO L 002 01.01.73 p.1).

M por 373R0807 (DO L 078 27.03.73 p.9). (EE 03 V6 p.229).

372 R 2314

Reglamento (CEE) n.º 2314/72 de la Comisión, de 30 de octubre de 1972, relativo a determinadas disposiciones en materia de examen de la aptitud para el cultivo de variedades de vid.

DO L 248 01.11.72 p.53. (EE 03 V6 p.115).

M por 380R3296 (DO L 344 19.12.80 p.13). (EE 03 V20 p.4).

373 R 2247

Reglamento (CEE) n.º 2247/73 de la Comisión, de 16 de agosto de 1973, relativo al control de los vinos de calidad producidos en regiones determinadas.

DO L 230 18.08.73 p.12. (EE 03 V7 p.65).

M por 179H.

C por 386R0418 (DO L 048 26.02.86 p.8).

373 R 2805

Reglamento (CEE) n.º 2805/73 de la Comisión, de 12 de octubre de 1973, por el que se establece la lista de los vinos blancos de calidad producidos, en regiones determinadas y de los vinos blancos de calidad importados, con un contenido particular en anhídrido sulfuroso, y sobre determinadas disposiciones transitorias relativas al contenido en anhídrido sulfuroso de los vinos producidos antes del 1 de octubre de 1973.

DO L 289 16.10.73 p.21. (EE 03 V7 p.75).

M por 373R3548 (DO L 361 29.12.73 p.35). (EE 03 V7 p.144).

M por 375R2160 (DO L 220 20.08.75 p.7). (EE 03 V8 p.253).

M por 377R0966 (DO L 115 06.05.77 p.7). (EE 03 V12 p.113).

373 R 3282

Reglamento (CEE) n.º 3282/73 de la Comisión, de 5 de diciembre de 1973, relativo a la definición de mezcla y de vinificación.

DO L 337 06.12.73 p.20. (EE 03 V7 p.95).

C por 374R0373 (DO L 042 14.02.74 p.4). (EE 03 V7 p.157).

M por 374R0956 (DO L 109 23.04.74 p.20). (EE 03 V7 p.209).

374 R 2082

Reglamento (CEE) n.º 2082/74 de la Comisión de 7 de agosto de 1974, relativo a las listas de vino de licor de calidad producidos en regiones determinadas contempladas en el Anexo II del Reglamento (CEE) n.º 816/70.

DO L 217 08.08.74 p.14. (EE 03 V7 p.236).

M por 179H.

374 R 2319

Reglamento (CEE) n.º 2319/74 de la Comisión, de 10 de septiembre de 1974, por el que se establecen determinadas superficies vitícolas cuyos vinos de mesa pueden tener un grado alcohólico natural total máximo igual a 17°.

DO L 248 11.09.74 p.7. (EE 03 V7 p.257).

375 R 1153

Reglamento (CEE) n.º 1153/75 de la Comisión, de 30 de abril de 1975, por el que se establecen los documentos adjuntos y relativo a las obligaciones de los productores y de los comerciantes que no sean detallistas en el sector vitivinícola.

DO L 113 01.05.75 p.1. (EE 03 V8 p.121).

M por 179H.

M por 377R2617 (DO L 304 29.11.77 p.33). (EE 03 V13 p.144).

M por 380R3203 (DO L 333 11.12.80 p.18). (EE 03 V20 p.3).

M por 386R0418 (DO L 048 26.02.86 p.8).

375 R 2152

Reglamento (CEE) n.º 2152/75 de la Comisión, de 18 de agosto de 1975, relativo a las modalidades de aplicación de los Reglamentos (CEE) n.º 2893/74 y (CEE) n.º 2894/74 referentes a los vinos espumosos.

DO L 219 19.08.75 p.7. (EE 03 V8 p.251).

375 Y 0423(01)

Resolución del Consejo, de 21 de abril de 1975, relativa a las nuevas orientaciones tendentes a equilibrar el mercado de los vinos de mesa.

DO C 090 23.04.75 p.1.

376 R 1393

Reglamento (CEE) n.º 1393/76 de la Comisión, de 17 de junio de 1976, por el que se establecen las modalidades de aplicación relativas a la importación de productos del sector vitivinícola originarios de determinados terceros países.

DO L 157 18.06.76 p.20. (EE 03 V10 p.107).

M por 179H.

calidad, sino como indicador del grado de madurez y de vertebración conseguida entre los diferentes sectores existentes en la Denominación de Origen. Por otra parte, los requisitos adicionales afectan a los niveles de precios constatados, a la comercialización (se exige el embotellado en origen con independencia en los mercados de destino del producto), organizativos y de control.

A 31 de diciembre de 1987 el número de los v.c.p.r.d. españoles (Denominaciones de Origen y Cava) era de 30, con un nivel de comercialización para la campaña 86-87 de 8,8 millones de hl., distribuidos aproximadamente en su dos tercios en el mercado interior, y el tercio restante en la exportación.

10. **Circulación. Etiquetado y control de vinos.**

La incorporación a la CEE en este Capítulo ha supuesto importantes novedades con base fundamentalmente en los Reglamentos (CEE) 1153/75, 355/79 y 3309/85, que han tenido como reflejo en la normativa interna española el Real Decreto 403/86, Orden Ministerial del 28 de febrero de 1986, Orden Ministerial de 11 de diciembre de 1986.

En lo referente al etiquetado de los vinos la normativa comunitaria al respecto entró plenamente en vigor el día 1 de enero de 1987.

El Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación ha establecido igualmente por Orden de 11 de diciembre de 1986 las reglas de utilización de los nombres geográficos y de mención "Vinos de la Tierra" en la designación de los vinos de mesa. Este grupo de vinos cuyo desarrollo comercial se ha comenzado a producir en fecha reciente, es de esperar que alcancen un estimable desarrollo comercial en un próximo futuro en línea con las orientaciones ya constatadas en otros países de la CEE, con el apoyo de la ampliación del etiquetado en lo referido a términos como "cosecha", "variedad", etc. Las comarcas productoras de vino con derecho al uso de indicación geográfica simple son 37 y 33 las que tienen derecho al uso de la mención "Vino de la Tierra".

11. **La reforma de la PAC. Incidencia sobre el sector vitivinícola. Perspectiva de futuro.**

Las modificaciones llevadas a cabo por la CEE en el conjunto de los mecanismos de gestión de la PAC han respondido a la constante preocupación de *aumentar la responsabilidad* de los empresarios agrícolas respecto de la producción y del mercado, con objeto de alcanzar el deseable equilibrio entre oferta y demanda con una *corresponsabilidad de los productores* en el coste de comercialización de los excedentes. A partir de 1984 se ha venido insistiendo por parte de la Comisión en reforzar los dispositivos de estabilización, encaminados a controlar a la vez la producción agraria y el gastos presupuestario.

En el sector del vino, con un gasto presupuestario para 1987 del orden de 1.500 millones de ECUS, se han establecido dispositivos de estabilización que afectan a la gestión del mercado y a las medidas socio-estructurales.

11.1. **Sistemas de gestión del mercado.**

La aplicación de los estabilizadores agrícolas al Sector vitivinícola, se ha

establecen en el sector vitivinícola, las normas generales relativas a la concesión de restituciones a la exportación y a los criterios para la fijación de su importe.

DO L 054 05.03.79 p.69. (EE 03 V15 p.219).

O por 379R2547 (DO L 290 17.11.79 p.48).

M por 381R2009 (DO L 195 18.07.81 p.6). (EE 03 V22 p.139).

379 R 0346

Reglamento (CEE) n.º 346/79 del Consejo, de 5 de febrero de 1979, por el que se definen las condiciones de aplicación de las medidas de salvaguardia en el sector vitivinícola.

DO L 054 05.03.79 p.72. (EE 03 V15 p.222).

379 R 0347

Reglamento (CEE) n.º 347/79 del Consejo, de 5 de febrero de 1979, relativo a las normas generales referentes a la clasificación de las variedades de vid.

DO L 054 05.03.79 p.75. (EE 03 V15 p.225).

M por 179H.

C por 385R3805 (DO L 367 31.12.85 p.39). (EE 03 V40 p.41).

379 R 0351

Reglamento (CEE) n.º 351/79 del Consejo, de 5 de febrero de 1979, relativo a la adición de alcohol a los productos del sector vitivinícola.

DO L 054 05.03.79 p.90. (EE 03 V15 p.231).

M por 179H.

M por 381R3658 (DO L 366 21.12.81 p.1). (EE 03 V23 p.241).

M por 387R0255 (DO L 026 29.01.87 p.2).

M por 387R4090 (DO L 382 31.12.87 p.26).

M por 388R3904 (DO L 347 16.12.88 p.9).

379 R 0353

Reglamento (CEE) n.º 353/79 del Consejo, de 5 de febrero de 1979, por el que se establecen las condiciones de mezcla y vinificación en las zonas francas del territorio geográfico de la Comunidad para los productos del sector del vino originarios de terceros países.

DO L 054 05.03.79 p.94. (EE 03 V15 p.235).

379 R 0354

Reglamento (CEE) n.º 354/79 del Consejo, de 5 de febrero de 1979, por el que se establecen las normas generales para la importación de los vinos, zumos y mostos de uva.

DO L 054 05.03.79 p.97. (EE 03 V15 p.238).

M por 179H.

M por 385R2633 (DO L 251 20.09.85 p.3). (EE 03 V38 p.3).

M por 385R3805 (DO L 367 31.12.85 p.39). (EE 03 V40 p.4).

M por 388R4251 (DO L 373 31.12.88 p.58).

M por 389R222 (DO L 29 31.1.89 p.1).

379 R 0355

Reglamento (CEE) n.º 355/79 del Consejo, de 5 de febrero de 1979, por el que se establecen las normas generales para la designación y presentación de los vinos y mostos de uva.

DO L 054 05.03.79 p.99. (EE 03 V16 p.3).

M por 179H.

D por 381R0997 (DO L 106 16.04.81 p.1). (EE 03 V21 p.89).

O por 381R0997 (DO L 106 16.04.81 p.1). (EE 03 V21 p.89).

M por 381R1016 (DO L 103 15.04.81 p.7). (EE 03 V21 p.85).

M por 381R3685 (DO L 369 24.12.81 p.1). (EE 03 V23 p.248).

M por 385R1898 (DO L 179 11.07.85 p.1). (EE 03 V36 p.57).

M por 385R3805 (DO L 367 31.12.85 p.39). (EE 03 V40 p.41).

M por 386R1625 (DO L 144 29.05.86 p.1).

M por 387R0537 (DO L 055 25.02.87 p.3).

M por 387R3485 (DO L 330 21.11.87 p.1).

M por 389R1237 (DO L 128 11.05.89 p.32).

379 R 0358

Reglamento (CEE) n.º 358/79 del Consejo, de 5 de febrero de 1979, relativo a los vinos espumosos producidos en la Comunidad, definidos en el número 13 del Anexo II del Reglamento (CEE) n.º 337/79.

DO L 054 05.03.79 p.130. (EE 03 V16 p.31).

M por 179H.

M por 379R2383 (DO L 274 31.10.79 p.8). (EE 03 V16 p.318).

M por 380R3456 (DO L 360 31.12.80 p.18). (EE 03 V20 p.75).

M por 384R3686 (DO L 341 29.12.84 p.3). (EE 03 V33 p.73).

M por 385R3310 (DO L 320 29.11.85 p.19). (EE 03 V39 p.73).

M por 385R3805 (DO L 367 31.12.85 p.39). (EE 03 V40 p.41).

379 R 0359

Reglamento (CEE) n.º 359/79 del Consejo, de 5 de febrero de 1979, relativo a la colaboración directa de los organismos encargados por los Estados miembros del control de la observancia de las disposiciones comunitarias y nacionales en el sector vitivinícola.

DO L 054 05.03.79 p.136. (EE 03 V16 p.37).

379 R 0460

Reglamento (CEE) n.º 460/79 del Consejo, de 5 de marzo de 1979, relativo a la colaboración directa de los organismos competentes de los Estados miembros en materia de descalificación de los vinos de calidad producidos en regiones determinadas.

DO L 058 09.03.79 p.1. (EE 03 V16 p.45).

M por 179H.

M por 385R3805 (DO L 367 31.12.85 p.39). (EE 03 V40 p.41).

379 R 1149

Reglamento (CEE) n.º 1149/79 de la Comisión de 12 de junio de 1979, por el que se

establecen modalidades de aplicación para la concesión de los montantes compensatorios monetarios en el sector del vino.

DO L 144 13.06.79 p.6. (EE 03 V16 p.134).

379 R 2547

Reglamento (CEE) n.º 2547/79 de la Comisión, de 16 de noviembre de 1979, por el que se establecen las restituciones a la exportación en el sector vitivinícola.

DO L 290 17.11.79 p.48.

M por 380R0046 (DO L 007 11.01.80 p.14).

M por 380R3205 (DO L 333 11.12.80 p.21).

M por 381R3096 (DO L 310 30.10.81 p.21).

M por 381R3391 (DO L 341 28.11.81 p.28).

M por 381R3462 (DO L 348 04.12.81 p.12)).

379 R 2903

Reglamento (CEE) n.º 2903/79 de la Comisión, de 20 de diciembre de 1979, relativo a la desclasificación de los vinos de calidad producidos en regiones determinadas.

DO L 326 22.12.79 p.14. (EE 03 V17 p.28).

C por 386R0418 (DO L 048 26.02.86 p.8).

380 R 0456

Reglamento (CEE) n.º 456/80 del Consejo, de 18 de febrero de 1980, relativo a la concesión de primas por abandono temporal y por abandono definitivo de determinadas superficies plantadas de vid y de primas por renuncia a la replantación.

DO L 057 29.02.80 p.16. (EE 03 V17 p.158).

M por 380R1993 (DO L 195 29.07.80 p.12). (EE 03 V18 p.236).

M por 383R1597 (DO L 163 22.06.83 p.52). (EE 03 V28 p.77).

M por 385R0776 (DO L 088 28.03.85 p.7). (EE 03 V34 p.52).

380 R 0457

Reglamento (CEE) n.º 457/80 del Consejo, de 18 de febrero de 1980, por el que se establece un régimen de primas por cese de actividad en las explotaciones vitícolas en Francia y en Italia.

DO L 057 29.02.80 p.23. (EE 03 V17 p.165).

M por 385R0776 (DO L 088 28.03.85 p.7). (EE 03 V34 p.52).

380 R 2931

Reglamento (CEE) n.º 2931/80 del Consejo, de 11 de noviembre de 1980, relativo a determinados vinos de calidad originarios de la República de Austria.

DO L 305 14.11.80 p.2. (EE 03 V19 p.166).

381 R 0013

Reglamento (CEE) n.º 13/81 del Consejo, de 1 de enero de 1981, por el que se determinan las normas generales del régimen de montantes compensatorios adhesión en el sector vitivinícola.

DO L 001 01.01.81 p.24.

M por 381R2874 (DO L 285 07.10.81 p.1).

381 R 0058

Reglamento (CEE) n.º 58/81 de la Comisión, de 1 de enero de 1981, relativo a las medidas transitorias específicas que deben adoptarse como consecuencia de la adhesión de Grecia, en lo que se refiere a los intercambios de vinos.

DO L 004 01.01.81 p.46.

381 R 0940

Reglamento (CEE) n.º 940/81 de la Comisión, de 7 de abril de 1981, relativo a las declaraciones de las superficies utilizadas para la producción de materiales de multiplicación vegetativa de la vid.

DO L 096 08.04.81 p.10. (EE 03 V21 p.71).

381 R 0997

Reglamento (CEE) n.º 997/81 de la Comisión, de 26 de marzo de 1981, sobre modalidades de aplicación para la designación y presentación de los vinos y mostos de uva.

DO L 106 16.04.81 p.1. (EE 03 V21 p.89).

M por 381R2628 (DO L 268 11.09.81 p.10). (EE 03 V23 p.79).

M por 383R1224 (DO L 134 21.05.83 p.1). (EE 03 V27 p.199).

M por 384R1011 (DO L 101 13.04.84 p.17). (EE 03 V30 p.95).

M por 384R2337 (DO L 215 11.08.84 p.9). (EE 03 V31 p.266).

C por 384R2397 (DO L 224 21.08.84 p.19). (EE 03 V32 p.57).

M por 386R0418 (DO L 048 26.02.86 p.8).

M por 387R0063 (DO L 008 10.01.87 p.38).

M por 387R0689 (DO L 066 11.03.87 p.5).

M por 388R0560 (DO L 054 01.03.88 p.55).

M por 388R1622 (DO L 145 11.06.88 p.23).

M por 389R632 (DO L 70 10.3.89 p.6).

381 R 1295

Reglamento (CEE) n.º 1295/81 de la Comisión, de 14 de mayo de 1981, relativo a las modalidades de aplicación de las operaciones de destilación de los vinos de mesa contemplada en el artículo 15 del Reglamento (CEE) n.º 337/79.

DO L 129 15.05.81 p.51. (EE 03 V21 p.209).

M por 381R2351 (DO L 231 15.08.81 p.11). (EE 03 V23 p.48).

381 R 1714

Reglamento (CEE) n.º 1714/81 de la Comisión, de 26 de junio de 1981, sobre modalidades de aplicación para la colaboración directa de los organismos encargados de comprobar la observancia de las disposiciones en el ámbito vitivinícola.

DO L 170 27.06.81 p.28. (EE 03 V22 p.60).

381 R 2852

Reglamento (CEE) n.º 2852/81 del Consejo, de 28 de septiembre de 1981, por el que se establecen excepciones al Reglamento (CEE) n.º 343/79 en lo que se refiere a las normas generales de la destilación de vinos de mesa decidida con arreglo al artículo 12 bis del Reglamento (CEE) n.º 337/79.

DO L 280 02.10.81 p.2).

M por 382R2009 (DO L 216 24.07.82 p.3).

381 R 3388

Reglamento (CEE) n.º 3388/81 de la Comisión, de 27 de noviembre de 1981, sobre modalidades especiales de aplicación del régimen de certificados de importación y exportación en el sector vitivinícola.

DO L 341 28.11.81 p.19. (EE 03 V23 p.188).

M por 386R0418 (DO L 048 26.02.86 p.8).

381 R 3389

Reglamento (CEE) n.º 3389/91 de la Comisión de 27 de noviembre de 1981, sobre modalidades de aplicación de las restituciones a la exportación en el sector vitivinícola.

DO L 341 28.11.81 p.24. (EE 03 V23 p.193).

M por 382R0843 (DO L 098 14.04.82 p.10). (EE 03 V25 p.7).

M por 382R3473 (DO L 365 24.12.82 p.30). (EE 03 V26 p.18).

381 R 3800

Reglamento (CEE) n.º 3800/81 de la Comisión, de 16 de diciembre de 1981, por el que se establece la clasificación de las variedades de vid.

DO L 381 31.12.81 p.1. (EE 03 V24 p.13).

M por 382R1469 (DO L 159 10.06.82 p.21). (EE 03 V25 p.156).

M por 383R2060 (DO L 202 26.07.83 p.15). (EE 03 V28 p.139).

M por 383R3582 (DO L 356 20.12.83 p.18). (EE 03 V29 p.152).

M por 383R1871 (DO L 176 05.07.85 p.9). (EE 03 V36 p.33).

C por 386R1418 (DO L 048 26.02.86 p.8).

M por 387R1467 (DO L 138 28.05.87 p.44).

382 R 0701

Reglamento (CEE) n.º 701/82 del Consejo, de 25 de marzo de 1982, por el que se establecen las normas generales relativas a las operaciones de destilación de vinos de mesa contempladas en el artículo 15 del Reglamento (CEE) n.º 337/79.

DO L 080 26.03.82 p.30. (EE 03 V24 p.243).

M por 382R0994 (DO L 116 30.04.82 p.10). (EE 03 V25 p.15).

382 R 0773

Reglamento (CEE) n.º 773/82 de la Comisión, de 1 de abril de 1982, relativo a las modalidades de aplicación de las operaciones de destilación de vinos de mesa contempladas en el artículo 15 del Reglamento (CEE) n.º 337/79.

DO L 088 02.04.82 p.13. (EE 03 V25 p.4).

M por 382R1944 (DO L 211 20.07.82 p.21). (EE 03 V25 p.282).

382 R 0994

Reglamento (CEE) n.º 994/82 de la Comisión, de 29 de abril de 1982, por el que se reducen las cantidades de vino de mesa que figuran en los contratos y declaraciones suscritos con ocasión de las operaciones de destilación mencionadas en el Reglamento (CEE) n.º 701/82.

DO L 116 30.04.82 p.10. (EE 03 V25 p.15).

382 R 1108

Reglamento (CEE) n.º 1108/82 de la Comisión, de 21 de abril de 1982, por el que se determinan métodos de análisis comunitario aplicables en el sector del vino y por el que se deroga el Reglamento (CEE) n.º 2984/74.

DO L 133 14.05.82 p.1. (EE 03 V25 p.19).

M por 383R3502 (DO L 350 13.12.83 p.6). (EE 03 V29 p.144).

382 R 1940

Reglamento (CEE) n.º 1940/82 de la Comisión de 19 de julio de 1982, por el que se establece un procedimiento de inspección comunitaria para la comercialización del alcohol del que se hayan hecho cargo los organismos de intervención en el marco de las operaciones de destilación de los vinos de mesa mencionados en el Reglamento (CEE) n.º 701/82.

DO L 211 20.07.82 p.15. (EE 03 V25 p.280).

383 R 0861

Reglamento (CEE) n.º 861/83 de la Comisión, de 13 de abril de 1983, relativo a las actividades de investigación y desarrollo de nuevos destinos de los productos del sector vinícola.

DO L 095 14.04.83 p.25. (EE 03 V27 p.148).

M por 383R1931 (DO L 191 15.07.83 p.17). (EE 03 V28 p.116).

383 R 1059

Reglamento (CEE) n.º 1059/83 de la Comisión, de 29 de abril de 1983, relativo a los contratos de almacenamiento para el vino de mesa, el mosto de uva, el mosto de uva concentrado y el mosto de uva concentrado rectificado.

DO L 116 30.04.83 p.77. (EE 03 V27 p.163).

M por 383R2406 (DO L 236 26.08.83 p.12). (EE 03 V28 p.198).

M por 384R1997 (DO L 186 13.07.84 p.28). (EE 03 V31 p.144).

M por 385R2850 (DO L 270 12.10.85 p.6). (EE 03 V38 p.45).

M por 386R3949 (DO L 365 24.12.86 p.40).

M por 388R3500 (DO L 306 11.11.88 p.36).

383 R 1522

Reglamento (CEE) n.º 1522/83 de la Comisión, de 10 de junio de 1983, sobre modalidades de aplicación de la ayuda al almacenamiento de los vinos de calidad producidos en regiones determinadas prevista en el Reglamento (CEE) n.º 1356/83.

DO L 153 11.06.83 p.30. (EE 03 V28 p.44).

383 R 2179

Reglamento (CEE) n.º 2179/83 del Consejo, de 25 de julio de 1983, por el que se establecen las normas generales relativas a la destilación de los vinos y de los subproductos de la vinificación.

DO L 212 03.08.83 p.1. (EE 03 V28 p.159).

M por 384R2687 (DO L 255 25.09.84 p.1). (EE 03 V32 p.108).

M por 388R2505 (DO L 225-15.08.88 p.14).

383 R 3033

Reglamento (CEE) n.º 3033/83 del Consejo de 26 de octubre de 1983 por el que se suprime el montante compensatorio adhesión aplicable a los vinos de licor.
DO L 297 29.10.83 p.1.

383 R 3590

Reglamento (CEE) n.º 3590/83 de la Comisión, de 13 de diciembre de 1983, por el que se determinan los métodos de análisis comunitarios del alcohol neutro aplicables en el sector del vino.
DO L 363 24.12.83 p.1. (EE 03 V29 p.180).

384 D 0460

84/460/CEE: Decisión de la Comisión de 13 de septiembre de 1984 por la que se autoriza a Francia a confirmar los derechos de plantación de vid en superficies destinadas a la producción de determinados v.c.p.r.d. adquiridos antes del 1.º de mayo de 1984 .
DO L 256 26.09.84 p.21.

384 R 0701

Reglamento (CEE) n.º 701/84 de la Comisión, de 16 de marzo de 1984, por el que se establecen los gravámenes compensatorios en el sector vitivinícola.
DO L 074 17.03.84 p.34. (EE 03 V30 p.22).

384 R 1873

Reglamento (CEE) n.º 1873/84 del Consejo, de 28 de junio de 1984, por el que se autoriza la oferta y la entrega al consumo humano directo de determinados vinos importados que pueden haber sido sometidos a prácticas enológicas no previstas en el Reglamento (CEE) n.º 337/79.
DO L 176 03.07.84 p.6. (EE 03 V31 p.107).
M por 388R2179 (DO L 191 22.07.88 p.10).

384 R 2394

Reglamento (CEE) n.º 2394/84 de la Comisión de 20 de agosto de 1984, por el que se determinan, para las campañas vitivinícolas 1984/85 y 1985/86, las condiciones de utilización de las resinas de intercambio iónico y por el que se fijan las modalidades de aplicación para la elaboración de mosto de uva concentrado rectificado.
DO L 224 21.08.84 p.8. (EE 03 V32 p.48).
M por 386R2751 (DO L 253 05.09.86 p.11).

384 R 2396

Reglamento (CEE) n.º 2396/84 de la Comisión, de 20 de agosto de 1984, por el que se establecen modalidades de aplicación para la elaboración del balance de previsiones en el sector vitivinícola.
DO L 224 21.08.84 p.14. (EE 03 V32 p.52).
C por 386R0418 (DO L 048 26.02.86 p.8).
M por 387R3643 (DO L 342 04.12.87 p.11).

385 D 0047

85/47/CEE: Decisión de la Comisión de 7 de enero de 1985, por la que se reconoce

que la producción de determinados vinos de calidad producidos en regiones determinadas es, debido a las características cualitativas de dichos vinos, muy inferior a la demanda.

DO L 021 25.01.85 p.22. (EE 03 V33 p.120).

385 D 0510

85/510/CEE: Decisión de la Comisión, de 8 de noviembre de 1985, por la que se autoriza a Italia a confirmar los derechos de plantación de vides en superficies destinadas a la producción de determinados v.c.p.r.d., adquiridos antes del 1 de mayo de 1984.

DO L 314 23.11.85 p.27. (EE 03 V39 p.27).

385 D 0521

85/521/CEE: Decisión de la Comisión de 14 de noviembre de 1985, por la que se reconoce que la producción de determinados vinos de calidad producidos en determinadas regiones es, debido a las características cualitativas de dichos vinos, muy inferior a la demanda.

DO L 323 04.12.85 p.17. (EE 03 V39 p.93).

385 R 0777

Reglamento (CEE) n.º 777/85 del Consejo, de 26 de marzo de 1985, relativo a la concesión, para las campañas vitivinícolas 1985/86 a 1989/90, de primas por abandono definitivo de determinadas superficies plantadas de vid.

DO L 088 28.03.85 p.8. (EE 03 V34 p.53).

M por 385R2475 (DO L 234 31.08.85 p.80). (EE 03 V37 p.161).

M por 385R3775 (DO L 362 31.12.85 p.39). (EE 03 V39 p.255).

M por 388R1442 (DO L 132 28.05.88 p.3).

385 R 1907

Reglamento (CEE) n.º 1907/85 de la Comisión, de 10 de julio de 1985, relativo a la lista de las variedades de viñas y de las regiones proveedoras de vinos importados para la elaboración de los vinos espumosos en la Comunidad.

DO L 179 11.07.85 p.21. (EE 03 V36 p.58).

385 R 2188

Reglamento (CEE) n.º 2188/85 de la Comisión, de 31 de julio de 1985, relativo a las acciones de investigación y de desarrollo de nuevos usos de los productos del sector del vino.

DO L 203 01.08.85 p.80. (EE 03 V36 p.187).

385 R 2475

Reglamento (CEE) n.º 2475/85 de la Comisión, de 29 de agosto de 1985, por el que se determinan los modos de aplicación del Reglamento (CEE) n.º 777/85 relativo a la concesión de primas, para las campañas vitícolas que van de 1985/86 a 1989/90, por abandono definitivo de ciertas superficies de viñedos.

DO L 234 31.08.85 p.80. (EE 03 V37 p.161).

M por 386R1135 (DO L 103 19.04.86 p.32).

M por 388R2729 (DO L 241 01.09.88 p.108).

385 R 3309

Reglamento (CEE) n.º 3309/85 del Consejo, de 18 de noviembre de 1985, por el que se establecen las normas generales para la designación y la presentación de los vinos espumosos y de los vinos espumosos gasificados.

DO L 320 29.11.85 p.9. (EE 03 V39 p.63).

M por 385R3805 (DO L 367 31.12.85 p.39). (EE 03 V40 p.4).

M por 386R1626 (DO L 144 29.05.86 p.3).

M por 387R0538 (DO L 055 25.02.87 p.4).

385 R 3461

Reglamento (CEE) n.º 3461/85 de la Comisión, de 9 de diciembre de 1985, relativo a la organización de campañas de promoción en favor del consumo de zumos de uva.

DO L 332 10.12.85 p.22. (EE 03 V39 p.116).

M por 386R1107 (DO L 102 18.04.86 p.15).

M por 386R2887 (DO L 267 19.09.86 p.11).

M por 387R1337 (DO L 126 15.05.87 p.8).

385 R 3590

Reglamento (CEE) n.º 3590/85 de la Comisión, de 18 de diciembre de 1985, relativo al certificado y al boletín de análisis previstos para la importación de vinos, de zumos y de mostos de uva.

DO L 343 20.12.85 p.20. (EE 03 V39 p.170).

C por 386R1614 (DO L 142 28.05.86 p.22).

M por 388R2039 (DO L 179 09.07.88 p.29).

385 R 3803

Reglamento (CEE) n.º 3803/85 del Consejo, de 20 de diciembre de 1985, por el que se establecen las disposiciones que permitan determinar el origen y controlar los movimientos comerciales de los vinos tintos de mesa españoles.

DO L 367 31.12.85 p.36. (EE 03 V40 p.38).

385 R 3804

Reglamento (CEE) n.º 3804/85 del Consejo, de 20 de diciembre de 1985, por el que se establece la lista de las superficies plantadas en viña en determinadas regiones españolas para las que los vinos de mesa puedan tener un grado alcohólico adquirido inferior a las exigencias comunitarias.

DO L 367 31.12.85 p.37. (EE 03 V40 p.39).

386 R 0305

Reglamento (CEE) n.º 305/86 de la Comisión de 12 de febrero de 1986 relativo al contenido máximo en anhídrido sulfuroso total de los vinos originarios de la Comunidad producidos antes del 1 de septiembre de 1986 y, durante un período transitorio, de los vinos importados.

DO L 038 13.02.86 p.13.

386 R 0418

Reglamento (CEE) n.º 418/86 de la Comisión de 18 de febrero de 1986 por el que

se adaptan determinados reglamentos relativos al sector vitivinícola, con motivo de la adhesión de España y Portugal.

DO L 048 26.02.86 p.8.

386 R 0479

Reglamento (CEE) n.º 479/86 del Consejo de 25 de febrero de 1986 por el que se determinan los casos excepcionales en que se autorizará la mezcla de vinos tintos españoles con vinos tintos de los demás Estados miembros procedentes de determinadas variedades y regiones de la Comunidad.

DO L 054 01.03.86 p.1.

386 R 0480

Reglamento (CEE) n.º 480/86 del Consejo de 25 de Febrero de 1986 por el que se establecen las normas generales de aplicación del mecanismo de los montantes aplicables a la importación de determinados productos del sector vitivinícola entre la Comunidad en su composición del 31 de diciembre de 1985 y España.

DO L 054 01.03.86 p.2.

386 R 0481

Reglamento (CEE) n.º 481/86 del Consejo de 25 de febrero de 1986, relativo al ajuste del precio medio del vino de mesa establecido para cada mercado español representativo durante el periodo de aplicación de los montantes reguladores.

DO L 054 01.03.86 p.5.

386 R 0482

Reglamento (CEE) n.º 482/86 del Consejo de 25 de febrero de 1986 por el que se determinan los vinos producidos en Portugal asimilados a los vinos de calidad producidos en regiones determinadas de la partida n.º 22.05 del arancel aduanero común.

DO L 054 01.03.86 p.6.

M por 389R567 (DO L 61 4.3.89 p.37).

386 R 0649

Reglamento (CEE) n.º 649/86 de la Comisión de 28 de febrero de 1986 por el que se adopta la lista de vinos producidos en Portugal asimilados a los vinos de calidad producidos en regiones determinadas incluidos en la partida n.º 22.05 del arancel aduanero común.

DO L 060 01.03.86 p.57.

M por 389R568 (DO L 61 4.3.89 p.38).

386 R 1627

Reglamento (CEE) n.º 1627/86 del Consejo de 6 de mayo de 1986 por el que se establecen normas para la designación de los vinos especiales en lo relativo a la indicación del grado alcohólico.

DO L 144 29.05.86 p.4.

386 R 1781

Reglamento (CEE) n.º 1781/86 de la Comisión de 9 de junio de 1986 por el que se

establecen normas de aplicación para la autorización de la mezcla de ciertos vinos tintos de otros Estados miembros con vinos tintos españoles.
DO L 155 10.06.86 p.6.

386 R 1888

Reglamento (CEE) n.º 1888/86 de la Comisión de 18 de junio de 1986 relativo al contenido máximo en anhídrido sulfuroso total de determinados vinos espumosos originarios de la Comunidad elaborados antes del 1 de septiembre de 1986 y, durante un período transitorio, de los vinos espumosos importados.
DO L 163 19.06.86 p.19.

386 R 2094

Reglamento (CEE) n.º 2094/86 de la Comisión de 3 de julio de 1986 relativo a las modalidades de aplicación para la utilización de ácido tartárico para la desacidificación de determinados productos vitícolas en ciertas regiones de la zona A.
DO L 180 04.07.86 p.17).
M por 386R2736 (DO L 252 04.09.86 p.15).

386 R 2672

Reglamento (CEE) n.º 2672/86 de la Comisión de 26 de agosto de 1986 que establece las modalidades de aplicación del artículo 39 del Reglamento (CEE) n.º 337/79 del Consejo para la campaña vitícola 1986/87.
DO L 244 29.08.86 p.8.
M por 386R3181 (DO L 297 21.10.86 p.6).
M por 387R0220 (DO L 024 27.01.87 p.9).

386 R 2707

Reglamento (CEE) n.º 2707/86 de la Comisión de 28 de agosto de 1986 por el que se establecen las normas para la aplicación de la designación y la presentación de los vinos espumosos y de los vinos espumosos gasificados.
DO L 246 30.08.86 p.71).
M por 386R3378 (DO L 310 05.11.86 p.5).
M por 387R2249 (DO L 207 29.07.87 p.26).
M por 388R0575 (DO L 056 02.03.88 p.22).
M por 388R2657 (DO L 237 27.08.88 p.17).
M por 389R596 (DO L 65 9.3.89 p.9).

386 R 3949

Reglamento (CEE) n.º 3949/86 de la Comisión de 23 de diciembre de 1986 por el que se modifica el Reglamento (CEE) n.º 1059/83 relativo a los contratos de almacenamiento para el fino de mesa, el mosto de uva, el mosto de uva concentrado y el mosto de uva concentrado rectificado.
DO L 365 24.12.86 p.40.

387 D 0080

87/80/CEE: Decisión de la Comisión de 7 de enero de 1987 relativa a la creación de un Comité consultivo vitivinícola.
DO L 045 14.02.87 p.31.

387 D 0233

87/233/CEE: Decisión de la Comisión de 30 de marzo de 1987, por la que se reconoce que la producción de determinados vinos de calidad producidos en regiones determinadas, debido a las características cualitativas de dichos vinos, es ampliamente inferior a la demanda.

DO L 102 14.04.87 p.27.

M por 387R0535 (DO L 315 05.11.87 p.35).

387 R 0603

Reglamento (CEE) n.º 603/87 de la Comisión de 27 de febrero de 1987 por el que se abre la destilación de vinos de mesa prevista en el apartado 1 del artículo 15 del Reglamento (CEE) n.º 337/79 para la campaña 1986/87.

DO L 058 28.02.87 p.53.

M por 387R2696 (DO L 258 08.09.87 p.7).

M por 388R0033 (DO L 005 08.01.88 p.10).

387 R 0822

Reglamento (CEE) n.º 822/87 del Consejo de 16 de marzo de 1987, por el que se establece la organización común del mercado vitivinícola.

DO L 084 27.03.87 p.1.

M por 387R1390 (DO L 133 22.05.87 p.3).

M por 387R1972 (DO L 184 03.07.87 p.26).

O por 387R2544 (DO L 242 26.08.87 p.5).

M por 387R3146 (DO L 300 23.10.87 p.4).

M por 387R3992 (DO L 377 31.12.87 p.20).

M por 388R1441 (DO L 132 28.05.88 p.1).

M por 388R2253 (DO L 198 26.07.88 p.35).

M por 388R2964 (DO L 269 29.09.88 p.5).

M por 388R4250 (DO L 373 31.12.88).

M por 389R1236 (DO L 128 11.05.89).

387 R 0823

Reglamento (CEE) n.º 823/87 del Consejo de 16 de marzo de 1987, por el que se establecen disposiciones relativas a los vinos de calidad producidos en regiones determinadas.

DO L 084 27.03.87 p.59.

387 R 1069

Reglamento (CEE) n.º 1069/87 de la Comisión de 15 de abril de 1987 por el que se establecen las modalidades de aplicación relativas a la indicación del grado alcohólico en las etiquetas de vinos especiales.

DO L 104 16.04.87 p.14

387 R 1380

Reglamento (CEE) n.º 1380/87 de la Comisión de 20 de mayo de 1987 por el que se reducen las cantidades de vino de mesa que figuran en los contratos y declaraciones de-

bidamente autorizados con arreglo a la destilación abierta por el Reglamento (CEE) n.º 603/87.

DO L 132 21.05.87 p.8

387 R 1622

Reglamento (CEE) n.º 1622/87 de la Comisión de 10 de junio de 1987 que rectifica el Reglamento (CEE) n.º 1410/87 por el que se modifica el Reglamento (CEE) n.º 854/86 en lo relativo a determinadas modalidades de aplicación para la destilación obligatoria, establecida en el artículo 39 del Reglamento (CEE) n.º 822/87 del Consejo.

DO L 150 11.06.87 p.30.

387 R 2287

Reglamento (CEE) n.º 2287/87 de la Comisión de 30 de julio de 1987 relativo a la concesión de una ayuda a la utilización en vinificación de mosto de uva concentrada y de mosto de uva concentrado rectificado para la campaña 1987/1988.

DO L 209 31.07.87 p.26.

M por 387R3627 (DO L 341 03.12.87 p.24).

387 R 2351

Reglamento (CEE) n.º 2351/87 de la Comisión de 31 de julio de 1987 relativo a la reducción del precio de compra de los vinos a la que se refiere el artículo 44 del Reglamento (CEE) n.º 822/87 para la campaña 1987/88.

DO L 213 04.08.87 p.14.

M por 387R2870 (DO L 273 26.09.87 p. 18).

387 R 2544

Reglamento (CEE) n.º 2544/87 de la Comisión de 21 de agosto de 1987 por el que se establecen las normas detalladas de aplicación de la destilación preventiva prevista en el artículo 38 del Reglamento (CEE) n.º 822/87 para la campaña 1987/88.

DO L 242 26.08.87 p.5.

M por 388R3060 (DO L 273 05.10.88 p.5).

387 R 3836

Reglamento (CEE) n.º 3836/87 de la Comisión de 21 de diciembre de 1987, relativo al grado alcohólico volumétrico natural del Prosecco di Conegliano Valdobbiadene producido durante la campaña 1987/88, así como al grado alcohólico volumétrico total mínimo de los vinos de base destinados a su elaboración.

DO L 361 22.12.87 p.12.

387 R 3929

Reglamento (CEE) n.º 3929/87 de la Comisión de 17 de diciembre de 1987 relativo a las declaraciones de cosecha de producción y de existencias de productos del sector vitivinícola..

DO L 369 29.12.87 p.59.

387 Y 1106(02)

Informe especial n.º 4/87 sobre las medidas comunitarias de destilación de vino, acompañado de las respuestas de la Comisión.

DO L 297 06.11.87 p.14.

388 D 0415

88/415/CEE. Decisión del Consejo de 19 de julio de 1988 relativa a la concesión, por parte de determinados Estados miembros, de una ayuda para el almacenamiento privado de vinos de mesa y mostos.

DO L 198 26.07.88 p.42.

388 D 0486

88/486/CEE. Decisión de la Comisión de 9 de agosto de 1988 por la que se reconoce que la producción de determinados vinos de calidad producidos en regiones determinadas, debido a las características cualitativas de dichos vinos, es ampliamente inferior a la demanda.

DO L 239 30.08.88 p.40.

388 R 0034

Reglamento (CEE) n.º 34/88 de la Comisión de 5 de enero de 1988 por el que se establece la posibilidad de celebrar contratos de almacenamiento privado a largo plazo para el vino de mesa, el mosto de uva, el mosto de uva concentrado y el mosto de uva concentrado rectificado para la campaña 1987/88.

DO L 005 08.01.88 p.11.

388 R 0052

Reglamento (CEE) n.º 52/88 de la Comisión de 5 de enero de 1988 por el que se retiran determinados productos del sector vitivinícola de la lista de productos sometidos al mecanismo complementario de intercambios.

DO L 006 09.01.88 p.11.

388 R 0053

Reglamento (CEE) n.º 53/88 de la Comisión de 5 de enero de 1988 por el que se determinan ciertas normas de aplicación especiales del mecanismo complementario de intercambios para los productos del sector vitivinícola y por el que se deroga el Reglamento (CEE) n.º 647/86.

DO L 006 09.01.88 p.13.

M por 388R4002 (DO L 354 22.12.88 p.36).

388 R 0333

Reglamento (CEE) n.º 333/88 de la Comisión de 4 de febrero de 1988, relativo a la no percepción de un gravamen compensatorio sobre las importaciones de determinados vinos originarios y procedentes de determinados terceros países.

DO L 033 05.22.88 p.15.

388 R 0441

Reglamento (CEE) n.º 441/88 de la Comisión de 17 de febrero de 1988 por el que se establecen las modalidades de aplicación para la destilación obligatoria prevista en el artículo 39 del Reglamento (CEE) n.º 822/87 del Consejo.

DO L 045 18.02.88 p.15.

M por 388R1596 (DO L 142 09.06.88 p.17).

M por 388R3060 (DO L 273 05.10.88 p.5).

388 R 0910

Reglamento (CEE) n.º 910/88 de la Comisión de 6 de abril de 1988 por el que se fijan, para el año 1988, los contingentes que España abrirá a determinados productos del sector vitivinícola procedentes de terceros países.

DO L 090 07.04.88 p.7.

388 R 0911

Reglamento (CEE) n.º 911/88 de la Comisión de 6 de abril de 1988, por el que se fijan para el año 1988 los contingentes que Portugal abrirá a determinados productos del sector vitivinícola procedentes de terceros países.

DO L 090 07.04.88 p.9.

388 R 1442

Reglamento (CEE) n.º 1442/88 del Consejo de 24 de mayo de 1988, sobre la concesión, para las campañas vitivinícolas de 1988/89 a 1995/96, de primas por abandono definitivo de superficies vitícolas.

DO L 132 28.05.88 p.3.

M por 389R1326 (DO L 133 17.05.89 p.7).

388 R 2254

Reglamento (CEE) n.º 2254/88 del Consejo de 19 de julio de 1988 por el que se fijan, para la campaña 1988/89, los precios de orientación en el sector del vino.

DO L 198 26.07.88 p.40.

388 R 2452

Reglamento (CEE) n.º 2452/88 de la Comisión de 4 de agosto de 1988 por el que se fijan los tipos especiales para la conversión en moneda nacional de los precios franco frontera de referencia de los vinos generosos o de licor importados.

DO L 212 05.08.88 p.28.

388 R 2598

Reglamento (CEE) n.º 2598/88 de la Comisión de 17 de agosto de 1988 por el que se establecen las normas de aplicación del régimen de ayuda a la utilización de mosto de uva concentrado para la fabricación de determinados productos en el Reino Unido e Irlanda.

DO L 231 20.08.88 p.11.

388 R 2635

Reglamento (CEE) n.º 2635/88 de la Comisión de 24 de agosto de 1988 por el que se establecen las normas de aplicación del régimen de ayudas para la utilización de mostos de uva concentrados en la alimentación animal.

DO L 236 26.08.88 p.8.

D por 388R3447 (DO L 302 05.11.88 p.24).

M por 388R3522 (DO L 307 12.11.88 p.32).

M por 388R3996 (DO L 354 22.12.88 p.27).

388 R 2640

Reglamento (CEE) n.º 2640/88 de la Comisión de 25 de agosto de 1988 por el que

se establecen las normas de aplicación del régimen de ayuda a la utilización en vinificación de mosto de uva concentrado y de mosto de uva concentrado rectificado.

DO L 236 26.08.88 p.20.

388 R 2641

Reglamento (CEE) n.º 2641/88 de la Comisión de 25 de agosto de 1988, por el que se establecen las normas de aplicación del régimen de ayuda para la utilización de uva, de mosto de uva y de mosto de uva concentrado destinados a la elaboración de zumo de uva.

DO L 236 26.08.88 p.25.

388 R 2658

Reglamento (CEE) n.º 2658/88 de la Comisión de 25 de agosto de 1988 por el que se fijan los precios de referencia válidos para la campaña de 1988/89 en el sector vitivinícola..

DO L 237 27.08.88 p.18.

388 R 2720

Reglamento (CEE) n.º 2720/88 de la Comisión de 31 de agosto de 1988 por el que se fijan los precios de compra y las ayudas, así como algunos otros elementos aplicables en la campaña 1988/89 a las medidas de intervención en el sector vitinícola.

DO L 241 01.09.88 p.79.

M por 388R3479 (DO L 305 10.11.88 p.26).

388 R 2721

Reglamento (CEE) n.º 2721/88 de la Comisión de 31 de agosto de 1988, por el que se establecen las normas de aplicación de las destilaciones voluntarias previstas en los artículos 38, 41 y 42 del Reglamento (CEE) n.º 822/87.

DO L 241 01.09.88 p.88.

M por 388R4123 (DO L 361 29.12.88 p.42).

388 R 2722

Reglamento (CEE) n.º 2722/88 de la Comisión de 31 de agosto de 1988 por el que se abre la destilación preventiva contemplada en el artículo 38 del Reglamento (CEE) n.º 822/87 por lo que se refiere a la campaña 1988/89.

DO L 241 01.09.88 p.94.

388 R 2723

Reglamento (CEE) n.º 2723/88 de la Comisión de 31 de agosto de 1988 por el que se ponen en práctica las medidas complementarias reservadas a los poseedores de contratos de almacenamiento a largo plazo de los vinos de mesa para la campaña de 1987/88.

DO L 241 01.09.88 p.95.

M por 388R3127 (DO L 279 12.10.88 p.12).

388 R 2728

Reglamento (CEE) n.º 2728/88 de la Comisión de 31 de agosto de 1988, relativo a la reducción del precio de compra de los vinos contemplados en el artículo 44 del Regla-

mento (CEE) n.º 822/87.
DO L 241 01.09.88 p.106.
M por 388R3531 (DO L 309 15.11.88 p.16).

388 R 2729

Reglamento (CEE) n.º 2729/88 de la Comisión de 31 de agosto de 1988, por el que se establecen las normas de aplicación del Reglamento (CEE) n.º 1442/88 sobre la concesión para las campañas vitivinícolas de 1988/89 a 1995/96, de primas por abandono definitivo de superficies vitícolas.
DO L 241 01.09.88 p.108.
M por 388R3445 (DO L 302 05.11.88 p.21).
M por 389R678 (DO L 73 17.03.89 p.23).

388 R 2957

Reglamento (CEE) n.º 2957/88 de la Comisión de 27 de septiembre de 1988 por el que se fija el importe del anticipo sobre el coste de la salida de determinados productos de destilación.
DO L 268 28.09.88 p.5.

388 R 3105

Reglamento (CEE) n.º 3105/88 de la Comisión de 7 de octubre de 1988 por el que se establecen las modalidades de aplicación de las destilaciones obligatorias a que se refieren los artículos 35 y 36 del Reglamento (CEE) n.º 822/87.
DO L 277 08.10.88 p.21.

388 R 3377

Reglamento (CEE) n.º 3377/88 de la Comisión de 28 de octubre de 1988 por el que se autoriza al Reino Unido a que permita bajo determinadas condiciones, un aumento suplementario del grado alcohólico de determinados vinos de mesa.
DO L 296 29.10.88 p.69.

388 R 3418

Reglamento (CEE) n.º 3418/88 de la Comisión de 28 de octubre de 1988 por el que se fijan los precios franco frontera de referencia aplicables a la importancia de determinados productos vitivinícolas a partir del 1 de septiembre de 1988.
DO L 301 04.11.88 p.10.
M por 388R4012 (DO L 354 22.12.88 p.55).

388 R 3447

Reglamento (CEE) n.º 3447/88 de la Comisión de 4 de noviembre de 1988 por el que se modifican para la campaña 1988/89, determinados plazos establecidos en el Reglamento (CEE) n.º 2635/88.
DO L 302 05.11.88 p.24.

388 R 3503

Reglamento (CEE) n.º 3503/88 de la Comisión de 10 de noviembre de 1988 por el que se establece para los «vinos verdes» una excepción con respecto al grado alcohólico volumétrico total mínimo.
DO L 306 11.11.88 p.42.

388 R 3782

Reglamento (CEE) n.º 3782/88 de la Comisión de 2 de diciembre de 1988 por el que se autoriza a la República Federal de Alemania y a Francia a no aplicar en ciertas zonas las medidas establecidas en el Reglamento (CEE) n.º 1442/88 sobre la concesión, para las campañas vitivinícolas de 1988/89 a 1995/95, de primas por abandono definitivo de superficies vitícolas..

DO L 332 03.12.88 p.25.

388 R 3877

Reglamento (CEE) n.º 3877/88 del Consejo de 12 de diciembre de 1988 por el que se establecen las normas generales relativas a la salida al mercado de los alcoholes obtenidos con arreglo a las destilaciones contempladas en los artículos 35, 36 y 39 del Reglamento (CEE) n.º 822/87, en posesión de los organismos de intervención.

DO L 346 15.12.88 p.7.

388 R 3945

Reglamento (CEE) n.º 394/88 de la Comisión, de 16 de diciembre de 1988, por el que se establece la posibilidad de celebrar contratos de almacenamiento privado a largo plazo para el vino de mesa, el mosto de uva, el mosto de uva concentrado y el mosto de uva concentrado rectificado para la campaña 1988/89.

DO L 348 17.12.88 p.45.

388 R 4252

Reglamento (CEE) n.º 4752/88 del Consejo, de 21 de diciembre de 1988, relativo a la elaboración y a la comercialización de los vinos de licor producidos en la Comunidad.

DO L 373 31.12.88 p.59.

389 R 85

Reglamento (CEE) n.º 85/89 de la Comisión de 16 de enero de 1989 por el que se decide iniciar la destilación obligatoria contemplada en el artículo 39 del Reglamento (CEE) n.º 822/87 del Consejo y se establecen casos de excepción a algunas de las normas de aplicación correspondientes durante la campaña de 1988/89.

DO L 13 17.01.89 p.14.

389 R 86

Reglamento (CEE) n.º 86/89 de la Comisión, de 16 de enero de 1989, por el que se abre la destilación de vinos de mesa prevista en el apartado 1 del artículo 41 del Reglamento (CEE) n.º 822/87 correspondiente a la campaña de 1988/89.

DO L 13 17.01.89 p.17.

389 R 276

Reglamento (CEE) n.º 276/89 de la Comisión de 2 de febrero de 1989, que modifica por octava vez el Reglamento (CEE) n.º 3800/81 por el que se establece la clasificación de las variedades de vid.

DO L 32 03.02.89 p.10.

389 R 420

Reglamento (CEE) n.º 420/89 de la Comisión de 20 de febrero de 1989, por el que

se fijan los tipos especiales para la conversión en moneda nacional de los precios franco frontera de referencia de los vinos generosos o de licor importados. (Deroga R. (CEE) n.º 2452/88).

DO L 49 21.02.89 p.11.

389 R 499

Reglamento (CEE) n.º 499/89 de la Comisión, de 27 de febrero de 1989, por el que se fijan para la campaña de 1988/89 los porcentajes de producción de vino de mesa destinado a la destilación obligatoria contemplada en el artículo 39 del Reglamento (CEE) n.º 822/87 del Consejo..

DO L 57 28.02.89 p.49.

389 R 982

Reglamento (CEE) n.º 982/89 de la Comisión de 14 de abril de 1989, por el que se establece una medida de excepción, con respecto a la campaña de 1988/89, en cuanto a la comunicación que deben efectuar los productores sobre las cantidades de vino de mesa que tienen que destinar a destilación obligatoria.

389 R 986

Reglamento (CEE) n.º 986/89 de la Comisión de 10 de abril 1989, relativo a los documentos que acompañan el transporte de productos vitivinícolas y a los registros que se deben llevar en el sector vitivinícola.

DO L 106 18.04.89 p.1.

389 R 1238

Reglamento (CEE) n.º 1238/89 del Consejo, de 3 de mayo de 1989, por el que se fijan, para la campaña 1989/90, los precios de orientación en el sector del vino..

DO L 128 11.05.89 p.33.

389 R 1268

Reglamento (CEE) n.º 1268/89 de la Comisión, de 8 de mayo de 1989, por el que se reducen las cantidades de vino de mesa que figuran en los contratos y declaraciones debidamente autorizados con arreglo a la destilación por el Reglamento (CEE) n.º 86/89.

DO L 126 09.05.89 p.29.

389 R 1314

Reglamento (CEE) n.º 1314/89 de la Comisión, de 12 de mayo de 1989, por el que se autoriza a Grecia para no aplicar en algunas zonas las medidas establecidas en el Reglamento (CEE) n.º 1442/88 del Consejo sobre la concesión, para las campañas vitivinícolas de 1989/90 a 1995/1996, de primas por abandono definitivo de superficies vitícolas.

DO L 131 13.05.89 p.46.

389 R 1327

Reglamento (CEE) n.º 1327/89 de la Comisión, de 16 de mayo de 1989, por el que se autoriza a España para no aplicar en algunas zonas las medidas establecidas en el Reglamento (CEE) n.º 1442/88 del Consejo sobre la concesión, para las campañas vitivi-

nícolas de 1988/89 a 1995/96, de la prima por abandono definitivo de superficies vitícolas.

DO L 133 17.05.89 p.8.

389 R 1328

Reglamento (CEE) n.º 1328/89 de la Comisión, de 16 de mayo de 1989, por el que se autoriza a Italia para no aplicar en algunas zonas las normas establecidas en el R. (CEE) 1442/88 del Consejo sobre la concesión, para las campañas vitivinícolas de 1988/89 a 1995/96, de primas por abandono definitivo de superficies vitícolas.

DO L 133 17.05.89 p.10.

HERBICIDAS NATURALES EN LA VID: ACTIVIDAD ALELOPATICA SOBRE AMARANTHUS RETROFLEXUS L.

J.C. GALINDO, F.A. MACIAS, G.M. MASSANET y F. RODRIGUEZ-LUIS
Dpto. de Química Orgánica. Facultad de Ciencias de Cádiz
Apto. 40, 11510 - Puerto Real (Cádiz)

RESUMEN:

En esta comunicación se presentan los primeros resultados obtenidos en el estudio de la actividad alelopática de las malas hierbas de la zona de la vid sobre A. retroflexus L. Los extractos obtenidos de *A. blitoides*, *Fedia cornucopiae*, *Lamium anpleuxicanle*, *Arum italicum* y *Arisarum simorrhinum* han mostrado actividad.

INTRODUCCION:

Es conocido que las plantas compiten entre sí por la luz, el agua y los nutrientes, llevando todo ello a una lucha por el espacio vital de la que puede depender la supervivencia del individuo y aún de la propia especie. Con este fin, las plantas han desarrollado mecanismos de defensa que se basan principalmente en la elaboración de determinados metabolitos secundarios que pasan al suelo como exudados de la planta (bien a través de las raíces, bien cuando la planta se ve sometida a un proceso de extracción mediante el agua de lluvia). Estas sustancias poseen un alto potencial de actividad al tener que actuar a concentraciones bajas.

La Alelopatía es una nueva rama de la Ciencia que conjuga aspectos de la Botánica, la Biología y la Química Orgánica y que se dedica al estudio de la acción bioquímica mediante la cual las plantas interaccionan entre sí y con su entorno.

Estos estudios no solamente tienen un interés teórico, sino que poseen aplicaciones prácticas, ya que el conocimiento de las sustancias a través de las cuales se desarrolla esta

actividad y de los mecanismos por los que actúan puede llevarnos a la obtención de nuevos biocidas naturales.

En el Departamento de Química Orgánica de la Facultad de Ciencias de Cádiz estamos desarrollando actualmente esta línea, orientada principalmente al estudio y búsqueda de nuevos fitocidas de origen natural con aplicación directa sobre las malas hierbas que afectan a los cultivos de la vid.

MATERIALES Y METODOS:

1) **Selección de especies y extracción.** Se está llevando a cabo un "screening" previo de la posible actividad alelopática de las malas hierbas de la zona de la vid. Para ello, se han hecho extractos acuosos de numerosas especies recogidas en los campos y viñedos de esta comarca con agua destilada, a temperatura ambiente, pH neutro y a oscuras, siguiéndose una relación volumen de agua/peso planta de 3/1, durante 24 h. El extracto obtenido se filtró y centrifugó a 10.000 r.p.m. durante 25 min.

2) **Bioensayos.** Se trata de tests de inhibición y estimulación de la germinación de las semillas, habiéndose realizado hasta ahora sobre *A. retroflexus* L., si bien se están ampliando a otras especies (*Lactuca sativa* L. var. *Magetive*, *Sylibum marianum*, *Picris echoides* y *Amaranthus blitoides*). Estos tests se realizan en placas de Petri sobre papel Whatman número 1, y constan de tres etapas:

– Optimización del bioensayo, es decir, obtención de las mejores condiciones de germinación (temperatura, volumen de agua, número de semillas) para cada especie sobre la que se vaya a ensayar.

– Realización del bioensayo en sí, probando la actividad de los extractos o productos puros a diferentes concentraciones.

– Resultados y tratamiento estadístico. Los parámetros a evaluar son el % de germinación y la longitud del radículo y del tallo.

Los resultados obtenidos son sometidos al test de Student para verificar su fiabilidad.

Este proceso se ha seguido con diversas especies vegetales calificadas como de malas hierbas de las más comunes en los viñedos de esta zona. Las especies probadas son:

– *Amaranthus blitoides*, habiéndose llevado a cabo un seguimiento de la actividad de esta planta desde octubre hasta enero.

– *Sylibum marianum*.

– *Centaurea pullata*.

– *Fedia cornucopiae*.

– *Lamium anpleuxicanle*.

– *Fumaria* sp.

– *Arisarum simorrhinum*.

– *Arum italicum*.

– *Diploaxis siifolia*.

– *Allium stearnii*.

– *Oxalis pes-caprae*.

– *Gladiolus communis*.

- *Borago officinalis*.
- *Papaver rhoeas*.
- *Hedysarum coronarium*.
- *Arenaria hispanica*.
- *Erodium malacoides*.
- *Stacys ochymastrum*.
- *Raphanus raphanistrum*.
- *Anchusa azurea*.

3) Al mismo tiempo, y dado que *A. Blitoides* demostró poseer actividad, se comenzó el estudio químico sistemático del extracto acuoso de la planta con el fin de aislar los principios responsables de dicha actividad. Se partió de 10 kg. de planta fresca y se pusieron en maceración en 30 l. de agua destilada durante 24 h. y a oscuras. El líquido resultante se filtró y se extrajo con disolventes orgánicos: primero se trató el macerado con cloroformo, recogién dose sobre sulfato sódico anhidro. Posteriormente, el líquido extraído con cloroformo se sometió a extracción en acetato de etilo con el mismo método. Los volúmenes de cloroformo y acetato de etilo obtenidos se concentraron, dando un peso de 1,172 g. para el extracto en cloroformo y de 2.978 g. para la fracción de acetato de etilo.

La fracción clorofórmica se sometió a una separación previa en columna de presión sobre sílica gel (0.063 mm), de la que se recogieron unas 200 fracciones de 50 ml. que luego se volvieron a tratar por cromatografía en columna sobre sílica gel y cromatografía en placa fina.

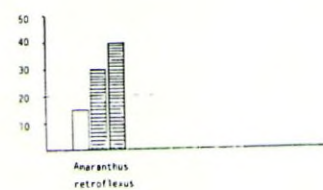
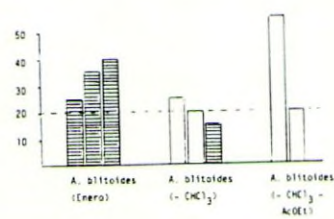
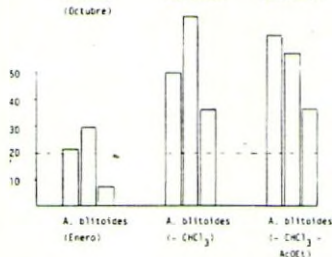
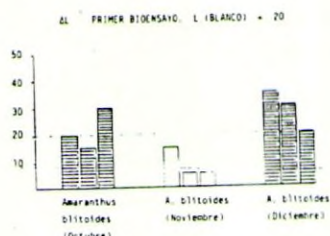
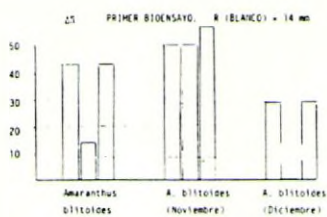
La fracción procedente del extracto en acetato de etilo está siendo sometida a un tratamiento similar.

RESULTADOS Y DISCUSION.

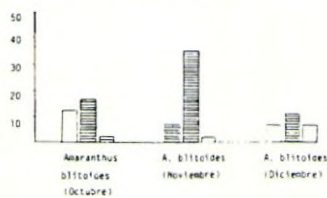
Los resultados obtenidos de los bioensayos se detallan en las tablas I a IV, así como en las gráficas adjuntas, correspondiendo a los test de germinación de las especies anteriormente citadas sobre *A. retroflexus* L., estando dados los valores para niveles de confianza de un 99%.

A la vista de los datos obtenidos en la tabla I, se puede deducir que si bien los extractos acuosos de *A. blitoides* correspondientes a los meses de octubre a enero no presentan una actividad significativa, los extractos acuosos tratados con disolventes orgánicos sí que presentan una clara actividad inhibidora de la germinación.

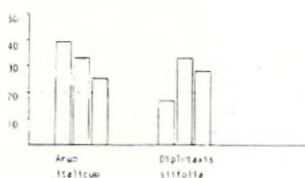
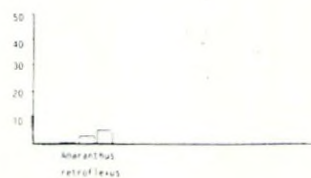
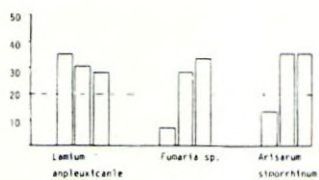
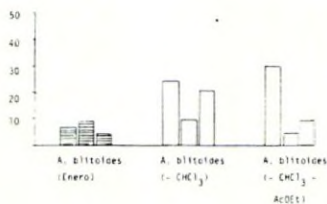
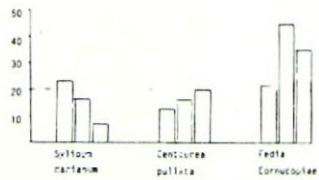
Estos mismos extractos son capaces de inhibir el crecimiento de la raíz, viéndose de nuevo potenciada esta actividad en los extractos tratados con disolventes orgánicos, mientras que no presentan una actividad clara respecto al crecimiento del tallo, excepto, de nuevo, los extractos procedentes del tratamiento con disolventes orgánicos.



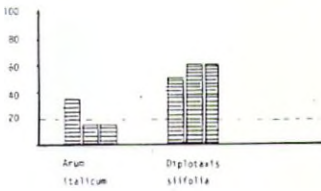
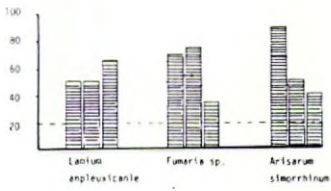
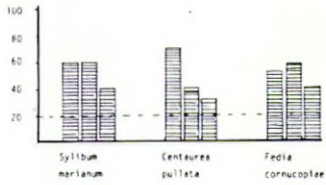
160 PRIMER BIENSAYO. 20 (BLANCO) - 57



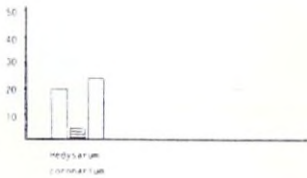
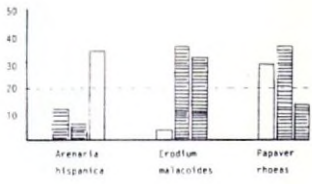
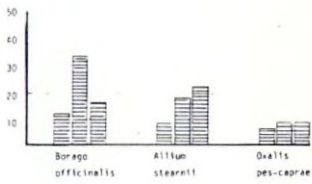
161 SEGUNDO BIENSAYO. 20 (BLANCO) - 60



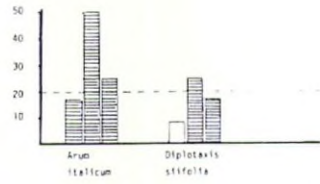
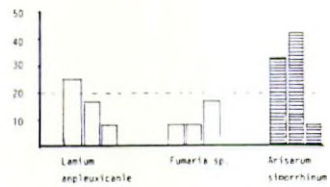
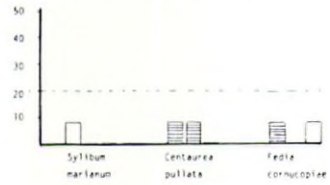
2L SEGUNDO BIENSAJO. L (BLANCO) = 20 mm



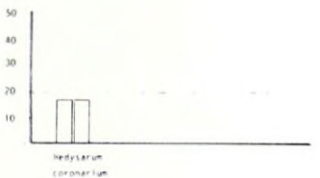
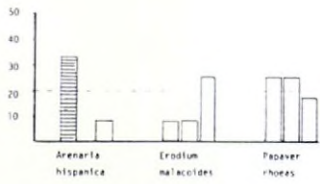
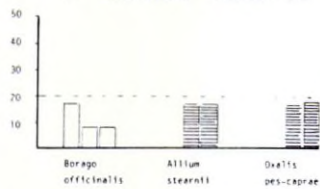
2G1 TERCER BIENSAJO. 2G (BLANCO) = 50



2R SEGUNDO BIENSAJO. R (BLANCO) = 12 mm



2R TERCER BIENSAJO. R (BLANCO) = 12 mm



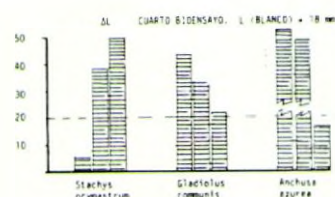
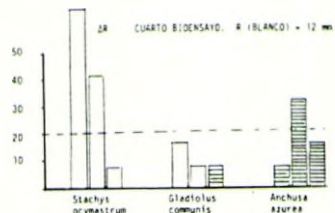
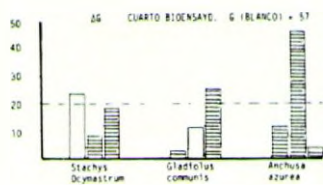
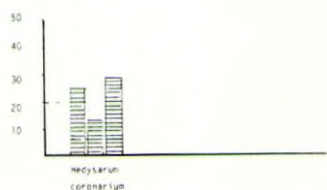
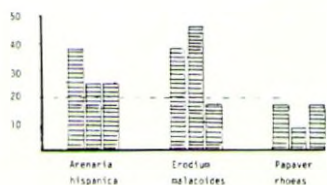


TABLA I

| | ΔG | | | ΔR | | | ΔL | | |
|--|------|------|------|------|-------|------|------|------|-------|
| | 1:10 | 1:20 | 1:40 | 1:10 | 1:20 | 1:40 | 1:10 | 1:20 | 1:40 |
| Amaranthus blitoides (Octubre) | -12 | +16 | +2 | -43 | -36 | -43 | +20 | +15 | +30 |
| Amaranthus blitoides (Noviembre) | +7 | +35 | -2 | -50 | -50 | -57 | -15* | -5* | -5* |
| Amaranthus blitoides (Diciembre) | -7 | +11 | -7 | -29 | 0 | -29 | +35 | +30 | +20 |
| Amaranthus blitoides (Enero) | +7 | +9 | +4 | -21 | -29** | -7** | +25 | +35 | +40** |
| Amaranthus blitoides (-CHCl ₃) | -25 | -10 | -21 | -50 | -71 | -36 | -5** | -20 | +15 |
| Amaranthus blitoides (-CHCl ₃ -AcOEt) | -30 | -5 | -10 | -64 | -57 | -36 | -55 | -20 | 0 |
| Amaranthus retroflexus | 0 | -3 | -5 | -43 | +7 | +14 | -15 | +30 | 40 |

Resultados del bioensayo de actividad de A. blitoides y A. retroflexus sobre A. retroflexus. (nivel de confianza del 99%)

* nivel de confianza de un 95%

** nivel de confianza por debajo del 95%

Los datos de ΔG no han sido sometidos al test t de Student.

TABLA II

| | ΔG | | | ΔR | | | ΔL | | |
|-----------------------------|------------|------|------|------------|-------|-------|------------|------|------|
| | 1:10 | 1:20 | 1:40 | 1:10 | 1:20 | 1:40 | 1:10 | 1:20 | 1:40 |
| <i>Sylbium marianum</i> | -23** | -27 | -7 | -8** | 0 | 0 | +60 | +60 | +40 |
| <i>Centaurea pullata</i> | -13** | -16* | -20 | +8** | +8** | 0 | +70 | +40 | +30 |
| <i>Fedia cornucopiae</i> | -30 | -45 | -35 | +8** | 0 | -8** | +45 | +58 | +40 |
| <i>Lamium anplexicanle</i> | -35 | -30 | -28 | -25* | -17 | -8 | +50 | +50 | +65 |
| <i>Fumaria sp.</i> | -7** | -28 | -33 | -8* | -8* | -17 | +70 | +75 | +35 |
| <i>Arisarum simorhinum</i> | -10 | -35 | -25 | +33 | +42** | +8* | +90 | +50 | +40 |
| <i>Arum italicum</i> | -39 | -33 | -25* | +17** | +50 | +25 | +35 | +15 | +15 |
| <i>Diplostaxis siifolia</i> | -17* | -33 | -28 | -8** | +25** | +17** | +50 | +60 | +60 |

Resultados del bioensayo de actividad de las especies citadas sobre *A. retroflexus*. (nivel de confianza del 99%)

TABLA III

| | ΔG | | | ΔR | | | ΔL | | |
|-----------------------------|------------|-------|-------|------------|-------|-------|------------|------|-------|
| | 1:10 | 1:20 | 1:40 | 1:10 | 1:20 | 1:40 | 1:10 | 1:20 | 1:40 |
| <i>Borago officinalis</i> | +12** | +34 | +16** | -17 | -8 | -8 | +21 | +25 | +17** |
| <i>Allium stearnii</i> | +8** | +18** | +22** | 0 | +17** | +17** | +4** | +4** | 0 |
| <i>Oxalis pes-caprae</i> | +6** | +8** | +8** | 0 | +17** | +18** | +38 | +42 | +38 |
| <i>Arenaria hispanica</i> | +12** | +6** | -34 | +33** | 0 | -8 | +38 | +25 | +25** |
| <i>Erodium malacoides</i> | -4** | +36* | +32* | -8 | -8 | -25 | +38 | +46 | +17 |
| <i>Papaver rhoeas</i> | -30** | +36** | +14** | -25 | -25 | -17 | +18 | +8** | +18 |
| <i>Hedysarum coronarium</i> | -20** | +4** | -24* | -17 | -17 | 0 | +25 | +13 | +29 |

Resultados del bioensayo de actividad de las especies citadas sobre *A. retroflexus*. (nivel de confianza del 99%)

TABLA IV

| | ΔG | | | ΔR | | | ΔL | | |
|---------------------------|------------|-------|-------|------------|------|------|------------|------|------|
| | 1:10 | 1:20 | 1:40 | 1:10 | 1:20 | 1:40 | 1:10 | 1:20 | 1:40 |
| <i>Stachys ocymastrum</i> | -25** | +9** | +19** | -67 | -42 | -8** | +6** | +39 | +50 |
| <i>Gladiolus communis</i> | +3** | -11** | +26 | -17 | -8** | +8** | +44 | +33 | +22 |
| <i>Anchusa azurea</i> | +12* | +47 | +4** | +8** | +33 | +17 | +83 | +78 | +17 |

Resultados del bioensayo de actividad de las especies citadas sobre *A. retroflexus*. (nivel de confianza del 99%)

Por otra parte, *A. retroflexus* no ha presentado actividad inhibitoria sobre sí misma.

En la tabla II se observa que todas las especies son capaces de inhibir la germinación de manera significativa, excepto *Sylibum marianum* y *Centaurea pullata*, destacando por su actividad *Fedia cornucopiae*, *Lamium anpleuxicanle*, *Arisarum simorrhinum* y *Arum italicum*.

Respecto al crecimiento de la raíz, sólo *Arum italicum* mostró poseer una actividad significativa, activándolo. Sin embargo, todas ellas han demostrado poder activar el crecimiento del tallo, destacando *Arisarum simorrhinum* (AL = 90) y *Fumaria* sp. (AL = 75).

De las especies probadas en el tercer bioensayo (tabla III), ninguna ha mostrado una actividad significativa sobre la germinación o el crecimiento de la raíz, si bien *Oxalis pes-caprae*, *Arenaria hispanica* y *Erodium malacoides* sí han sido capaces de potenciar significativamente el crecimiento del tallo.

Por último, de las especies que aparecen en la tabla IV. *Stachys Ocymastrum* ha demostrado poseer actividad sobre el crecimiento de la raíz y del tallo, mientras que las otras dos sólo han mostrado actividad sobre el tallo. Ninguna ha mostrado una interacción significativa sobre la germinación.

En cuanto al estudio químico de las diferentes fracciones obtenidas del extracto acuoso, de la parte clorofórmica se han aislado 12 productos en cantidades que van desde 1 mg. hasta 8 mg. y que actualmente se están sometiendo a estudio espectroscópico (RMN, UV, IR y MS) para determinar sus estructuras. La información ya obtenida permite pensar en la existencia de lactonas sesquiterpénicas, triterpenos, glucósidos (probablemente de iridioides) y compuestos fenólicos con diversos tipos de sustituyentes.

De la fracción procedente de acetato se ha obtenido hasta ahora una lactona sesquiterpénica y una colección de compuestos fenólicos similares a los de la fracción anterior y en cantidades que van desde 5 mg. hasta 11 mg.

CONCLUSIONES

– Los extractos acuosos de *A. Blitoides* tratados con disolventes orgánicos han demostrado poseer actividad inhibitoria del crecimiento y de la germinación, por lo que se ha pasado a abordar su estudio químico sistemático.

– Los extractos procedentes de *Fedia cornucopiae*, *Lamium anpleuxicanle*, *Fumaria* sp, *Arum italicum*, *Arisarum simorrhinum* y *Diploxixis siifolia* son capaces de inhibir la germinación de *A. retroflexus* L., destacando la actividad de *Fedia Cornucopiae* y *Arum italicum*.

– Los extractos anteriores y los de *Sylibum marianum* y *Centaurea pullata* han demostrado ser buenos activadores del crecimiento de la raíz, destacando *Arisarum simorrhinum* y *Fumaria* sp.

– *Oxalis pes-caprae*, *Arenaria hispanica* y *Erodium malacoides* presentan una acción potenciadora del crecimiento del tallo, pero no poseen valores significativos sobre los otros dos parámetros.

– *Stachys ocymastrum*, *Anchusa azurea* y *Gladiolus communis* son capaces de actuar sobre el crecimiento, pero no sobre la germinación.

A la vista de estos resultados, las especies que han demostrado poseer mayor actividad han sido *Fedia cornucopiae*, *Arisarum simorrhinum*, *Lamium anpleuxicanle*, *Diplo-taxis siifolia* y *Arum italicum*, por lo que serán objeto de un estudio químico sistemático posterior.

Agradecimientos. Deseamos agradecer la colaboración del licenciado Beltrán Peña de la estación viticultora "Rancho de la Merced" en el trabajo de recogida y clasificación de las especies estudiadas.

BIBLIOGRAFIA RECOMENDADA

- 1.- "INTRODUCCION TO ECOLOGICAL BIOCHEMISTRY"; J.B. Harbone, Academic Press, 1982 (pag. 207-226).
- 2.- "ALLELOPATHY"; Elroy L. Rice, Academic Press, 1984.
- 3.- "THE SCIENCE OF ALLELOPATHY"; Alan R. Putnam and Chung-Shih Tang (eds.); John Wiley, 1986.
- 4.- "ALLELOCHEMICALS: Role in Agriculture and Forestry"; George R. Waller (ed.), Am. Chem. Soc., Washington, 1987.
- 5.- "The allelopathic potential of *Coridothymus capitatus* L." Daniella A. Katz, Baruch Sneh and Jacob Friedman, *Plant and Soil* 98, 53-66 - (1987).

SEGUIMIENTO DISTINTAS PODAS DE FORMACION EN JEREZ

C. PEMAN y G. RASCON
Departamento de Viñas de
González-Byass, S.A. - Jerez

En el año 1967 se plantó la viña La Bodogonera en el Pago de los Tercios, término del Puerto de Santa María, precisamente sobre la tierra límite con el término de Jerez de la Frontera.

“En 1968 se inició una experiencia cuyo objetivo era comparar los distintos tipos de poda de formación que se practicaban en la zona, de manera más o menos general.

Especialmente se pretendía comprobar el resultado de las podas de formación llamadas “de nieto”, es decir, aquellas en que se utiliza el brote correspondiente a la yema pronta, que se desarrolla en la misma primavera de su nacimiento, o sea en el mismo ciclo vegetativo que el sarmiento en que está inserta, por lo que se les llama también brote secundario, con lo que se adelanta un año todo el proceso de formación.

Estas podas “de nieto” se han practicado, sobre todo, por algunos pequeños viticultores y siempre han sido muy discutidas.

Muchos han criticado esta poda, indicando que se fundamenta la cepa sobre unos brazos débiles y que no debe someterse la planta a una fuerte producción los primeros años.

Técnicamente no parece ortodoxo aprovechar un brote secundario por su constitución para fundamentar la cepa; es un principio general de poda aplicable a toda fruticultura.

En el estudio sobre la poda de la vid en Jerez, del ingeniero agrónomo D. Gonzalo Fernández de Bobadilla, no se considera aconsejable esta poda de formación.

En la práctica, se ha dicho que los brazos acaban “ahorcándose”, es decir, debilitándose y perdiéndose.

Se establecieron en el ensayo distintas modalidades, pero fundamentalmente las siguientes:

Utilizar las 2 primeras yemas del nieto para formar los dos brazos de la cepa (delantero y trasero).

Utilizar la 1.^a yema del nieto y la yema de invierno o gorda, para formar los brazos de la cepa.

Poda clásica sin utilizar el nieto, pero dejando en el nudo superior (desgance) un trozo de nieto para forzar la producción.

Poda clásica como testigos y comparación. (Ver dibujos).

Concretamente se han hecho las siguientes podas en parcelas de 3 líneas, de carril a carril (Plano adjunto).

Parcela A – Nieto formación con dos yemas y nieto desgance con dos yemas, (habiéndose cortado en primavera por el siguiente nudo el desgance).

Parcela B – Idéntica (pero sin haber cortado en primavera el sarmiento).

Parcela C – Nieto formación con una yema y nieto desgance con dos yemas (habiéndose cortado en primavera por el siguiente nudo al desgance).

Parcela D – Idéntica (pero sin haber cortado en primavera el sarmiento).

Parcela E – Poda clásica, pero dejado en el nudo superior o desgance un nieto dos años, como recargado, para aumentar la producción.

Parcela F – Poda clásica por 2 yemas, pero dejando un nieto en el desgance con 3 yemas.

Parcela G – Poda clásica por 3 yemas, pero dejando un nieto en el desgance con 3 yemas.

Parcela H – Poda clásica por 5 yemas, pero dejando un nieto en el desgance con 3 yemas.

Parcela I – Poda clásica por 7 yemas, pero dejando un nieto en el desgance con 3 yemas.

Parcela J – Poda clásica (virote) por 2 yemas.

Parcela K – Poda clásica por 3 yemas.

Parcela L – Poda clásica por 5 yemas.

Parcela M – Poda clásica por 7 yemas.

Parcela N, O, P, Q, y R son idénticas a A, B, C, D y E.

Reunimos estas parcelas en cuatro grupos.

1) Podas de nieto.

2) Recargado en el desgance dos años.

3) Poda clásica con nieto en desgance (cargado).

4) Poda clásica (virote).

Con este ensayo queríamos comprobar:

1) El interés económico al valorar el aumento de cosechas los dos primeros años.

2) Verificar las posibles pérdidas de los brazos formado sobre nietos.

3) Las futuras producciones a más largo plazo.

Veamos las diferentes producciones correspondientes a los dos años (2.^a y 3.^a cosecha) (Cuadro 1).

El grupo de Poda de nieto - 11'16 kg/cepa.

El grupo de Poda clásica - 4'99 kg/cepa.

Diferencia - 6'17 kg/cepa.

(En otro ensayo hecho en Viña Bonanza 1972 y 1973, la diferencia fue de 7'6 kg/cepa).

El valor de esta diferencia representa $6'17 \text{ kg} \times 3.700 \text{ cepas} \times 34 \text{ pts.} = 776.186 \text{ pts./Hectárea}$, cantidad muy importante para reducir los gastos de fundación del viñedo, muy elevados.

(1.400.000 pts./Hac. desinfección + plantación e injercción, es decir, dos años).

Durante diez años hemos inspeccionado las distintas parcelas para comprobar la pérdida o debilitamiento de brazos.

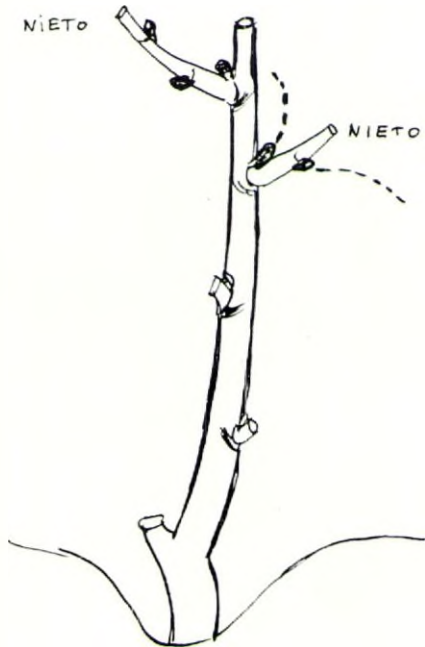
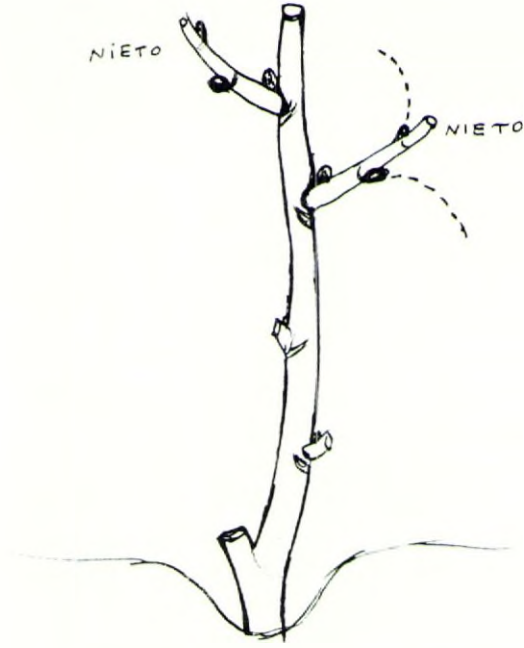
Contra lo esperado se habían producido más pérdidas en las cepas formadas con podas clásicas que en aquellas formadas de nieto, 5% contra 8'5%.

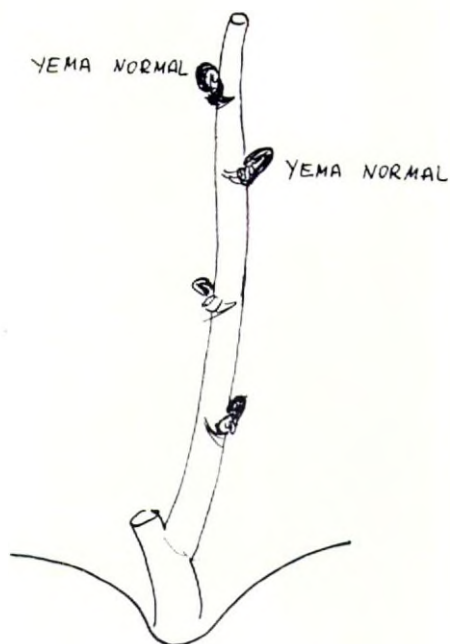
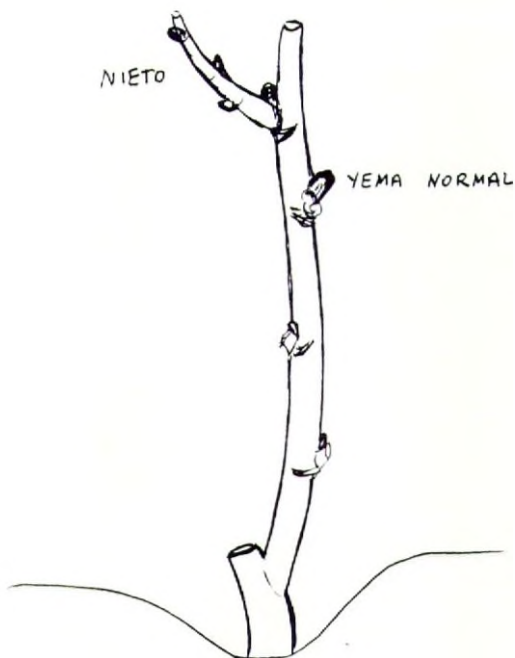
Por último, cada año se ha pesado la cosecha de estas parcelas y después de 20 años, también contra todo pronóstico, las parcelas formadas de nieto alcanzan mayores producciones que las formadas según la poda clásica. (Cuadros 2 y 3).

Tenemos que concluir diciendo que seguimos otras parcelas de varias hectáreas, con buenos resultados para las podas de nieto.

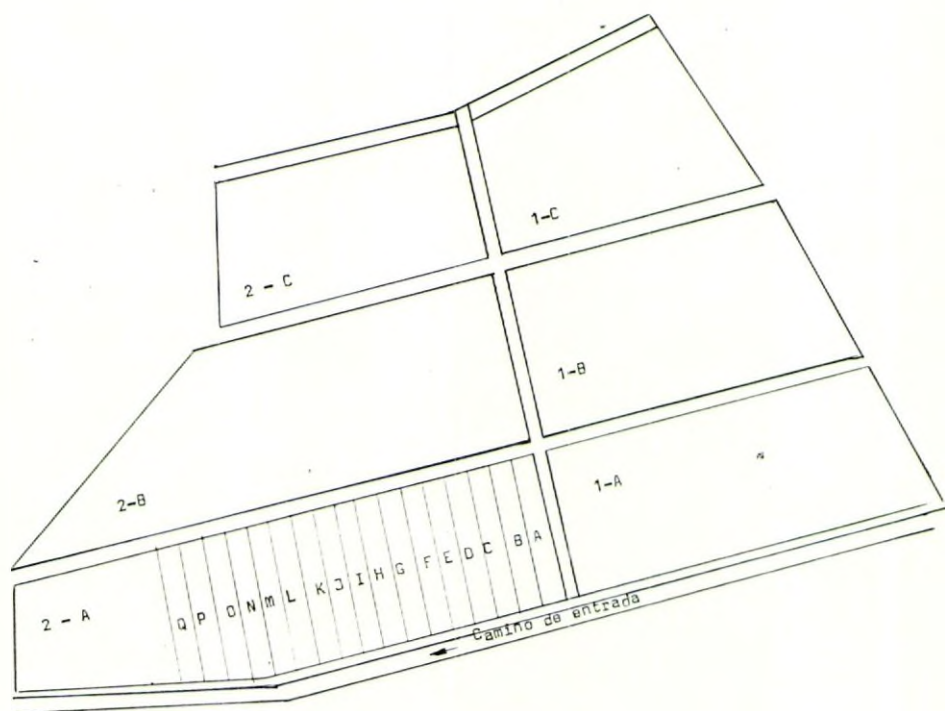
Actualmente hay que considerar otras ventajas en las primeras podas, que son mucho más económicas, por necesitar menos podas en verdes que exigen las podas clásicas, menos conocimientos en el podador, cuando empiezan a escasear los especialistas y menos riesgos en primavera por caídas de brotes, cosa que puede ocurrir en viñas de grandes superficies, nunca tan atendidas como las parcelas de pequeños viticultores.

Por lo tanto en Jerez, dado el vigor de las cepas los primeros años, se puede practicar la poda de nieto y su interés económico y práctico es indudable.





ENSAYO DE PODAS DE FORMACION, VIÑA LA BODOGONERA



Cuadro nº 1

ENSAYO PODAS DE FORMACION. VIÑA LA BODOGONERA

| <u>PARCELAS</u> | <u>1.969</u> | <u>1.970</u> | <u>Total 2 años</u> | <u>Tipo de Poda</u> |
|-----------------|--------------|--------------|---------------------|------------------------------|
| A | 6'05 | 5'90 | 11'95 | |
| B | 5'80 | 6'90 | 12'70 | |
| C | 3'80 | 6'90 | 10'70 | |
| D | 4'90 | 6'40 | 11'30 | Podas de nieto |
| N | 7'00 | 6'40 | 13'40 | |
| O | 3'80 | 5'30 | 9'10 | |
| P | 4'80 | 5'80 | 10'60 | |
| Q | 4'30 | 5'30 | 9'60 | |
| Promedio | 5'05 | 6'11 | <u>11'16</u> | |
| <hr/> | | | | |
| E | 3'80 | 6'90 | 10'70 | |
| R | 3'35 | 5'20 | 8'55 | Recargado |
| Promedio | 3'57 | 6'05 | <u>9'62</u> | |
| <hr/> | | | | |
| F | 5'20 | 1'90 | 7'10 | |
| G | 5'20 | 2'20 | 7'40 | Podas clasica con cargado |
| H | 4'85 | 3'00 | 7'85 | |
| I | 4'95 | 2'36 | 7'31 | |
| Promedio | 5'05 | 2'36 | <u>7'41</u> | |
| <hr/> | | | | |
| J | 2'85 | 1'60 | 4'45 | |
| K | 2'10 | 1'90 | 4'00 | |
| L | 2'75 | 2'90 | 5'65 | Podas clasica |
| M | 2'05 | 3'80 | 5'85 | |
| Promedio | 2'44 | 2'55 | <u>4'99</u> | |

Cuadro nº 2

ENSAYO DE PODAS DE FORMACION. VIÑA LA BODOGONERA

| <u>Parcelas</u> | <u>Total Kgs. 1.971-1.988</u> | <u>Tipo de Poda</u> |
|-----------------|-------------------------------|------------------------------|
| A | 80'39 | |
| B | 82'29 | |
| C | 81'54 | |
| D | 81'83 | Podas de nieto |
| N | 76'66 | |
| O | 85'06 | |
| P | 79'55 | |
| Q | 87'67 | |
| Promedio | <u>81'88</u> | |
| <hr/> | | |
| E | 75'85 | |
| R | 81'10 | Recargado |
| Promedio | <u>78'50</u> | |
| <hr/> | | |
| F | 82'87 | |
| G | 75'27 | |
| H | 76'18 | Podas clasica con cargado |
| I | 71'81 | |
| Promedio | <u>76'54</u> | |
| <hr/> | | |
| J | 68'74 | |
| K | 74'99 | Podas clasica |
| L | 80'14 | |
| M | 72'47 | |
| Promedio | <u>74'09</u> | |
| <hr/> | | |

ENSAYO DE PODAS DE FORMACION. VIÑA LA BODOGONERA

| Parcelas | 1971 | 1972 | 1973 | 1974 | 1975 | 1976 | 1978 | 1979 | 1980 | 1981 | 1982 | 1983 | 1984 | 1985 | 1986 | 1988 | TOTAL |
|----------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|-------|
| A | 5'38 | 5'90 | 4'98 | 5'15 | 5'40 | 4'27 | 5'22 | 5'00 | 5'67 | 3'70 | 5'60 | 3'57 | 4'34 | 6'10 | 4'58 | 5'53 | 80'39 |
| B | 6'76 | 4'90 | 4'86 | 5'43 | 5'30 | 3'97 | 5'62 | 5'40 | 5'34 | 3'93 | 5'55 | 3'63 | 4'27 | 6'13 | 5'70 | 5'50 | 82'29 |
| C | 6'45 | 5'53 | 4'87 | 5'21 | 4'96 | 4'07 | 5'63 | 6'00 | 5'25 | 4'13 | 4'87 | 3'70 | 4'47 | 6'00 | 4'90 | 5'50 | 81'54 |
| D | 5'25 | 5'09 | 5'35 | 5'33 | 5'00 | 3'50 | 6'13 | 6'00 | 6'82 | 3'66 | 5'70 | 3'50 | 4'40 | 6'33 | 5'40 | 5'07 | 81'83 |
| N | 5'38 | 3'50 | 4'08 | 6'28 | 4'83 | 4'55 | 5'53 | 5'80 | 4'97 | 3'40 | 4'57 | 3'92 | 4'04 | 5'45 | 4'93 | 5'43 | 76'66 |
| O | 5'55 | 3'37 | 4'71 | 7'08 | 4'71 | 5'17 | 5'10 | 6'00 | 6'17 | 4'37 | 5'70 | 4'43 | 5'87 | 5'73 | 5'27 | 4'88 | 85'06 |
| P | 5'06 | 5'27 | 5'55 | 5'50 | 5'03 | 4'10 | 4'30 | 6'00 | 5'24 | 4'10 | 6'00 | 4'63 | 4'10 | 5'67 | 4'33 | 4'67 | 79'55 |
| Q | 5'03 | 6'85 | 5'66 | 5'11 | 6'40 | 4'80 | 5'60 | 7'20 | 5'47 | 4'87 | 5'52 | 4'23 | 4'60 | 7'00 | 4'30 | 5'03 | 87'67 |
| Promedio | 5'61 | 5'05 | 5'01 | 5'64 | 5'32 | 4'30 | 5'39 | 5'84 | 5'62 | 4'02 | 5'44 | 3'95 | 4'51 | 6'05 | 4'93 | 5'20 | 81'88 |
| E | 5'68 | 5'27 | 4'43 | 5'26 | 4'70 | 3'62 | 5'00 | 5'70 | 5'34 | 3'60 | 4'60 | 3'63 | 4'50 | 5'39 | 4'03 | 5'10 | 75'85 |
| R | 4'68 | 5'09 | 4'06 | 5'33 | 6'10 | 4'59 | 6'35 | 5'80 | 5'22 | 4'10 | 5'50 | 4'33 | 4'54 | 5'70 | 4'33 | 5'38 | 81'10 |
| Promedio | 5'18 | 5'18 | 4'25 | 5'30 | 5'30 | 4'11 | 5'68 | 5'75 | 5'28 | 3'85 | 5'05 | 3'98 | 4'52 | 5'55 | 4'18 | 5'24 | 78'50 |
| F | 6'30 | 5'37 | 4'31 | 6'00 | 5'40 | 4'35 | 5'50 | 5'60 | 5'90 | 4'11 | 5'55 | 2'88 | 4'94 | 5'67 | 5'57 | 5'42 | 82'87 |
| G | 5'20 | 4'53 | 5'00 | 5'27 | 5'30 | 4'54 | 5'72 | 5'96 | 5'57 | 3'83 | 5'30 | 3'32 | 3'94 | 4'83 | 4'60 | 2'36 | 75'27 |
| H | 3'86 | 5'33 | 4'26 | 5'56 | 5'03 | 4'27 | 5'13 | 5'50 | 5'90 | 3'50 | 4'75 | 3'15 | 4'74 | 4'80 | 5'33 | 5'07 | 76'18 |
| I | 4'93 | 3'50 | 4'43 | 5'03 | 4'25 | 5'20 | 5'46 | 5'30 | 3'77 | 4'80 | 2'80 | 3'54 | 4'97 | 4'20 | 5'03 | 4'60 | 71'81 |
| Promedio | 5'07 | 4'68 | 4'50 | 5'47 | 5'00 | 4'59 | 5'45 | 5'59 | 5'29 | 4'06 | 4'60 | 3'22 | 4'65 | 4'88 | 5'13 | 4'36 | 76'54 |
| J | 5'06 | 4'20 | 4'10 | 5'36 | 4'30 | 3'72 | 4'23 | 5'60 | 4'24 | 3'87 | 4'67 | 2'87 | 3'74 | 4'24 | 4'67 | 3'87 | 68'74 |
| K | 4'70 | 5'85 | 4'47 | 5'45 | 5'30 | 3'47 | 5'43 | 5'00 | 5'44 | 3'44 | 5'47 | 3'07 | 4'10 | 4'43 | 4'80 | 4'57 | 74'99 |
| L | 4'38 | 6'43 | 4'70 | 5'93 | 5'45 | 4'20 | 5'03 | 6'10 | 5'00 | 3'74 | 5'57 | 3'10 | 4'37 | 5'67 | 5'70 | 4'77 | 80'14 |
| M | 2'80 | 5'54 | 4'81 | 6'03 | 5'06 | 4'20 | 4'68 | 4'80 | 5'40 | 3'40 | 4'37 | 3'68 | 4'40 | 5'03 | 4'87 | 3'40 | 72'47 |
| Promedio | 4'24 | 5'51 | 4'52 | 5'69 | 5'03 | 3'90 | 4'84 | 5'38 | 5'02 | 3'61 | 5'02 | 3'18 | 4'15 | 4'84 | 5'01 | 4'15 | 74'09 |

CARACTERISTICAS DE NUEVAS VARIEDADES DE VID OBTENIDAS POR CRUZAMIENTO

B. PUERTAS, M. LARA, M. MORALES, A. GARCIA DE LUJAN
Estación Experimental Rancho de la Merced
Ctra. Trebujena Km. 3'200 - Apartado 589
Jerez de la Frontera

RESUMEN

Se presentan datos relativos a las nuevas obtenciones de la Estación Experimental Rancho de la Merced, Corredera, Lola, Medina, Montera y Redora, conseguidas por hibridación del Palomino fino con otras viníferas.

Se indica su origen, características ampeológicas y comportamiento agronómico.

INTRODUCCION

La obtención de nuevas variedades posibles semejantes puede realizarse con el cruce entre viníferas. Esta técnica consiste en la fecundación de la flor de una variedad con polen procedente de otra, obteniendo una nueva semilla que, germinada, da lugar a una nueva planta, distinta de sus progenitores.

En la década de los cuarenta en las dependencias del INIA en Jerez, Fernández de Bobadilla obtuvo nuevas variedades mediante cruzamientos entre viníferas clásicas de la zona y la Palomino fino y nuevos portainjertos bien adaptados a los terrenos calizos, como es el 13-5 EVEX.

A partir de 1971, García de Luján continuó realizando una serie de hibridaciones entre la Palomino fino y otras variedades de interés.

De estos trabajos destacan, entre las viníferas, las variedades Corredera, Lola, Medina, Montera y Redora, cuyas características se presentan en esta comunicación. Son descendientes de la Palomino fino, tienen mayor contenido en azúcares que ésta, con buena adaptación a la zona del Jerez.

MATERIAL Y METODOS

Variedades

Las variedades en cuestión se encuentran en la colección de la Estación Experimental Rancho de la Merced, situada en el término municipal de Jerez de la Frontera, en la carretera que une esta ciudad con Trebujena, a la altura del km. 3'200.

Los datos específicos de la parcela donde se encuentra la colección estudiada son:

Marco de plantación: 2'30 × 1'15 m.

Portainjerto: 41-B.

Número cepas controladas: 10 por variedad.

Poda: pulgar y vara de unas 9 yemas.

Conducción: espaldera de 1 m. de altura.

Años de control: 15.

Cultivo: de secano, sin riego.

Terrenò: clásico de albariza.

Las características climáticas y vitícolas de esta zona han sido descrita por Hidalgo (1.980). Las más importantes son:

Temperatura media anual 17'3 °C

Precipitación anual 582 mm.

Evaporación potencial 875 mm.

Índice de humedad 0'67

Índice térmico eficaz de Winkler 2.705

Producto heliotérmico de Branas 11'9

Índice bioclimático de Hidalgo 20

Las variedades que se estudian en el presente trabajo proceden de los siguientes cruzamientos:

| <i>Variedad:</i> | <i>Cruzamientos</i> | <i>Individuo</i> | <i>n.º</i> |
|------------------|-------------------------------|------------------|------------|
| Corredera | Palomino fino × Cardinal | | 4 |
| Lola | Palomino fino × Pedro Ximénez | | 61 |
| Medina | Palomino fino × Cardinal | | 11 |
| Montera | Palomino fino × Pedro Ximénez | | 54 |
| Redora | Pedro Ximénez × Palomino fino | | 17 |

Las variedades Lola, Montera y Redora, proceden de los cruces realizados a partir de 1943 por González de Bobadilla. La Corredera y la Medina son nuevas obtenciones procedentes de cruces realizados en 1971 y 1972 por García de Luján.

Método ampelográfico

La ampelografía se ha realizado siguiendo el método del "Código de los caracteres descriptivos de las variedades y especies de *Vitis*" (1983) de la O.I.V., en el que se describen 128 caracteres de cada variedad.

En esta comunicación se ha utilizado la lista mínima para el establecimiento de colecciones de genes que consta de 21 caracteres. Los más significativos son: pámpano joven, hoja adulta, sarmiento, inflorescencia, racimo y baya.

Caracterización agronómica

Las fechas que se señalan se refieren al momento en que, aproximadamente, la mi-

tad de los órganos controlados (yemas, flores, bayas, etc.) han cumplido el estado fisiológico correspondiente.

Las sensibilidades a enfermedades criptogámicas se han valorado según apreciaciones externas en la propia colección. Hay que tener en cuenta que estas variedades han sido tratadas con los productos fitosanitarios oportunos para prevenir su infección. Por tanto, las notaciones que se señalan (muy baja, baja...) respecto al oidio, mildiu y podredumbre del racimo, hay que considerarlas en esas circunstancias. La sensibilidad a la clorosis férrica se ha valorado por el grado de ausencia de pigmentación verde en la hoja según un baremo preestablecido.

El vigor se ha determinado según el mayor o menor potencial vegetativo observado, contrastado con variedades patrón.

Las producciones de uva y leña se han controlado mediante pesada con romana.

El grado Baumé se ha evaluado por areometría a 15 °C.

La acidez total se ha determinado mediante volumetría con NaOH 0'1 hasta pH = 7.

RESULTADOS

Para las nuevas variedades, ordenadas alfabéticamente, se incluye:

a) La caracterización ampelográfica (Tabla I), en la que se describen 21 caracteres, referidos a pámpano joven, hoja adulta, sarmiento, inflorescencia, racimo y baya.

b) La caracterización agronómica (Tabla II), en la que se señalan las fechas medias de los principales estados fenológicos, las sensibilidades al mildiu, oidio, podredumbre del racimo y clorosis, el vigor, las producciones medias de uva y de leña, el grado Baumé y la acidez total del mosto, de acuerdo con datos de "Características de nuevas variedades de vid obtenidas por hibridación" III Jornadas Universitarias sobre el Jerez, (García de Luján, A.; Morales, M.; Garrido A. y Lara, M.), actualizados.

c) Los datos de la variedad Palomino fino, ya que todas las nuevas obtenciones tienen a esta variedad como unos de los progenitores y sirve de referencia en las consideraciones de los resultados.

d) Una representación gráfica, de los resultados obtenidos de la producción de uva/cepa y del grado Baumé.

Tabla I Caracterización ampelográfica

| CODIGO O.I.V. | CARACTERES | VARIEDADES | | | | | |
|------------------|--|------------|------|--------|---------|--------|----------|
| | | CORREDERA | LOLA | MEDINA | MONTERA | REDORA | PALOMINO |
| 001 | Pámpano joven: forma de la extremidad. (3, cerrada/ 5, semi-abierta/7, abierta.) | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 |
| 003 | Pámpano joven: intensidad de la pigmentación antocianica de la extremidad. (1, nula o muy débil/ 3, débil/5, media/7, fuerte/9, muy fuerte.) | 1 | 3 | 3 | 3 | 1 | 5 |
| 004 | Pámpano joven: densidad de los pelos tumbados de la extremidad. (1, nula o muy baja/3, baja/5, media/7, alta/9, muy alta.) | 5 | 5 | 5 | 3 | 3 | 5 |
| 011 | Pámpano: densidad de los pelos erquidos de los nudos. (1, nula o muy baja/3, baja/5, media/7, alta/9; muy alta.) | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 016 | Zarcillo: distribución sobre el pámpano. (1, discontinua (2 o menos)/2, subcontinua o continua (3 ó más).) | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 065 | Hoja adulta: tamaño del limbo. (1, muy pequeño/ 3, pequeño/5, mediano/7, grande/9, muy grande.) | 7 | 5 | 7 | 3 | 5 | 7 |
| 068 | Hoja adulta: número de lóbulos. (1, hoja entera/ 2, tres/3, cinco/4, siete/5, más de siete.) | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| 076 | Hoja adulta: forma de los dientes. (1, de lados cóncavos/2, de lados rectilíneos/3, de lados convexos/4, un lado cóncavo y otro convexo) | 3 | 3 | 3 | 2 | 3 | 3 |
| 079 | Hoja adulta: forma del seno peciolar. (1, muy ampliamente abierto/2, muy abierto/3, abierto/4, poco abierto/5, cerrado/6, con lóbulos ligeramente superpuestos/7, lóbulos superpuestos/8, lóbulos muy superpuestos.) | 7 | 3 | 4 | 2 | 4 | 4 |
| 084 | Hoja adulta: densidad de los pelos tumbados sobre los nervios (envés). (1, nula o muy nula/3, baja/5, media/7, alta/9, muy alta.) | 5 | 1 | 3 | 1 | 1 | 5 |
| 085 | Hoja adulta: densidad de los pelos erquidos entre los nervios (envés). (1, nula o muy baja/3, baja/5, media/7, alta/9, muy alta.) | 3 | 7 | 3 | 3 | 5 | 5 |

Tabla I (cont.) Caracterización ampelográfica

| CODIGO O.I.V. | CARACTERES | VARIEDADES | | | | | |
|------------------|--|------------|------|--------|---------|--------|----------|
| | | CORREDERA | LOLA | MEDINA | MONTERA | REDORA | PALOMINO |
| 151 | Inflorescencia: sexo de la flor. (1, masculina/2, masculina a hermafrodita/3, hermafrodita/4, femenina con estambres erguidos/5, femenina con estambres reflejos.) | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| 202 | Racimo: tamaño. (1, muy pequeño/3, pequeño/5, mediano/7, grande/9, muy grande.) | 7 | 9 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| 206 | Racimo: longitud del pedúnculo. (1, muy corto/3, corto/5, mediano/7, largo/9, muy largo.) | 3/5 | 3 | 3 | 5 | 5 | 1 |
| 220 | Baya: tamaño. (1, muy pequeña/3, pequeña/5, mediana/7, grande/9, muy grande.) | 5 | 5 | 5/7 | 5 | 5 | 5 |
| 223 | Baya: forma. (1, aplastada/2, ligeramente aplastada/3, esférica/4, elíptica corta/5, ovoide/6, troncovoide/7, acuminada/8, cilíndrica/9, elíptica larga/10, arqueada.) | 2/3 | 4 | 3/4 | 4 | 3 | 2 |
| 225 | Baya: color de la epidermis. (1, verde-amarilla/2, rosa/3, roja/4, roja-gris/5, roja-violeta-oscuro/6, azul-negra/7, roja-negra.) | 1 | 1 | 4 | 1 | 1 | 1 |
| 230 | Baya: coloración de la pulpa. (1, no coloreada/2, coloreada.) | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 236 | Baya: sabores particulares. (1, ninguno/2, gusto a moscatel/3, gusto foxé/4, gusto especial.) | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 241 | Baya: presencia de pepitas. (1, ausente/2, rudimentarias/3, presente.) | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| 244 | Baya: estrias transversales en la cara dorsal de las pepitas. (1, ausentes/2, presentes.) | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| | | | | | | | |

Gráfico 1. Relación entre el grado Baumé y la producción de uva/cepa para las variedades estudiadas

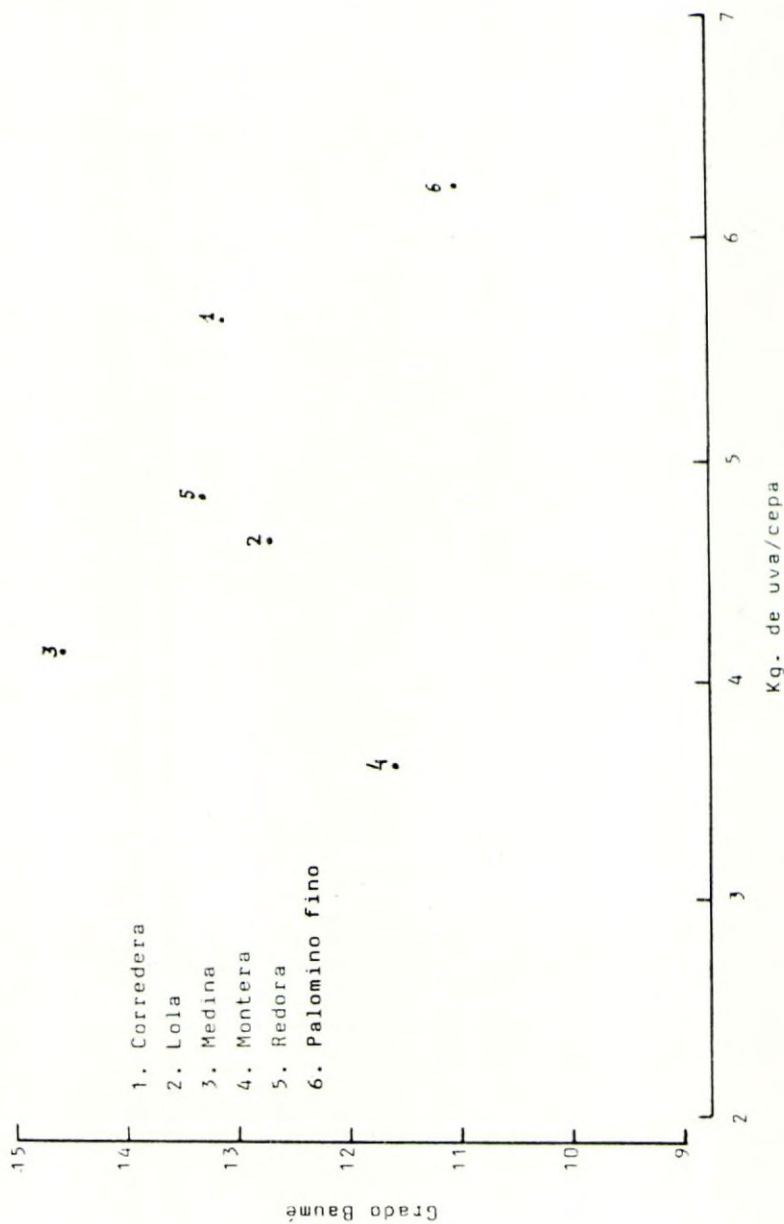


Tabla II Caracterización agronómica

| OBSERVACION | CORREDERA | LOLA | MEDINA | MONTERA | REDORA | PND. FINO |
|--|-----------|----------|----------|----------|----------|-----------|
| Fecha de brotación | 16/3 | 18/3 | 18/3 | 6/3 | 21/3 | 24/3 |
| Fecha de floración | 15/5 | 17/5 | 19/5 | 21/5 | 23/5 | 23/5 |
| Fecha de enero | 10/7 | 15/7 | 7/7 | 21/7 | 20/7 | 16/7 |
| Fecha de parada del crecimiento | 22/7 | 19/7 | 1/8 | 21/7 | 3/8 | 31/7 |
| Fecha de caída de la hoja | 16/11 | 15/11 | 18/11 | 14/11 | 7/11 | 24/11 |
| Vigor | Muy alto | Alto | Muy alto | Alto | Alto | Alto |
| Sensibilidad al mildiu | Baja | Baja | Baja | Baja | Baja | Baja |
| Sensibilidad al oidio | Baja | Muy baja | Baja | Muy baja | Muy baja | Baja |
| Sensibilidad a la podredumbre del racimo | Muy baja | Muy baja | Muy baja | Muy baja | Muy baja | Muy baja |
| Sensibilidad a la clorosis | Muy baja | Muy baja | Muy baja | Muy baja | Baja | Baja |
| Fecha de vendimia | 12/9 | 11/9 | 7/9 | 15/9 | 12/9 | 14/9 |
| Producción de uva (Kg/cepa) | 5'6 | 4'6 | 4'1 | 3'6 | 4'8 | 6'2 |
| Grado Baumé a 15 °C | 13'1 | 12'7 | 14'6 | 11'6 | 13'3 | 11'0 |
| Acidez total (g/L de H ₂) | 4'25 | 4'11 | 4'86 | 3'90 | 4'19 | 4'0 |
| Producción de leña (Kg/cepa) | 0'74 | 0'52 | 0'90 | 0'53 | 0'53 | 0'77 |

CONSIDERACIONES SOBRE LOS RESULTADOS

En diversos caracteres que se señalan en este trabajo, no se observan diferencias sensibles entre las variedades estudiadas, desde el punto de vista ampelográfico. No obstante, en otras, cabe señalar variaciones significativas.

Todas las variedades presentan menor intensidad de pigmentación antociánica de la extremidad que la Palomino fino.

Respecto a la hoja adulta, la de la Montera tiene un tamaño inferior al resto, el seno peciolar de la Corredera presenta los lóbulos superpuestos, mientras que las demás lo tienen poco abierto.

La variedad Lola presenta un racimo muy grande, la Corredera grande, y el de la Palomino fino, Montera, Medina y Redora es de tamaño mediano.

Todas las variedades estudiadas presentan mayor longitud del pedúnculo del racimo que la Palomino fino, carácter positivo ya que facilita la vendimia.

El color de la epidermis de la baya de la Medina procedente del cruce Palomino fino (blanca) x Cardinal (roja) es rojo-gris, mientras que el de la Corredera, que procede del mismo cruce, es verde-amarillo.

Entre las fechas determinadas para los estados fenológicos, destaca la Montera por su brotación temprana.

Todas las variedades estudiadas tienen menor producción de uva y mayor graduación Baumé que la Palomino fino, siendo este último el objetivo de las hibridaciones programadas. Por otra parte, las variedades Corredera, Lola, Medina y Redora superan a la Palomino fino en acidez total.

BIBLIOGRAFIA

- GARCIA DE LUJAN, A.; MORALES, M.; GARRIDO, A. y LARA, 1984. "Caracterización de nuevas variedades de vid obtenidas por hibridación". III Jornadas Universitarias sobre el Jerez. Cádiz.
- HIDALGO, L., 1980. "Caracterización macrofísica del ecosistema medioplanta en los viñedos españoles". Comunic. I.N.I.A. Serie Prod. Veg. 29.
- O.I.V., 1983. "Código de los caracteres descriptivos de las variedades y especies de Vitis". París.

DISTRIBUCION DE PESOS MOLECULARES DE LAS PROTEINAS EXTRAIDAS DE LA SEMILLA Y EL HOLLEJO DE LA UVA PALOMINO

**J.M. IGARTUBURU, G.M. MASSANET, J.A. MONTIEL,
E. PANDO y F. RODRIGUEZ LUIS**

Departamento de Química Orgánica

Facultad de Ciencias

Universidad de Cádiz

Apartado 40. 11510 Puerto Real. Cádiz

RESUMEN

Se ha realizado el estudio por cromatografía de gel-filtración de la distribución de pesos moleculares extraídas de la semilla y del hollejo de la uva *Palomino* (*Vitis vinifera*, var. *Palomino*) que es la variedad más extendida en el marco del Jerez.

INTRODUCCION

Las predicciones para el año 2.000 indican que será necesario producir diariamente 164 g de proteínas "per capita", 112 g de los cuales serán destinados al consumo animal. Esta predicción puede verse incrementada hasta 370 g en los países desarrollados (1). Debido a esto se están estudiando las semillas oleaginosas como fuentes potenciales de proteínas que puedan ser utilizadas de acuerdo con la demanda de proteínas, tanto en cantidad, como en variedad. En este aspecto, hay que tomar en consideración la posible importancia del principal subproducto de la industria vitivinícola, el orujo de uva, como fuente potencial de proteínas. Dado que Europa produce cerca del 60% de las uvas del mundo y que el contenido en proteínas de las semillas de uva, principal constituyen del orujo, ronda en torno al 10%.

La presente comunicación muestra el estudio de la distribución de pesos moleculares de las proteínas extraídas con distintas soluciones de la semilla y del hollejo de la uva

Palomino, aplicando la técnica de cromatografía de gel filtración.

Esta técnica es un método de separación de sustancias en función de su tamaño, es decir, de su peso molecular, al hacerlas pasar en disolución a través de un lecho de gel poroso.

Las partículas que constituyen el gel forman una red tridimensional de manera que los diversos solutos penetran en los poros de dichas partículas en mayor o menor medida según su tamaño. En definitiva, las moléculas cuyo tamaño supera las dimensiones de los poros y no penetran en los mismos son eluidas directamente en un volumen de eluyente que corresponde al "volumen muerto" de la columna. Las restantes moléculas son eluidas a continuación en orden decreciente de pesos moleculares. Por debajo de un determinado valor de peso molecular los geles o tamices moleculares, como también se les conoce, pierden su poder de separación y todas las moléculas se eluyen al mismo tiempo (2,3).

MATERIALES Y METODOS

Se ha determinado la distribución de pesos moleculares de las proteínas extraídas de la semilla y el hollejo de la uva **Palomino** con ocho soluciones diferentes: agua desionizada, NaCl 0,05 N, tampón fosfato de Sörensen (pH 7,0), tampón tris-NaCl 0,1 N (pH 8,3), NaOH 0,1 N, 0,1% de dodecilsulfato sódico (DoNa SO₄) en agua desionizada, tampón fosfato (pH 7,0) y en tampón tris-HCl 0,1 N (pH 8,3).

El procedimiento seguido se muestra en la figura I y se detalla a continuación (4): 1 g de muestra (semilla desgrasada o piel) se extrae con 500 ml de la disolución correspondiente durante dos horas, a temperatura ambiente y con agitación continua.

Tras filtrar, se ajusta el pH de la disolución proteínica a 4,5 con objeto de precipitar las proteínas extraídas. Dejamos reposar algunas horas y se centrifuga la disolución a 19.000 rpm durante una hora, a la temperatura de 2 °C. Después de decantar el sobrenadante, mantenemos el precipitado en un desecador a presión reducida para eliminar la humedad. Una vez seco se redisuelve en 2 ml del mismo agente extractante, con agitación continua durante 3 horas, a temperatura ambiente, excepto cuando se trata de solución de hidróxido sódico 0,1 N, en cuyo caso se utiliza tampón fosfato de Sörensen de pH 7,0. Los 2 ml de muestra se filtran a través de una membrana Millipore RAWP04700 de 1,2 μ y se aplican a la columna.

La columna utilizada es una columna de 40 cm \times 2,5 cm de diámetro interno empaquetada con Bio-gel A-0,5, un gel de agarosa, equilibrado con tampón fosfato (pH 7,0) y eluidas con el mismo tampón a un flujo de 0,98 ml/min, a temperatura ambiente y recogiendo fracciones de 5 ml. El patrón de elución de las proteínas se elaboró midiendo la absorbancia del eluato a 280 nm en un espectrofotómetro Shimadzu MPS-2000. Para obtener la medida cuantitativa de la cantidad de proteínas de cada fracción de pesos moleculares se aplica el método Folin-Lowry a las fracciones obtenidas (5,6).

La columna se calibra con proteínas de pesos moleculares conocidos (tyroglobulina) 670000; gammaglobulina, 158000; ovoalbúmina, 44000; mioglobina, 17000; y vitamina B-12, 1370) que constituyen la muestra estándar de proteínas para gel-filtración de la casa Bio-Rad (N.º 151-1901).

RESULTADOS Y DISCUSION

En la tabla 1 se resume la distribución de pesos moleculares de las proteínas de la semilla de uva **Palomino**. Las proteínas extraídas en agua desionizada muestran diez fracciones de pesos moleculares, dos de las cuales son las mayoritarias, teniendo pesos moleculares de 10000 y 359000 daltons, las cantidades relativas de estas fracciones son 31,2 y 16,9% respectivamente.

La distribución de pesos moleculares de las proteínas extraídas con NaCl 0,05 M es muy similar a la que presentan las proteínas extraídas con tampón fosfato y sólo se diferencian de estas últimas en las fracciones de pesos moleculares más bajos. Así, hay una mayor proporción de proteínas que poseen pesos moleculares inferiores a 10000 (33,8). Las proteínas extraídas con tampón tris-HCl 0,1 N (pH 8,3) tienen pesos moleculares ligeramente superiores, distribuidos en siete fracciones.

Las proteínas extraídas con NaOH 0,1 tienen pesos moleculares muy bajos, esto puede ser debido a hidrólisis parcial de las mismas como resultado del elevado valor de pH. De hecho, sólo se separan tres fracciones que presentan los siguientes pesos moleculares: 22600, 14800 e inferior a 10000 con una proporción del 63,2%.

Como ocurría con las proteínas extraídas con agua desionizada, se obtiene una amplia distribución de pesos moleculares al añadir un 0,1% de DoNaSO₄, distribuidas en 10 fracciones diferentes, siendo la fracción de más alto peso molecular de este grupo la de 445000, con una proporción relativa del 8,0%. Se obtienen distribuciones de pesos moleculares muy similares para las proteínas extraídas con tampón fosfato (pH 7,0) con un 0,1% de DoNaSO₄ y con tampón tris-HCl 0,1 N (pH 8,3) con un 0,1% de DoNaSO₄, respectivamente, con sólo tres fracciones, siendo la última de ellas (la de peso molecular inferior a 10000) la más abundante.

La distribución de pesos moleculares de las proteínas extraídas del hollejo de la uva **Palomino** se muestra en la tabla 2. En las proteínas extraídas con agua desionizada se obtienen ocho fracciones, con una gran diversidad en sus correspondientes valores medios de sus pesos moleculares. Algo similar a lo que ocurría con las proteínas de semilla, si bien ahora los pesos moleculares resultan ser inferiores. Las proteínas extraídas con NaCl 0,05 M muestran una distribución muy parecida.

Una distribución parecida existe para las proteínas extraídas con tampón fosfato de Sørensen (pH 7,0), la fracción más abundante es la de menor peso molecular, con un 23,5%. Muy similar a esta es la distribución que presentan las proteínas extraídas del hollejo con tampón tris-HCl 0,1 N (pH 8,3). En ambos casos aparece una fracción de peso molecular muy elevado: 445000, con una abundancia relativa prácticamente idéntica. La diferencia más ostensible es la aparición de una fracción de peso molecular medio 190000, que no se aprecia en las proteínas extraídas con tampón fosfato y que sin embargo sí aparece en el extracto con agua desionizada.

Las proteínas extraídas con solución de NaOH 0,1 N presentan pesos moleculares muy bajos. Igual que ocurría en el caso de la semilla, existen tres fracciones de proteínas con los mismos pesos moleculares medios, 22600, 14800 y menor de 10000, respectivamente, existiendo además una coincidencia casi total de sus proporciones relativas. Esta similitud se repite para las proteínas extraídas con disolución tampón fosfato de Søren-

sen (pH 7,0) y disolución tampón tris-HCL 0,1 N (pH 8,3) a las que se ha añadido un 0,1% de DoNaSO₄.

La extracción de proteínas del hollejo con agua desionizada y un 0,1% de DoNaSO₄ proporciona una distribución de pesos moleculares totalmente paralela a la obtenida en la extracción con agua desionizada únicamente.

Los datos obtenidos indican que las proteínas de más alto peso molecular se extraen en agua desionizada y disoluciones de tensiactivos, probablemente debido a que los otros disolventes reducen en parte la extractabilidad de las proteínas.

BIBLIOGRAFIA

1. NICOLAS, F.; *Rev. Franç. Corps Gras.*, 26, 75 (1976).
2. PORATH, J.; *Nature*; 218; 834 (1968).
3. PORATH, J.; FOLDIN, P.; *Nature*; 183; 1675 (1959).
4. KABIRULLAH, M.; WILLS, R.; *J. Agric. Food Ghem.*; 31; 953 (1983).
5. CONWGILL, R.; PARDEE, A.; "Técnicas de Investigación Bioquímica". Alhambra. Madrid (1964).
6. PONS, G.; GUIRAUD, J.; GALZY, A.; *Rev. des Fermentations et des Industries Alimentaires*; 30; 91 (1975).

TABLA 1

Distribución de pesos moleculares de
las proteínas de la semilla de uva Palomino

=====

| <u>Peso</u> <u>molecular</u> | <u>Cantidad relativa (%)</u> | | | | | | | |
|---------------------------------|------------------------------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| | <u>A</u> | <u>B</u> | <u>C</u> | <u>D</u> | <u>E</u> | <u>F</u> | <u>G</u> | <u>H</u> |
| 445000 | | | | | | 8,0 | | |
| 359000 | 16,9 | | | | | | 15,2 | 29,4 |
| 290000 | | | | | | 7,9 | | |
| 235000 | 8,0 | | | 6,0 | | | 18,3 | |
| 198000 | | | | | | | | 12,9 |
| 190000 | | 30,0 | 20,4 | | | 8,2 | | |
| 154000 | 8,5 | | | | | | | |
| 124000 | | | | 7,6 | | 7,6 | | |
| 100000 | 10,7 | | | | | | | |
| 78000 | | | | | | 11,9 | | |
| 74500 | | | | 7,1 | | | | |
| 65500 | | 10,3 | 13,6 | | | | | |
| 53000 | 7,7 | | | | | | | |
| 45300 | | | | 7,0 | | | | |
| 42700 | | | | | | 7,4 | | |
| 34900 | | 9,6 | | | | | | |
| 34600 | 9,2 | | 11,6 | | | | | |
| 27900 | | | | | | 6,7 | | |
| 22600 | 8,7 | | | | 17,8 | | | |
| 20300 | | | 12,8 | | | | | |
| 18200 | | | | 32,6 | | 7,3 | | |
| 14800 | 10,2 | | | | 18,7 | | | |
| 14700 | | 20,2 | | | | | | |
| 11900 | | | 7,8 | | | 7,0 | | |
| 10000 | 11,2 | 12,3 | | | | | | |
| 10000 | 31,2 | 17,6 | 33,8 | 39,7 | 63,5 | 28,1 | 66,5 | 57,7 |

Solventes: A.- Agua desionizada; B.- Tampón fosfato (pH 7,0);
C.- 0.05 N NaCl; D.- Tampón tris-HCl 0,1 N (pH 8,3);
E.- 0.1 N NaOH; F.- 0.1% DoNaSO₄ en agua desio-
nizada; G.- 0.1% DoNaSO₄ tampón fosfato (pH 7,0)
H.- 0.1% DoNaSO₄ tampón tris-HCl 0,1 N (pH 8,3).

TABLA 2

Distribución de pesos moleculares de
las proteínas del hollejo de uva Palomino

=====

| <u>Peso</u> <u>molecular</u> | <u>Cantidad relativa (%)</u> | | | | | | | |
|---------------------------------|------------------------------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| | <u>A</u> | <u>B</u> | <u>C</u> | <u>D</u> | <u>E</u> | <u>F</u> | <u>G</u> | <u>H</u> |
| 445000 | | 6,1 | | 6,2 | | | 17,3 | |
| 384000 | | | | | | | | 12,8 |
| 290000 | 8,1 | 12,3 | 10,0 | | | 5,5 | | |
| 267000 | | | | 6,6 | | | | |
| 236000 | | | | | | | 20,4 | |
| 211000 | | | | | | | | 17,2 |
| 190000 | 5,9 | | | 6,9 | | 6,7 | | |
| 141000 | | | 8,6 | | | | | |
| 124000 | 6,2 | 11,9 | | 6,4 | | | | |
| 100000 | | | 11,3 | | | 7,7 | | |
| 81000 | | 5,2 | | | | | | |
| 76000 | | | | 8,5 | | | | |
| 65500 | 9,5 | | | | | 12,2 | | |
| 53000 | | 9,2 | 7,1 | | | | | |
| 49700 | | | | 8,0 | | | | |
| 34600 | 11,1 | | 7,5 | | | | | |
| 27900 | | 9,6 | | 6,8 | | 11,1 | | |
| 22600 | | | 7,0 | | 17,7 | | | |
| 18200 | | | | 5,4 | | 13,7 | | |
| 16400 | | 12,1 | | | | | | |
| 14800 | 11,7 | | 7,8 | | 18,7 | | | |
| 11900 | | | | 9,5 | | | | |
| 10000 | 7,8 | 10,0 | 7,3 | | | 13,3 | | 17,2 |
| 10000 | 39,7 | 23,5 | 31,4 | 35,6 | 63,6 | 29,8 | 79,6 | 52,8 |

Solventes: A.- Agua desionizada; B.- Tampón fosfato (pH 7,0);
 C.- 0.05 N NaCl; D.- Tampón tris-HCl 0,1 N (pH 8,3);
 E.- 0.1 N NaOH; F.- 0.1% DoNaSO₄ en agua desio-
 nizada; G.- 0.1% DoNaSO₄ tampón fosfato (pH 7,0)
 H.- 0.1% DoNaSO₄ tampón tris-HCl 0,1 N (pH 8,3).



FIGURA I

Determinación de los pesos moleculares de las proteínas de semilla y hollejo de uva Palomino por Cromatografía de Filtración por Gel.

COMPOSICION EN AMINOACIDOS DE LAS PROTEINAS DE LA SEMILLA Y EL HOLLEJO DE LA UVA PALOMINO

J.M. IGARTUBURU, G.M. MASSANET, J.A. MONTIEL,
E. PANDO y F. RODRIGUEZ LUIS

Departamento de Química Orgánica.

Facultad de Ciencias.
Universidad de Cádiz.

Apartado 40. 11510. Puerto Real. Cádiz

RESUMEN

Se ha realizado el estudio de la composición en aminoácidos de las proteínas extraídas de la semilla y el hollejo de la uva **Palomino** (*Vitis vinifera*, var. Palomino), encontrándose, como aminoácidos más abundante, en ambos materiales al ácido glutámico. Los aminoácidos limitantes son la lisina, el triptófano y los aminoácidos sulfurados, en el caso de las proteínas de semilla, mientras que para las del hollejo los aminoácidos limitantes fueron sólo los sulfurados y el triptófano.

INTRODUCCION

El actual crecimiento de la población y las predicciones de producción de alimentos en el mundo han puesto de manifiesto la necesidad de buscar nuevas fuentes de proteínas para la nutrición humana. Debido a ello se han empezado a estudiar como fuentes de proteínas y otros componentes alimenticios algunos subproductos derivados de las industrias agroalimentarias que en la actualidad están subexplotados (1).

Nuestro país es uno de los principales productores mundiales del vino. Debido a que esta importante producción no es absorbida por el mercado, en la actualidad existe una producción excedentaria de alcoholes vínicos al tiempo que hay una serie de subproductos como el orujo y las lías o heces del vino, ricas en ácidos grasos y proteínas.

que están insuficientemente explotados, pues su aprovechamiento principal, es precisamente la obtención de alcohol vínico. Por ello nuestro Departamento ha abordado el estudio del orujo de la uva **Palomino**, la más extendida en el marco de Jerez con vistas a su posible revalorización.

La presente comunicación presenta el estudio de la composición en aminoácidos de las proteínas extraídas de los dos componentes principales del mismo: la semilla y el hollejo de la uva **Palomino**.

MATERIALES Y METODOS

– Extracción de las proteínas:

Se han empleado dos procedimientos alternativos.

Procedimiento A: Muestras de 500 mg de hollejo molido o de semilla desgrasada se tratan con 500 ml de extractante durante dos horas, a temperatura ambiente y con agitación continua. Los extractantes son: agua desionizada, disolución de NaCl 0,05 M, tampón fosfato de Sörensen de pH= 7,0, tampón tris-HCL de pH= 8,3 y disolución 0,1 N de NaOH.

Tras separar el extracto se fija el pH al de su punto isoeléctrico al objeto de precipitar las proteínas y la suspensión se filtra a través de una membrana Millipore RAWP04700 de 1,2 μ m. El precipitado proteínico se redisuelve en 250 ml. de agua desionizada a temperatura ambiente, con agitación continua, durante dos horas. La concentración en proteínas de la disolución resultante se mide por el método Folin-Lowry (2,3).

Procedimiento B: Muestras de aproximadamente 30 g de semilla desgrasada y de 20 g de hollejo molido se extraen respectivamente con 2 y 1 l de extractante. Los extractantes utilizados son los mismos que en el procedimiento anterior.

Tras separar el extracto se precipitan las proteínas llevando la disolución al pH de su punto isoeléctrico y la suspensión se centrifuga en una centrifugadora Beckman J-20 provista de un rotor JA-14 a 10.000 rpm, a 2 °C, durante media hora. El sólido resultante se lava con acetona, se seca en un desecador a vacío y su contenido en proteínas se mide por el método Kjeldahl (4).

– Hidrólisis de las proteínas:

Se emplean tres métodos de hidrólisis para la preparación de las muestras de proteínas purificadas obtenidas para el análisis de aminoácidos.

Método 1: Entre 5 y 15 mg de material proteico se disponen en el fondo de un matraz esférico de 25 ml junto con 3 ml de solución 6 N de ácido clorhídrico que contiene un 1% de fenol. La hidrólisis se realiza a 110 °C, en atmósfera de nitrógeno y durante 24 horas.

Tras la hidrólisis la muestra se lleva a sequedad y se trata con 2 ml de una mezcla que contiene etanol: agua: trietilamina (2:2:1) para eliminar el exceso de HCL remanente en la misma.

Método 2: La hidrólisis se realiza en las mismas condiciones que en el método anterior sustituyendo el ácido clorhídrico por 2 ml de ácido p-toluensulfónico 3 N. Tras la hidrólisis la solución resultante se neutraliza con NaOH 4 N situando su pH en un valor comprendido entre 4-5.

Método 3: Se realiza de forma similar al método 2 sustituyendo el ácido p-toluensulfónico 3 N por 1,2 ml de ácido metanosulfónico 4 N que contiene un 0,2% de triptamina (3-(2-aminoetil)indol).

– Análisis de aminoácidos:

Se emplean 2 procedimientos diferentes de separación y cuantificación de aminoácidos: El primero de ellos es el método Pico-Tag de Waters desarrollado por Bidlingmeyer y colaboradores (5) partiendo de las ideas de Heinrickson y Meredith (6) y que consiste en formar los feniltiocarbamil derivados de los aminoácidos que se separan y cuantifican por cromatografía líquida de alta resolución de fase reversa detectando los derivados en el eluato por su absorbancia a 254 nm.

El segundo procedimiento implica la separación de los aminoácidos por cromatografía de cambio iónico y la derivatización postcolumna de los aminoácidos ya separados por reacción con ninhidrina. La detección se realiza midiendo la absorbancia de la corriente efluente de la columna a dos longitudes de onda simultáneamente (570 y 410 nm). Estas experiencias se han realizado en un analizador automatizado de aminoácidos Beckman System 6300.

– Determinación de triptófano:

Muestras que contienen en torno a 30 mg de proteínas se someten a hidrólisis alcalina tratándolas con 1 ml de NaOH 5 N, a 110 °C, durante 18 horas y en atmósfera de nitrógeno. Una vez realizada la hidrólisis se diluye el hidrolizado hasta que su concentración en NaOH es 0,5 N. El triptófano se mide en esta disolución aplicando el método de Spies y Chambers (7).

RESULTADOS Y DISCUSION

La composición en aminoácidos de las proteínas de semilla y hollejo de uva **Palomino** extraídas con distintas disoluciones (agua desionizada, NaCl 0,05 M, tampón fosfato de Sørensen de pH= 7,0, tampón tris-HCL de pH= 8,3 y NaOH 0,1 N) se determinó inicialmente por cromatografía líquida de los correspondientes feniltiocarbamil derivados formados por reacción entre dichos aminoácidos y fenilisotiocianato, lo que permite detectarlos por su absorbancia en el ultravioleta (254 nm).

Como ejemplo se adjunta el cromatograma correspondiente al análisis de los aminoácidos de las proteínas extraídas de la semilla de uva **Palomino** con NaCl 0,05 M. En dicho cromatograma (figura I), así como en los obtenidos para el resto de los hidrolizados de proteínas de semilla y hollejo de uva se puede apreciar que el pico mayoritario de los mismos se corresponde con uno que aparece con el mismo tiempo de retención que la lisina y que, de ser este aminoácido, implicaría que su presencia en las proteínas de semilla de uva **Palomino** alcanza un porcentaje del 36 al 46% respecto del resto de los aminoácidos y, aún mayor, del 40 al 55% en las proteínas de hollejo.

Respecto a este último no existen antecedentes bibliográficos. Sin embargo, los datos disponibles respecto a proteínas de semillas de otras variedades de uva (8-12) discrepan notablemente con el valor encontrado por nosotros, por este método, para este aminoácido, situándose, en todos los casos en torno al 3-4%.

Vista esta discrepancia entre los valores obtenidos por nosotros y los existentes en

la Literatura cabe pensar en la posibilidad de que este pico se deba a alguna interferencia del método cromatográfico. Por ello, decidimos repetir el análisis de las muestras de proteínas extraídas de las semillas de uva, variando sólo el método de análisis y sin alterar en absoluto las etapas de extracción e hidrólisis de las proteínas.

El nuevo método elegido para el análisis de los aminoácidos procedentes de las proteínas de semilla de uva fue el clásico y bien contrastado método de análisis por cromatografía de cambio iónico con derivatización postcolumna con ninhidrina. En estos cromatogramas (figura II) también se observa un pico mayoritario situado esta vez a un tiempo de retención ligeramente inferior al de la lisina y cuya naturaleza nos es desconocida.

Este pico podría ser pues una interferencia proveniente de alguna amina primaria o secundaria presente en la muestra, o bien, vista su proporción, un artefacto introducido durante las etapas de preparación e hidrólisis de la muestra.

Para confirmar esto se varían ambos procedimientos (de preparación de muestra y de hidrólisis). Así el procedimiento de preparación de muestras se varía en la etapa de precipitación. Las proteínas que por el anterior procedimiento se recogían por filtración sobre una membrana Millipore y después se redisolvían, son ahora separadas de la disolución por centrifugación. En la etapa de hidrólisis se introducen dos nuevos reactivos, aparte del ya utilizado HCL 6 N con un 1% (v/v) de fenol. Estos reactivos son el ácido p-toluensulfónico 3 N y el ácido metanosulfónico 4 N que contiene un 0,2% de triptamina. La determinación de los aminoácidos se realiza en todos los casos por el procedimiento de cromatografía de cambio iónico seguido de derivatización con ninhidrina.

En las tablas 1, 2 y 3 se recogen los resultados del análisis de las proteínas extraídas de la semilla de uva hidrolizadas con ácido clorhídrico 6 N, ácido p-toluensulfónico 3 N y ácido metanosulfónico 4 N, respectivamente, junto con sus valores medios. En las tablas 4, 5 y 6 se encuentran los resultados obtenidos para las proteínas de hollejo en condiciones similares a las utilizadas para el análisis de las proteínas de semilla.

En ninguno de estos cromatogramas se observa la presencia del pico interferente que se apreciaba en los anteriores, de lo que se deduce que este pico era un artefacto introducido en la muestra durante las etapas de preparación de la misma.

Los resultados del análisis de los aminoácidos presentes en las proteínas de la semilla de uva **Palomino** indican que el aminoácido más abundante es el ácido glutámico cuyo contenido oscila entre un 15 y un 20%, según la muestra analizada, seguido por la tirosina y el ácido aspártico que se encuentran ambos en torno al 11%. Los menos abundantes resultan ser los aminoácidos sulfurados metionina y cistina, que junto con la lisina forman el conjunto de los aminoácidos limitantes de las proteínas de semilla de uva **Palomino**. Otros aminoácidos que se encuentran en pequeña proporción son la histidina y la alanina que están en torno al 2 y al 1% respectivamente. En los hidrolizados realizados con ácido metanosulfónico 4 N se observan trazas de ornitina, un aminoácido no proteico.

Los datos disponibles en la Bibliografía respecto a la composición en aminoácidos de otras variedades de semillas de uva se refieren en su mayor parte, a semillas de uva italianas (8-12) que presentan como aminoácidos limitantes a los aminoácidos sulfurados y a la lisina y que, por lo general, coinciden en su contenido en el resto de los aminoáci-

dos con los resultados obtenidos por nosotros para las proteínas de la semilla de uva **Palomino** siendo el aminoácido predominante en todos los casos estudiados el ácido glutámico. Este hecho está de acuerdo con que, en todos los casos, la fracción mayoritaria de las proteínas sea la que está formada por las glutelinas (13).

En los distintos extractos proteínicos del hollejo de uva **Palomino** el aminoácido más importante también resultó ser el ácido glutámico cuyo contenido oscila entre el 10 y el 15%, seguido por el ácido aspártico y la leucina (tablas 4, 5 y 6).

En lo que se refiere a los aminoácidos menos abundantes existen algunas diferencias respecto a la semilla. Los menos abundantes continúan siendo los aminoácidos sulfurados metionina y cistina. La histidina, aunque está en mayor proporción que en las proteínas de semilla (sobre el 2,5%) es el tercer aminoácido menos abundante. Otro aminoácido que se encuentra en pequeña cantidad es la prolina, a diferencia de lo que ocurría en la semilla. La alanina se encuentra en el hollejo en cantidades muy superiores a las encontradas en la semilla, sobre el 7%. Como en el caso de la semilla en alguno de los hidrolizados se observa la presencia de trazas del aminoácido no proteico ornitina.

Respecto al contenido en triptófano de las proteínas de semilla y hollejo de uva **Palomino** se ha determinado siguiendo el procedimiento desarrollado por Spies y Chambers (7) y que implica la hidrólisis de las mismas en medio básico. El procedimiento utilizado consta de tres etapas: preparación de la muestra, hidrólisis alcalina y medida del triptófano por espectrofotometría.

Los resultados de aplicar el método de Spies a la determinación del triptófano en los cinco extractos de proteínas de semilla y hollejo de uva **Palomino** se encuentran resumidos en las tablas 7 y 8 respectivamente. En ellas se observa que el contenido en triptófano de ambos materiales es muy pequeño estando torno al 0,5% en las proteínas de semilla de uva, y entre el 0,3 y el 0,9% en las proteínas del hollejo. Siendo, por tanto, uno de los aminoácidos limitantes de las proteínas de la semilla y el hollejo de uva **Palomino**, junto con los aminoácidos sulfurados.

En definitiva, la composición en aminoácidos de las proteínas de la semilla y el hollejo de uva **Palomino** es similar a la de las proteínas de los cereales y otras semillas oleaginosas por lo que, desde este punto de vista pueden emplearse en sustitución de éstos en aquellos alimentos en los que se utilizan como complemento nutritivo. Al igual que los anteriores son deficientes en los aminoácidos sulfurados, lisina y triptófano.

BIBLIOGRAFIA

1. ROSALES, F.H.; *Acta Microbiol. Hun.*; 31; 159 (1984).
2. CONWIGILL, R.; PARDEE, A.; "Técnicas de Investigación Bioquímica". Alhambra. Madrid (1964).
3. PONS, G.; GUIRAUD, J.; GALZY, A.; *Rev. des Fermentations et des Industries Alimentaries*; 30; 91 (1975).
4. "Métodos Oficiales de Análisis". Tomo I. Pags. 513-5. Madrid (1986).

5. BIDLINGMEYER, B.A.; COHEN, S.A.; TARVIN, T.C.; FROST, B.; *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*; 70 (2); 241 (1987).
6. HEINRRIKSON, R.L.; MEREDITH, S.C.; *Anal. Biochem*; 136; 65 (1984).
7. SPIES, J.R.; Chambers, D.C. *Anal. Chem.*; 21 (10); 1249 (1949).
8. FAZIO, G.; GATTUSO, A.M.; CILLUFFO, V.; ARCOLEO, G; *Riv. Soc. Ital. Sci. Aliment.*; 12; 496 (1983).
9. FANTOZZI, P.; BESTCHART, A.; *J. Am. Oil Chem. Soc.*; 56; 457-459 (1979).
10. CASTRIOTTA, G.; CANELLA, M.; *J. Agric. Food Chem.*; 26; 763-765 (1978).
11. DEFRANCESCO, F.; MARGUERI, G.; AVANCINI, D.; CASAGRANDE, S.; *Riv. Ital. Sci. Alim.*; 1; 15-21 (1975).
12. KAMEL, B.S.; DAWSON, H.; KAKUDA, Y; *J. Am. Oil Che. Soc.*; 62; 881-883 (1985).
13. MASSANET, G.M.; MONTIEL, J.A.; PANDO, E.; RODRIGUEZ LUIS, F.; *Grasas y Aceites*; 38; 81-84 (1987).



TABLA 1

Aminoácidos presentes en los hidrolizados de proteínas de semilla de uva Palomino realizados con HCl 6 N.

=====

| | <u>Abundancia relativa (%)</u> | | | | | |
|-----|--------------------------------|----------|----------|----------|----------|--------------------|
| | <u>A</u> | <u>B</u> | <u>C</u> | <u>D</u> | <u>E</u> | <u>Valor medio</u> |
| Asp | 10,78 | 10,58 | 11,11 | 9,99 | 10,17 | 12,13 |
| Glu | 17,86 | 19,59 | 19,78 | 15,15 | 17,60 | 18,02 |
| Ser | 4,73 | 5,18 | 5,36 | 5,54 | 9,19 | 6,04 |
| Gly | 6,31 | 5,93 | 5,69 | 5,84 | 6,58 | 6,07 |
| His | tr. | tr. | 1,76 | tr. | 2,02 | 1,86 |
| Arg | 7,63 | 7,53 | 7,73 | 8,21 | 6,36 | 7,41 |
| Thr | 3,27 | 4,44 | 4,61 | 3,07 | 3,36 | 3,75 |
| Ala | 1,47 | 1,43 | 1,52 | 1,50 | 1,43 | 1,51 |
| Pro | 3,19 | 3,26 | 3,68 | 2,79 | 2,91 | 3,17 |
| Tyr | 12,25 | 12,03 | 12,75 | 13,75 | 11,39 | 12,43 |
| Val | 7,30 | 6,68 | 7,19 | 7,51 | 6,87 | 7,11 |
| Met | 1,30 | tr. | 0,70 | 1,31 | tr. | 1,01 |
| Cys | tr. | tr. | 0,43 | tr. | tr. | 0,43 |
| Ile | 5,79 | 5,38 | 5,81 | 6,09 | 4,99 | 5,61 |
| Leu | 9,37 | 8,98 | 5,81 | 10,57 | 9,19 | 9,55 |
| Phe | 5,04 | 5,04 | 5,69 | 5,05 | 5,17 | 5,20 |
| Lys | 3,69 | 3,71 | 3,58 | 3,39 | 3,79 | 3,63 |

A: Proteínas extraídas con agua desionizada; B: proteínas extraídas con NaCl 0,05 N; C: proteínas extraídas con tampón fosfato de pH=7,0; D: proteínas extraídas con tampón tris-HCl de pH=8,3; E: proteínas extraídas con NaOH 0,1 N.

TABLA 2

Aminoácidos presentes en los hidrolizados de proteínas de semilla de uva Palomino realizados con ácido p-toluensulfónico 3 N.

=====

| | <u>Abundancia relativa (%)</u> | | | | | <u>Valor medio</u> |
|-----|--------------------------------|----------|----------|----------|----------|--------------------|
| | <u>A</u> | <u>B</u> | <u>C</u> | <u>D</u> | <u>E</u> | |
| Asp | 10,26 | 10,66 | 10,76 | 10,24 | 10,25 | 10,43 |
| Glu | 19,28 | 19,07 | 18,66 | 18,06 | 18,55 | 18,88 |
| Ser | 5,33 | 5,22 | 5,27 | 5,46 | 5,30 | 5,32 |
| Gly | 5,75 | 5,73 | 4,89 | 5,48 | 6,31 | 5,67 |
| His | 1,66 | 1,21 | 1,19 | 1,22 | 1,41 | 1,24 |
| Arg | 7,32 | 7,31 | 7,14 | 7,25 | 6,58 | 7,12 |
| Thr | 4,16 | 5,51 | 4,19 | 4,53 | 4,31 | 4,50 |
| Ala | 1,39 | 1,43 | 1,42 | 1,34 | 1,37 | 1,39 |
| Pro | 3,55 | 3,54 | 3,45 | 3,69 | 3,84 | 3,61 |
| Tyr | 11,43 | 12,07 | 11,81 | 11,14 | 13,10 | 11,91 |
| Val | 6,08 | 6,19 | 6,29 | 6,61 | 6,86 | 6,41 |
| Met | 0,93 | 0,90 | 0,86 | 0,67 | 0,60 | 0,79 |
| Cys | 0,54 | 0,43 | 0,50 | 0,74 | tr. | 0,55 |
| Ile | 4,95 | 4,78 | 5,12 | 5,34 | 4,95 | 5,03 |
| Leu | 8,86 | 8,57 | 9,17 | 9,24 | 9,13 | 8,99 |
| Phe | 4,95 | 5,06 | 5,14 | 5,21 | 5,05 | 5,08 |
| Lys | 3,63 | 3,69 | 3,40 | 3,06 | 2,37 | 3,21 |

A: Proteínas extraídas con agua desionizada; B: proteínas extraídas con NaCl 0,05 N; C: proteínas extraídas con tampón fosfato de pH=7,0; D: proteínas extraídas con tampón tris-HCl de pH=8,3; E: proteínas extraídas con NaOH 0,1 N.

TABLA 3

Aminoácidos presentes en los hidrolizados de proteínas de semilla de uva Palomino realizados con ácido metanosulfónico 4 N.

| ----- | | | | | | |
|--------------------------------|----------|----------|----------|----------|----------|--------------------|
| <u>Abundancia relativa (%)</u> | | | | | | |
| | <u>A</u> | <u>B</u> | <u>C</u> | <u>D</u> | <u>E</u> | <u>Valor medio</u> |
| Asp | 11,11 | 11,58 | 11,44 | 11,03 | 12,10 | 11,45 |
| Glu | 20,65 | 20,74 | 19,68 | 20,01 | 20,66 | 20,35 |
| Ser | 5,89 | 5,90 | 5,76 | 6,12 | 5,96 | 5,69 |
| Gly | 6,21 | 6,36 | 5,74 | 5,90 | 6,84 | 6,21 |
| His | tr. | tr. | 1,88 | 2,37 | tr. | 2,12 |
| Arg | 7,18 | 6,84 | 7,25 | 5,77 | 6,01 | 6,61 |
| Thr | 5,15 | 4,80 | 4,82 | 5,05 | 5,00 | 4,96 |
| Ala | 1,48 | 1,52 | 1,47 | 1,43 | 1,48 | 1,48 |
| Pro | 3,94 | 3,72 | 3,84 | 4,28 | 4,33 | 4,02 |
| Tyr | 11,27 | 11,94 | 11,65 | 11,52 | 11,76 | 11,63 |
| Val | 5,46 | 5,43 | 5,29 | 5,51 | 6,03 | 5,54 |
| Met | tr. | tr. | 0,36 | tr. | tr. | 0,36 |
| Cys | 0,55 | 0,47 | 0,55 | 0,68 | tr. | 0,56 |
| Ile | 4,33 | 4,07 | 4,19 | 4,25 | 4,14 | 4,20 |
| Leu | 8,91 | 8,63 | 8,66 | 8,62 | 8,77 | 8,72 |
| Phe | 4,76 | 4,85 | 4,58 | 4,76 | 4,54 | 4,70 |
| Lys | 3,02 | 3,14 | 2,84 | 2,68 | 1,91 | 2,72 |
| Orn | tr. | tr. | tr. | tr. | 0,45 | 0,45 |

A: Proteínas extraídas con agua desionizada; B: proteínas extraídas con NaCl 0,05 N; C: proteínas extraídas con tampón fosfato de pH=7,0; D: proteínas extraídas con tampón tris-HCl de pH=8,3; E: proteínas extraídas con NaOH 0,1 N.

TABLA 4

Aminoácidos presentes en los hidrolizados de proteínas del hollejo de uva Palomino realizados con HCl 6 N.

| ===== | | | | | | |
|--------------------------------|----------|----------|----------|----------|----------|--------------------|
| <u>Abundancia relativa (%)</u> | | | | | | |
| | <u>A</u> | <u>B</u> | <u>C</u> | <u>D</u> | <u>E</u> | <u>Valor medio</u> |
| Asp | 10,50 | 11,36 | 11,73 | 6,47 | | 9,92 |
| Glu | 10,00 | 13,87 | 13,66 | 12,22 | 12,43 | 12,44 |
| Ser | 4,98 | 4,95 | 5,09 | 5,81 | 5,73 | 5,31 |
| Gly | 6,37 | 6,57 | 6,04 | 6,24 | 5,91 | 6,23 |
| His | 2,64 | 3,48 | 2,71 | 3,10 | 2,61 | 2,91 |
| Arg | 5,54 | 5,30 | 5,13 | 6,32 | 6,39 | 5,74 |
| Thr | 5,78 | 5,55 | 5,07 | 5,45 | 5,66 | 5,30 |
| Ala | 7,66 | 6,27 | 6,29 | 7,48 | 8,57 | 7,25 |
| Pro | 3,62 | 5,09 | 3,89 | 3,84 | 3,20 | 3,93 |
| Tyr | 6,35 | 5,70 | 5,96 | 6,74 | 6,50 | 6,25 |
| Val | 8,38 | 7,10 | 6,91 | 8,16 | 8,68 | 7,58 |
| Met | tr. | tr. | 1,16 | tr. | 0,61 | 0,88 |
| Cys | tr. | tr. | tr. | tr. | tr. | tr. |
| Ile | 5,89 | 5,60 | 5,32 | 5,89 | 7,30 | 6,00 |
| Leu | 9,71 | 9,25 | 9,13 | 10,64 | 11,47 | 10,04 |
| Phe | 6,00 | 5,68 | 5,59 | 5,36 | 6,31 | 5,79 |
| Lys | 6,57 | 4,59 | 5,50 | 6,98 | 8,63 | 6,45 |
| Orn | --- | 0,44 | --- | --- | --- | 0,44 |

A: Proteínas extraídas con agua desionizada; B: proteínas extraídas con NaCl 0,05 N; C: proteínas extraídas con tampón fosfato de pH=7,0; D: proteínas extraídas con tampón tris-HCl de pH=8,3; E: proteínas extraídas con NaOH 0,1 N.

TABLA 5

Aminoácidos presentes en los hidrolizados de proteínas del hollejo de uva Palomino realizados con ácido p-toluensulfónico 3 N

| | <u>Abundancia relativa (%)</u> | | | | | <u>Valor medio</u> |
|-----|--------------------------------|----------|----------|----------|----------|--------------------|
| | <u>A</u> | <u>B</u> | <u>C</u> | <u>D</u> | <u>E</u> | |
| Asp | 9,68 | 7,98 | 8,22 | 7,27 | 8,89 | 8,41 |
| Glu | 12,55 | 13,86 | 15,21 | 13,91 | 15,20 | 14,15 |
| Ser | 5,62 | 5,31 | 5,76 | 5,76 | 5,82 | 5,65 |
| Gly | 6,65 | 5,86 | 6,37 | 6,39 | 7,13 | 6,48 |
| His | 2,47 | 2,13 | 2,04 | 2,06 | 3,36 | 2,41 |
| Arg | 4,86 | 5,14 | 5,11 | 5,76 | 4,15 | 5,00 |
| Thr | 6,10 | 7,44 | 6,80 | 6,69 | 6,50 | 6,71 |
| Ala | 7,60 | 7,96 | 7,35 | 8,83 | 6,79 | 7,71 |
| Pro | 4,45 | 4,24 | 4,26 | 4,95 | 4,96 | 4,70 |
| Tyr | 5,78 | 5,46 | 5,76 | 5,68 | 5,64 | 5,66 |
| Val | 6,40 | 6,07 | 6,70 | 6,04 | 6,16 | 6,07 |
| Met | 1,37 | 1,39 | 1,15 | 1,27 | tr. | 1,29 |
| Cys | tr. | tr. | 0,37 | 0,37 | tr. | 0,37 |
| Ile | 4,63 | 5,00 | 4,56 | 4,40 | 4,69 | 4,66 |
| Leu | 9,25 | 9,49 | 9,30 | 9,41 | 9,61 | 9,41 |
| Phe | 4,64 | 5,26 | 5,61 | 4,91 | 5,91 | 5,27 |
| Lys | 6,49 | 7,40 | 6,43 | 6,28 | 4,13 | 6,15 |
| Orn | --- | --- | tr. | tr. | tr. | tr. |

A: Proteínas extraídas con agua desionizada; B: proteínas extraídas con NaCl 0,05 N; C: proteínas extraídas con tampón fosfato de pH=7,0; D: proteínas extraídas con tampón tris-HCl de pH=8,3; E: proteínas extraídas con NaOH 0,1 N.

TABLA 6

Aminoácidos presentes en los hidrolizados de proteínas del hollejo de uva Palomino realizados con ácido metanosulfónico 4 N.

=====

| | <u>Abundancia relativa (%)</u> | | | | | <u>Valor medio</u> |
|-----|--------------------------------|----------|----------|----------|----------|--------------------|
| | <u>A</u> | <u>B</u> | <u>C</u> | <u>D</u> | <u>E</u> | |
| Asp | 7,65 | 8,17 | 7,96 | 7,13 | 8,63 | 7,89 |
| Glu | 14,66 | 14,30 | 15,81 | 14,51 | 15,44 | 14,94 |
| Ser | 6,34 | 5,17 | 6,38 | 4,50 | 4,55 | 5,39 |
| Gly | 7,56 | 6,08 | 7,98 | 7,69 | 6,91 | 7,25 |
| His | 2,34 | 2,22 | 1,88 | 1,66 | 3,36 | 2,29 |
| Arg | 5,10 | 4,37 | 4,94 | 5,04 | 4,95 | 4,88 |
| Thr | 7,49 | 8,17 | 6,79 | 5,49 | 6,39 | 6,87 |
| Ala | 7,63 | 8,17 | 7,98 | 8,12 | 6,57 | 7,69 |
| Pro | 4,74 | 3,72 | 4,41 | 4,56 | 5,17 | 4,52 |
| Tyr | 5,70 | 5,47 | 6,10 | 6,79 | 5,81 | 5,97 |
| Val | 6,48 | 6,66 | 5,90 | 7,15 | 6,39 | 6,52 |
| Met | tr. | 0,46 | 0,45 | 0,47 | tr. | 0,46 |
| Cys | tr. | 0,18 | 0,33 | tr. | tr. | 0,25 |
| Ile | 4,55 | 5,50 | 4,04 | 4,92 | 4,73 | 4,75 |
| Leu | 8,82 | 9,06 | 8,57 | 10,12 | 9,15 | 9,14 |
| Phe | 4,12 | 4,82 | 4,31 | 4,61 | 5,57 | 4,69 |
| Lys | 6,81 | 7,48 | 6,14 | 7,20 | 5,39 | 6,60 |
| Orn | tr. | tr. | tr. | tr. | tr. | tr. |

A: Proteínas extraídas con agua desionizada; B: proteínas extraídas con NaCl 0,05 N; C: proteínas extraídas con tampón fosfato de pH=7,0; D: proteínas extraídas con tampón tris-HCl de pH=8,3; E: proteínas extraídas con NaOH 0,1 N

TABLA 7

Contenido en triptófano de las proteínas
extraídas de la semilla de uva Palomino.

=====

| <u>Extractante</u> | <u>Triptófano (%)</u> |
|---|-----------------------|
| Agua desionizada | 0,46 |
| NaCL 0,05 M | 0,53 |
| Tampón fosfato de Sörensen de pH=7,0 | 0,43 |
| Tampón tris-HCl 0,1 N de pH=8,3 | 0,53 |
| NaOH 0,1 N | 0,37 |
| ----- | |
| Valor medio: | 0,46 |

TABLA 8

Contenido en triptófano de las proteínas
extraídas del hollejo de uva Palomino.

=====

| <u>Extractante</u> | <u>Triptófano (%)</u> |
|---|-----------------------|
| Agua desionizada | 0,32 |
| NaCL 0,05 M | 0,81 |
| Tampón fosfato de Sörensen de pH=7,0 | 0,44 |
| Tampón tris-HCl 0,1 N de pH=8,3 | 0,93 |
| NaOH 0,1 N | 0,56 |
| ----- | |
| Valor medio: | 0,61 |

- | | | |
|--------|---------|---------|
| 1. Asp | 7. Thr | 13. Cys |
| 2. Glu | 8. Ala | 14. Ile |
| 3. Ser | 9. Pro | 15. Leu |
| 4. Gly | 10. Tyr | 16. Phe |
| 5. His | 11. Val | 17. Lys |
| 6. Arg | 12. Met | 18. Orn |

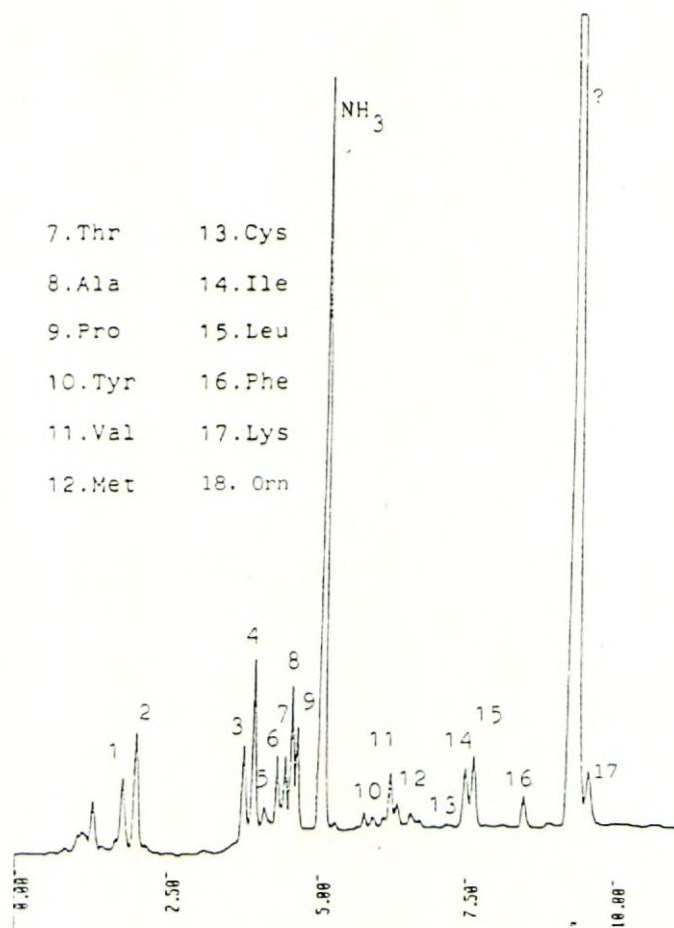


FIGURA I Cromatograma de los derivados con fenilisotiocianato de los aminoácidos correspondientes a las proteínas de semilla de uva Palomino extraídas con disolución de cloruro sódico 0,05 N.

- | | | |
|--------|---------|---------|
| 1. Asp | 2. Thr | 13. Cys |
| 2. Glu | 8. Ala | 14. Ile |
| 3. Ser | 9. Pro | 15. Leu |
| 4. Gly | 10. Tyr | 16. Phe |
| 5. His | 11. Val | 17. Lys |
| 6. Arg | 12. Met | 18. Orn |

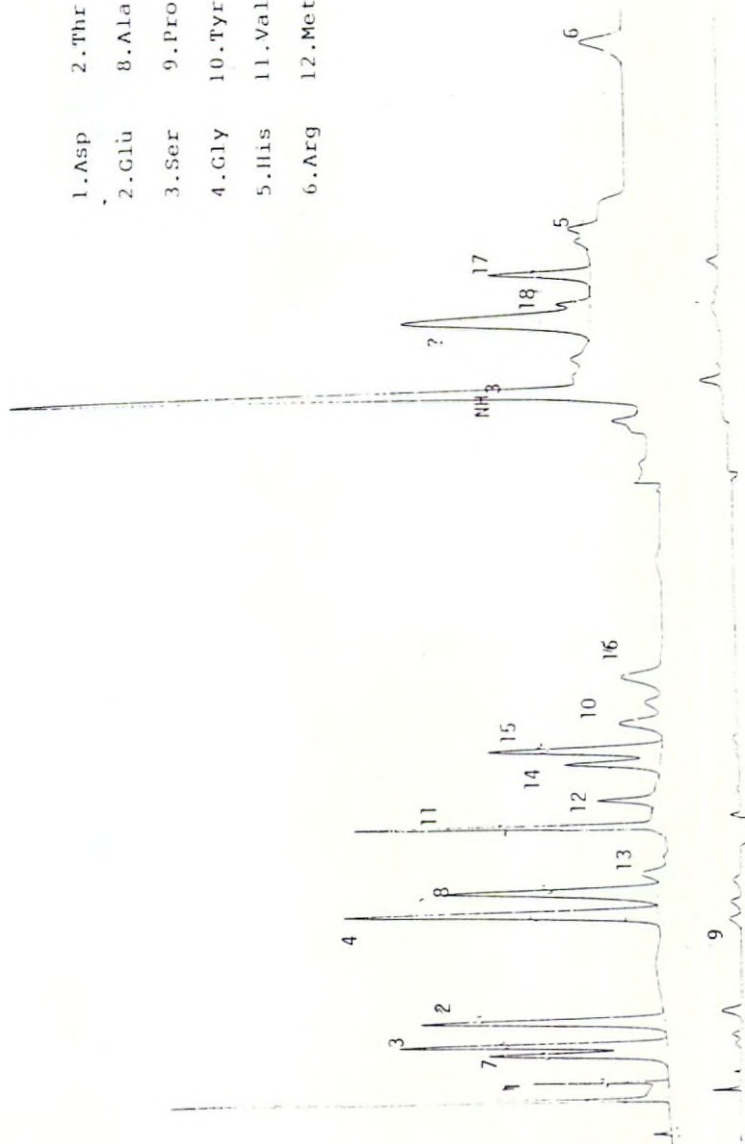


FIGURA II

Cromatograma correspondiente al análisis por cromatografía de cambio iónico de los aminoácidos pertenecientes a las proteínas extraídas de la semilla de uva Palomino con disolución tampón de pH=8,3.

LEVADURAS RESPONSABLES DE LA FERMENTACION INDUSTRIAL DE MOSTO DE JEREZ

M.J. VALCARCEL, L. PEREZ, P. GONZALEZ, B. DOMECCQ
Dpto. de Calidad e Investigación de Pedro Domencq, S.A.

RESUMEN

En este estudio se persiguen dos objetivos: primero la caracterización taxonómica de levaduras durante la fermentación industrial de mostos en Jerez y segundo la confirmación de los resultados obtenidos a escala de laboratorio a cerca del efecto que provoca el pie de cuba, la adición de sulfuroso y la corrección del pH sobre la flora fermentativa.

En sus resultados se comprueba que durante la fermentación industrial espontánea del mosto predominan en el proceso tres especies de levaduras: **Sacch. cerevisiae**, **Sacch fermentati** y **Sacch. chevalieri**, mientras que si la fermentación es dirigida mediante un pie de cuba lo hace la levadura seleccionada. Esta eficacia del pie de cuba disminuye a lo largo del período de vendimia, debido al aumento progresivo de flora indígena en el mosto. De igual forma, se confirma que existe una selección de la flora fermentativa con la sulfitación del mosto, a niveles de 100 mg/l, en favor de las especies del género **Saccharomyces**.

INTRODUCCION

En mostos de Jerez se han aislado especies de levaduras pertenecientes a los géneros: **Kloeckera**, **Candida**, **Pichia**, **Hansenula**, **Saccharomyces**, **Saccharomycodes** y **Hanseniasporas**, principalmente (1, 3). De ellos destacan, por su carácter enológico y proporción, las especies del género **Saccharomyces** y en especial **Sacch. cerevisiae**, **Sacch. chavalieri**, **Sacch. fermentati** y **Sacch. italicus**.

La mayoría de las especies de estos géneros no están presentes durante la fermentación del mosto, debido a las prácticas enológicas que se realizan en Jerez durante la vendimia. Por este motivo, durante las campañas de 1985/86 a 1987/88 se han realizado

estudios, a nivel de laboratorio, con la finalidad de conocer cómo afectan estas prácticas enológicas (corrección del pH, adición de sulfuroso y empleo del pie de cuba) sobre las levaduras fermentativas. Sus resultados fueron expuestos en dos comunicaciones durante las IV Jornadas Universitarias de Viticultura y Enología en Jerez y en una durante estas V Jornadas (4-6).

En ellos se comprobó que la adición al mosto de un pie de cuba con levaduras seleccionadas, en plena fermentación, provoca el que fuera esta especie la responsable de todo el proceso fermentativo y una disminución del tiempo de inicio de fermentación (4). La adición de sulfuroso supone una selección de la flora fermentativa: a concentraciones entre 100 y 125 mg/l predominan en el medio las especies del género **Saccharomyces** de mayor poder fermentativo, mientras que si la concentración de sulfuroso es superior a 200 mg/l se detecta la presencia del **S'codes ludwigii**, especie no deseable en mostos y vinos (5). También se comprobó que la corrección del pH no influye de forma significativa sobre las levaduras, pero sí tiene cierta incidencia sobre las bacterias al provocar en el mosto condiciones menos favorables para su desarrollo (6).

Una vez conocido el efecto individual de cada una de estas prácticas enológicas sobre la flora fermentativa se programó un estudio conjunto de las tres a nivel industrial. En sus objetivos figuraban la caracterización taxonómica de la flora fermentativa industrial y la confirmación de los resultados obtenidos a nivel de laboratorio. El estudio se realizó durante la campaña 1988/89 y sus resultados se presentan en esta comunicación.

MATERIAL Y METODOS

1. Equipos de fermentación y técnicas de aislamientos

En la bodega de fermentación se eligieron 11 fermentadores de acero inoxidable de 37.500 litros de capacidad y forma cilíndrica, que contenían cada uno de ellos 25.000 litros de mosto corregido (pH: 3,0-3,2 y SO₂:100-120 mg/l) y desfangado (24 h.). Seis de estos fermentadores fueron llenados durante la segunda semana de vendimia con mosto de 1.ª Yema, cinco de ellos con pie de cuba al 4%; los otros cinco se llenaron durante la tercera semana, también con mosto de 1.ª Yema y en esta ocasión solo tres con pie de cuba. Todos los fermentadores poseen un sistema de refrigeración por caída laminar de agua sobre la superficie lateral, lo que permite un control de la temperatura de fermentación (28°C).

El mosto de estos fermentadores se caracterizó físico-químicamente recién llenados y al final del proceso fermentativo.

Los criterios empleados para realizar los aislamientos fueron los establecidos por Castelli (7). De cada fermentador elegido se tomaron muestras de mosto, con erlenmeyer estériles de 500 ml, en tres fases del proceso fermentativo: inicio (Be mayor que 10), fermentación tumultuosa (Be: 4-7) y final de fermentación (Be:0).

De estos erlenmeyer se hicieron los aislamientos empleando la técnica de las diluciones sucesivas, las diluciones fueron filtradas a través de membranas de 0,45 µm, las cuales se colocaron en medio de cultivo YPD (ext. levadura 1%, peptona 2%, glucosa 2% y agar 2%) y se incubaron en estufa a 26-28°C durante 72 horas.

De aquellas placas que presentaban un número de colonias próximo a cien y en función de sus características culturales se aislaron las cepas. El número total de cepas aisladas fue de 330, conservándose éstas en medio MYPD (ext. levadura 0,3%, glucosa 1%, peptona 0,5%, ext. malta 0,3% y agar 2%).

2. Pruebas empleadas para identificar las cepas aisladas

En la identificación taxonómica de levaduras se empleó la clave propuesta por Lodder en 1970 (8), siendo necesario para ello realizar las siguientes pruebas:

- a) Características de las células y de las colonias.
- b) Formación de ascosporas.
- c) Fermentación y asimilación de azúcares: glucosa, galactosa, sacarosa, maltosa, lactosa y rafinosa.
- d) Asimilación de nitratos y etanol.
- e) Hidrólisis de la arbutina.
- f) Crecimiento a 37°C.

3. Levadura seleccionada

La cepa elegida para preparar el pie de cuba fue un **Saccharomyces cerevisiae** aislada en la zona del Jerez. Esta levadura se seleccionó por su alto poder fermentativo (17°GL), por las características físico-química y organoléptica del mosto fermentado y por su capacidad de formación de velo.

4. Preparación del pie de cuba.

El pié de cuba industrial se preparó en varias etapas:

Una primera a nivel de laboratorio donde se fermentaron en sucesivas fases escalonadas 2.000 litros de mosto estéril con la cepa seleccionada.

A continuación una segunda etapa en fermentadores industriales donde el mosto procedente del laboratorio, en plena fermentación, se adicionó al 4% sobre 24.000 litros de mosto corregido (pH: 3,2 y SO₂:100 mg/l) y desfangado (24 h), obtenido de una vendimia.

De estos fermentadores se fue sacando de forma programada durante la vendimia mosto en plena fermentación, que sirvió como pie de cuba para otros fermentadores y a su vez se fue rellenando con nuevo mosto. El tiempo medio de residencia del mosto en los fermentadores de pie de cuba fue de 3 a 4 días.

RESULTADOS Y DISCUSION

En la Tabla I se exponen las especies de levaduras aisladas durante la fermentación industrial espontánea o dirigida de mostos de Jerez, así como sus porcentajes de aparición, el número de aislamientos realizados en cada etapa fermentativa y la eficacia del pie de cuba.

Durante la segunda semana de vendimia la eficacia o efectividad del pie de cuba fue de un 80%, de los cinco fermentadores controlados, cuatro fermentaron teniendo como levadura mayoritaria durante todo el proceso la seleccionada como pié de cuba, **Sacch. cerevisiae**.

Además, esta especie fue aumentando su porcentaje de aparición en los cinco fer-

mentadores controlados con pie de cuba a lo largo del proceso fermentativo.

| Fermentador | Inicio fermentación | % aparición <i>Sacch. cerevisiae</i> | |
|-------------|---------------------|--------------------------------------|-----|
| | | Final fermentación | |
| 1 | 80 | | 90 |
| 2 | 40 | | 80 |
| 3 | 100 | | 100 |
| 4 | 100 | | 100 |
| 5 | 10 | | 30 |
| Media | 66 | | 80 |

Junto al *Sacch. cerevisiae* se aislaron otras dos especies del mismo género *Sacch. fermentati* y *Sacch. chevalieri*. La primera de ellas se aisló en tres de los cinco fermentadores controlados, siendo la especie mayoritaria en aquel fermentador donde el pie de cuba no fue eficaz, mientras que el *Sacch. chevalieri* sólo se aisló al final de la fermentación y en este último fermentador. Tanto el *Sacch. fermentati* como el *Sacch. chevalieri* son precursores de levaduras de flor: *Sacch. cheresiensis* y *Sacch. beticus* (2).

En esta segunda semana de vendimia también se caracterizó un fermentador que contenía mosto sin adición de pie de cuba (testigo). Su fermentación fue llevada a cabo por la flora indígena, observándose que la especie mayoritaria durante todo el proceso fue el *Sacch. fermentati*, estando acompañada de las especies *Sacch. chevalieri* y *Sacch. cerevisiae*. En este proceso el porcentaje de aparición del *Sacch. cerevisiae* fue inferior al determinado cuando existe adición de pie de cuba.

| Fermentador | Inicio fermentación | % aparición <i>Sacch. cerevisiae</i> | |
|-------------|---------------------|--------------------------------------|----|
| | | Final fermentación | |
| 6 | 10 | | 30 |

En la tercera semana de vendimia la eficacia del pie de cuba desciende a un 67%, dos de los tres fermentadores controlados tuvieron por especie mayoritaria al *Sacch. cerevisiae*.

| Fermentador | Inicio fermentación | % aparición <i>Sacch. cerevisiae</i> | |
|-------------|---------------------|--------------------------------------|----|
| | | Final fermentación | |
| 7 | 80 | | 60 |
| 8 | 60 | | 30 |
| 9 | 60 | | 70 |
| Media | 67 | | 53 |

A diferencia de lo observado durante la segunda semana los porcentajes de aparición del *Sacch. cerevisiae* disminuyeron a lo largo del proceso fermentativo, en favor de las especies *Sacch. fermentati* y *Sacch. chevalieri*. Junto a estas tres especies también se aisló durante la fermentación tumultuosa el *Sacch. rosei*, levadura de poder fermentativo medio y baja producción de acidez volátil.

Durante esta tercera semana también se caracterizaron dos fermentadores testigos que contenían mosto sin adición de pie de cuba. Su fermentación fue llevada a cabo por las levaduras indígenas, observándose que la especie mayoritaria en los dos procesos fue el *Sacch. fermentati*. Junto a esta especie también se aislaron el *Sacch. chevalieri* y *Sacch. cerevisiae* en todo el proceso y el *Sacch. rosei* en las dos primeras etapas de la fer-

mentación. En estos testigos los porcentajes a los encontrados en las experiencias de fermentación dirigida.

| Fermentador | % aparición <i>Sacch. cerevisiae</i> | |
|-------------|--------------------------------------|--------------------|
| | Inicio fermentación | Final fermentación |
| 10 | 30 | 30 |
| 11 | 20 | 30 |
| Media | 25 | 30 |

El comparar las características físico-químicas de los mostos fermentados de forma espontánea o mediante la adición de un pié de cuba se aprecia que no existen diferencias significativas (Tabla III), lo cual es lógico si se tiene en cuenta que la especie seleccionada para preparar el pié de cuba fue aislada en mostos de Jerez durante la 3.^a etapa de la fermentación alcohólica.

Sin embargo, el empleo del pié de cuba queda justificado por varias razones:

Durante los primeros días de vendimia la uva procedente del campo presenta un contenido bajo en levaduras de alto poder fermentativo, en parte debido a los tratamientos fitosanitarios que se realizan en el viñedo. Este hecho implica que existan tiempos de inicio de fermentación prolongados, los cuales pueden favorecer un desarrollo bacteriano en el medio y supone un descontrol en la programación de vendimia (conviene indicar que en algunas empresas de la zona se molturan diariamente más de un millón de kilos de uvas).

Empleando un pié de cuba se consigue:

- a) La presencia de levaduras autóctonas de alto poder fermentativo en el mosto corregido y desfogado desde comienzo de vendimia.
- b) Reducir los tiempos de inicio de fermentación.
- c) Evitar en parte un posible desarrollo de la flora bacteriana.
- d) Una racional utilización del SO₂ como antiséptico, empleando cantidades menores al disminuir los riesgos de infección.
- e) Llevar a cabo una programación y control del proceso de vinificación.

CONSIDERACIONES FINALES

De lo anteriormente expuesto se pueden sacar las siguientes consideraciones finales:

a) Se confirma a nivel industrial que la sulfitación provoca una selección de la flora administrativa en favor de las especies del género **Saccharomyces**, no aislándose especies de los géneros **Kloeckera**, **Pichia**, **Hansenula** y **Candida**, existentes en mostos de Jerez antes de corregir. Por otra parte, las concentraciones de SO₂ empleadas 100-120 mg/l permiten que la especie **S'codes ludwigii** se encuentre en muy baja proporción (no llegándose incluso a aislarse en este estudio) lo que favorece la calidad del producto.

b) Las levaduras mayoritarias en la fermentación industrial de mostos de Jerez pertenecen al género **Saccharomyces: Sacch. cerevisiae**, **Sacch. chevalieri**, **Sacch. fermentati** y **Sacch. rosei**.

c) El empleo del pié de cuba a nivel industrial es necesario y supone una disminución del tiempo de inicio de fermentación, favoreciendo el desarrollo rápido en el mosto

de las levaduras fermentativas, la reducción de la posibilidad de infección bacteriana y el poder llevar a cabo una programación, tratamiento y control durante la vendimia.

d) La eficacia o efectividad del pié de cuba a nivel industrial disminuye a lo largo de la vendimia. Esto se debe a un aumento de la proliferación de la flora indígena en el mosto con el transcurso de la vendimia, lo que supone una mayor y continua aportación de esta flora a los fermentadores utilizados como pié de cuba.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. ZAJARA, J.- "Contribución al estudio de las levaduras del Jerez" Tesis Doctoral, Universidad de Madrid (1957).
2. IÑIGO, B.; VAZQUEZ, D.; ARROYO, V.- "Los agentes de la fermentación vínica en la zona de Jerez" Rev. Cienc. Aplic., 93, 296-305 (1963).
3. GARCIA, E.- "Evolución de levaduras durante la fermentación alcohólica en Jerez" Actas II Jornadas Universitarias sobre el Jerez, Cádiz, 1982.
4. VALCARCEL, M.J.; PEREZ, L.; GONZÁLEZ, P.; DOMEQ, B.- "Efecto del pie de cuba sobre la fermentación dirigida en la zona del Jerez" Actas IV Jornadas Universitarias de Viticultura y Enología en Jerez, Cádiz, 1987.
5. VALCARCEL, M.J.; PEREZ, L.; GONZALEZ, P.; DOMEQ, B.- "Efecto de la sulfitación sobre las levaduras responsables de la fermentación en la zona del Jerez" Actas IV Jornadas Universitarias de Viticultura y Enología en Jerez, Cádiz, 1987.
6. VALCARCEL, M.J.; PEREZ, L.; GONZALEZ, P.; DOMEQ, B.- "Efecto de la modificación del pH mediante la corrección de la acidez sobre la flora fermentativa en la zona del Jerez" Actas V Jornadas de Viticultura y Enología en Jerez, Jerez, 1989.
7. CASTELLI, T.- Actas VI Cong. Internacional de Microbiología, Roma, 1953.
8. LODDER y KREGER-VAN-RIJ.- "The Yeasts: A Taxonomic Study" Ed. Nort-Holland, Amsterdam, 1970.

TABLA I

LEVADURAS AISLADAS EN LA FERMENTACION DE MOSTOS DE JEREZ

| | 2ª SEMANA DE VENDIMIA | | 3ª SEMANA DE VENDIMIA | |
|--------------------------|---|--|---|---|
| | NOSTO CON P. DE CUBA | MOSTO | NOSTO CON P. DE CUBA | MOSTO |
| | Espece seleccionada | SIN | Espece seleccionada | SIN |
| | <u>Sacch. cerevisiae</u> | PIE DE CUBA | <u>Sacch. cerevisiae</u> | PIE DE CUBA |
| | <u>50 Aislamientos</u> | <u>10 Aislamientos</u> | <u>30 Aislamientos</u> | <u>20 Aislamientos</u> |
| INICIO DE FERMENTACION | 66% Sacch.cerevisiae 34% Sacch.fermentati | 90% Sacch.fermentati 10% Sacch.cerevisiae | 67% Sacch.cerevisiae 23% Sacch.fermentati 10% Sacch.chevalieri | 60% Sacch.fermentati 25% Sacch.cerevisiae 10% Sacch.chevalieri 5% Sacch.rosei |
| | <u>50 Aislamientos</u> | <u>10 Aislamientos</u> | <u>30 Aislamientos</u> | <u>20 Aislamientos</u> |
| FERMENTACION TUMULTUOSA | 78% Sacch.cerevisiae 22% Sacch.fermentati | 60% Sacch.fermentati 40% Sacch.cerevisiae | 53% Sacch.cerevisiae 33% Sacch.fermentati 10% Sacch.chevalieri 4% Sacch.rosei | 45% Sacch.fermentati 35% Sacch.cerevisiae 10% Sacch.chevalieri 10% Sacch.rosei |
| | <u>50 Aislamientos</u> | <u>10 Aislamientos</u> | <u>30 Aislamientos</u> | <u>20 Aislamientos</u> |
| FINAL DE FERMENTACION | 80% Sacch.cerevisiae 18% Sacch.fermentati 2% Sacch.chevalieri | 60% Sacch.fermentati 30% Sacch.cerevisiae 10% Sacch.chevalieri | 30 Aislamientos 53% Sacch.cerevisiae 27% Sacch.fermentati 20% Sacch.chevalieri | 20 Aislamientos 40% Sacch.fermentati 30% Sacch.cerevisiae 30% Sacch.chevalieri |
| EFICACIA DEL PIE DE CUBA | 80 % | ----- | 67 % | ----- |

TABLA II CARACTERISTICAS PRE-FERMENTATIVAS DEL MOSTO

| <u>PARAMETROS</u> | <u>MOSTOS</u> | |
|-------------------------------------|------------------------|------------------------|
| | <u>CON PIE DE CUBA</u> | <u>SIN PIE DE CUBA</u> |
| Grado baumè ($^{\circ}\text{Be}$) | 11,0 | 11,1 |
| Acidez total (g TH_2 /l) | 6,67 | 6,66 |
| SO_2 (mg/l) | 108 | 111 |
| pH | 3,07 | 3,05 |

TABLA III CARACTERISTICAS POST-FERMENTATIVAS DEL MOSTO

| <u>PARAMETROS</u> | <u>MOSTOS</u> | |
|--|------------------------|------------------------|
| | <u>CON PIE DE CUBA</u> | <u>SIN PIE DE CUBA</u> |
| Grado alcohólico ($^{\circ}\text{GL}$) | 11,05 | 11,15 |
| Acidez total (g TH_2 /l) | 7,11 | 6,87 |
| Acidez volátil (g AcH /l) | 0,31 | 0,31 |
| pH | 3,03 | 3,04 |
| Azúcares reductores (g/l) | 1,5 | 1,6 |
| Glicerina (g/l) | 7,34 | 7,11 |
| Densidad 20° (g/l) | 993,8 | 993,6 |
| Extracto densimétrico (g/l) | 25,8 | 25,8 |
| Acetaldehido (mg/l) | 90,0 | 75,0 |
| Acetato de metilo (mg/l) | 4,2 | 4,9 |
| Acetato de etilo (mg/l) | 25,0 | 23,0 |
| Metanol (mg/l) | 53,0 | 57,0 |
| Butanol-2 (mg/l) | 0,0 | 0,0 |
| N-propanol (mg/l) | 29,0 | 27,0 |
| I-butanol (mg/l) | 50,0 | 50,0 |
| N-butanol (mg/l) | 2,0 | 1,6 |
| I-amílicos (mg/l) | 147,0 | 133,0 |
| Alcoholes superiores (mg/l) | 228,0 | 211,6 |
| $^{\circ}\text{GL} / ^{\circ}\text{Be} \times 100$ | 100,4 | 100,4 |

EFECTO DE LA MODIFICACION DEL pH MEDIANTE LA CORRECCION DE LA ACIDEZ SOBRE LA FLORA FERMENTATIVA EN LA ZONA DEL JEREZ

M.J. VALCARCEL; L. PEREZ; P. GONZALEZ; B. DOMECCQ
Dpto. de Calidad e Investigación de Pedro Domecq, S.A.

RESUMEN

En este trabajo se estudia el efecto que ejerce la modificación del pH mediante la corrección de la acidez sobre las levaduras fermentativas en la zona del Jerez. En sus resultados se aprecia que no existen diferencias significativas entre las floras responsables de la fermentación de mostos en un intervalo de pH comprendido entre 3,2 y 3,7. En las dos experiencias realizadas al comienzo de la fermentación es la especie *Kl. apiculata* la mayoritaria, pasando el *Sacch. chevalieri* a serlo a partir de la fase tumultuosa. Otras especies aisladas durante la fermentación del mosto fueron *Sacch. italicus*, *Sacch. rosei*, *Sacch. fermentati*, *Sacch. cerevisiae* y *P. membranaefaciens*.

INTRODUCCION

Durante el periodo de maduración se produce en la uva una disminución progresiva de la acidez y el consiguiente aumento de los valores de pH, debido fundamentalmente a tres causas (1):

- a) Efecto de dilución, por llegada de agua al fruto.
- b) Fenómenos de combustión por respiración celular de sus ácidos orgánicos, en especial los ácidos tartárico y málico.
- c) Acumulación de materia mineral, principalmente potasio.

Las rutas metabólicas de síntesis en la planta de los ácidos tartárico y málico son distintas, así como la intensidad de su degradación (2). El ácido tartárico no desaparece tan rápidamente como el ácido málico, tanto es así, que varios investigadores (3,4) coinciden en afirmar que durante la maduración la concentración de ácido tartárico en el

grano de uva oscila dentro de unos límites reducidos (la migración que se produce de este ácido hacia el fruto compensa la mayoría de las pérdidas por combustión). Por el contrario, el contenido en ácido málico no deja de disminuir, primero de forma rápida y después más lentamente, siendo la migración insuficiente para compensar las pérdidas.

La concentración de estos ácidos en el fruto se encuentra afectada por las condiciones climatológicas que se producen durante el periodo de maduración. En climas secos y calurosos la combustión es más intensa provocando un descenso más acusado de los valores de acidez y aumento de los de pH, mientras que en climas húmedos y templados las evoluciones son más moderadas.

La acumulación en el grano de uva de potasio es otro de los factores que influyen en los valores de acidez y pH. En la planta existe una migración de potasio desde el suelo al fruto, que se intensifica durante la maduración. Este potasio llega al grano de uva en forma de sales (1).

Las condiciones climatológicas también afectan a la concentración de potasio en la uva. Así, en climas secos y calurosos la concentración es superior a la encontrada en climas húmedos y templados, debido principalmente a pérdidas de agua por transpiración (3, 4).

La zona del Jerez presenta una climatología seca y calurosa durante el periodo de maduración de la uva, lo que provoca descensos acusados de los valores de acidez y aumentos de los de pH en el fruto. Los valores medios de acidez total, pH, ácido tartárico, ácido málico y potasio encontrados por diversos autores (5-9) en estudios de maduración de la uva en el Marco del Jerez, durante los últimos 7 años, se exponen en la Tabla I. En ella se aprecia que el pH aumenta desde valores de 2,99 a finales de julio a 3,71 en época de vendimia. Estos niveles hacen imprescindible su corrección durante el proceso de vinificación si se desea obtener mostos equilibrados y sanos y condiciones adecuadas para un posterior proceso de crianza biológica o envejecimiento físico-químico.

La corrección del pH mediante la adición de ácido tartárico al mosto, junto con la sulfitación (a niveles entre 100 y 125 mg/l) y la adición de un pie de cuba en plena fermentación son tres de las prácticas enológicas más generalizadas durante el proceso de vinificación en la zona del Jerez.

El efecto que cada una de estas prácticas enológicas ejerce sobre las levaduras fermentativas ha sido estudiado durante las campañas 1985/86 a 1987/88. Los resultados correspondientes a la sulfitación y adición de un pie de cuba al mosto fueron expuestas durante las IV Jornadas Universitarias de Viticultura y Enología en Jerez (10, 11) presentándose en estas V Jornadas los resultados obtenidos en el estudio de corrección del pH mediante la adición de ácido tartárico.

MATERIAL Y METODOS

1. Procedencia del mosto

El mosto se tomó directamente de la prensa con un erlenmeyer estéril de tres litros de capacidad, no teniendo corrección de acidez ni adición de sulfuroso.

Después de tres horas de desfangado el sobrenadante se dividió en tres partes:

a) Dos de ellas de 750 ml se colocaron en probetas estériles de un litro de capacidad

tapadas con algodón goso y que contenían cada una de ellas en areómetro baumé de 0-10°Be. A una de estas probetas se le adicionó 2,0g de ácido tartárico para bajar el pH desde 3,71 a 3,19.

b) Una tercera de 500 ml que se emplearía en primer lugar para el aislamiento de las levaduras presentes en el mosto sin fermentar y a continuación para su caracterización físico-química.

2. Técnicas de aislamientos de levaduras.

Los aislamientos se realizaron de acuerdo con los criterios establecidos por Castelli (12), es decir, en tres etapas de la fermentación: al comienzo (Be mayor que 10), durante la fermentación tumultuosa (Be:4-7) y al final de la fermentación (Be:0).

Para realizar los aislamientos fue necesario emplear la técnica de las diluciones sucesivas, diluciones que fueron filtradas a través de membranas de 0,45 μ m, las cuales se colocaron en medio de cultivo YPD (extracto de levadura, 1%, peptona 2%, glucosa 2%, agar 2%) y se incubaron en estufa a 26-28°C durante 72 horas.

Los aislamientos se realizaron de aquellas placas que presentaban un número de colonias de levaduras cercano a cien, eligiéndose éstas por las características culturales que presentaban.

El medio empleado para conservar las cepas fue MYPD (glucosa 1%, peptona 0,5%, ext. Levadura 0,3%, ext. malta 0,3% y agar 2%).

3. Pruebas empleadas en la identificación taxonómica de las cepas

La clasificación se hizo de acuerdo con la clave de identificación propuesta por Lodder en 1970 (13), siendo necesario para ello realizar las siguientes pruebas:

- a) Características morfológicas de las células.
- b) Características culturales de las colonias.
- c) Formación de ascosporas.
- d) Fermentación y asimilación de azúcares: glucosa, galactosa, sacarosa, maltosa, lactosa y rafinosa.
- e) Asimilación de nitratos y etanol.
- f) Hidrólisis de la arbutina.
- g) Crecimiento a 37°C.

RESULTADOS Y DISCUSION

En la Tabla II aparecen expuestas las especies de levaduras aisladas durante la fermentación del mosto con y sin corrección del pH, así como sus porcentajes de aparición y el número de aislamientos realizados en cada etapa fermentativa.

En ella se aprecia que esta práctica enológica no varía de forma significativa la composición de la flora blastomicética durante el proceso fermentativo en el intervalo estudiado (pH: 3,2-3,7).

Al comienzo de la fermentación se aisló como especie mayoritaria la **Kl. apiculata** con un 40%, correspondiendo el 60% restante a especies del género **Saccharomyces**: **Sacch. rosei**, **Sacch. cerevisiae** **Sacch. fermentati** y **Sacch. chevalieri**.

Durante la fermentación tumultuosa la especie **Kl. apiculata** no se aisló debido a la presencia de alcohol en el medio, quedando las especies del género **Saccharomyces**

como responsables de la fermentación. Entre las especies de este género se aislaron: **Sacch. chevalieri** (levadura mayoritaria con un 55-60%), **Sacch. cerevisiae**, **Sacch. rosei** y **Sacch. italicus**. Además, durante esta etapa también se aisló en la experiencia de fermentación a pH: 3,7 la especie **P. membranaefaciens**, la cual no tiene gran interés como agente activo de la fermentación espontánea de mostos de Jerez.

Por último, al final de la fermentación sólo se aislaron especies del género **Saccharomyces**: **Sacch. chevalieri** (sigue siendo la mayoritaria con un 50-70%), **Sacch. cerevisiae** (que mantiene su porcentaje de aparición durante todo el proceso, 20-30%) y **Sacch. italicus**.

Estos mismos resultados han sido obtenidos por otros autores (1,13,14) al estudiar el efecto de la modificación del pH por corrección de la acidez sobre la flora fermentativa en otras regiones vitivinícolas. Todos concluyen que la corrección del pH no presenta efecto selectivo sobre la flora blastomicética, pero sí tiene incidencia sobre las bacterias presentes en el mosto.

El metabolismo bacteriano se encuentra favorecido a pH superiores a 3,5, mientras que a pH entre 3,0 y 3,2 presenta serias dificultades (15-20). De hecho, la fermentación mololáctica por ejemplo se realiza mejor a pH entre 3,5 y 4,0 que por debajo de este intervalo (18,19). En el caso de las levaduras su metabolismo fermentativo no se ve afectado por la corrección del pH, presentando tolerancia hasta pH: 2,8 (1,3).

El que no exista una selección de la flora fermentativa con la corrección del pH justifica que las características físico-químicas de los mostos fermentados sean similares, como puede observarse en la Tabla IV.

CONSIDERACIONES FINALES

De los resultados anteriormente expuestos se pueden sacar las siguientes consideraciones finales:

a) La corrección de pH es imprescindible en la zona del Jerez para obtener mostos equilibrados y sanos y condiciones adecuadas para el proceso de crianza biológica o envejecimiento físico-químico.

b) La modificación del pH por corrección de la acidez no afecta de forma significativa a las levaduras responsables del proceso fermentativo y sí al desarrollo bacteriano que pueda tener lugar en el medio.

BIBLIOGRAFIA

1. PEYNAUD, E.- "Enología práctica" Ed. Mundi-prensa, Madrid, 1977.
2. ARNEDO, J.; CASAS, J.F.- "Aportación al estudio de la maduración de la uva palomino en la zona del Jerez superior" Actas II Jornadas Universitarias sobre el Jerez, Cádiz, 1982.
3. RIBEREAU-GAYON, J.; PEYNAUD, E.; RIBEREAU-GAYON, P.; SAUDRAUD, P.- "Traité d'Oenologie: Sciences et Techniques du Vin" Tomo 2, Ed. Dunod, París, 1975.

4. CATALINA, L.- "Estudio de la maduración del fruto de la vid" Actas I Jornadas Universitarias sobre el Jerez, Cádiz, 1980.
5. PEREZ, L.; MARTINEZ DE LA OSSA, E.; VALCARCEL, M.J.; GIL, R.; SALES, D.; GALAN, M.- "Seguimiento Industrial de la Maduración de la Uva: Campaña 1982" Ed. Caja Rural Provincial, Cádiz, 1983.
6. MARTINEZ DE LA OSSA, E.; VALCARCEL, M.J.; GIL DE REBOLEÑO, R.; PEREZ, L.- "Maduración industrial de la uva en el Marco del Jerez" Actas III Jornadas Universitarias sobre el Jerez, Cádiz 1984.
7. CARO, I.; ROMERO, L.I.; PEREZ, L.; GIL DE REBOLEÑO, R.; MARTINEZ DE LA OSSA, E.- "Estudio de la maduración industrial de la uva en el Marco del Jerez" Actas IV Jornadas Universitarias de Viticultura y Enología en Jerez, Cádiz, 1987.
8. Informe Depto. Ingeniería Química de la Facultad de Ciencias de Cádiz "Maduración de la uva en el Marco del Jerez: Campaña 1987.
9. Informe Depto. Ingeniería Química de la Facultad de Ciencias de Cádiz "Maduración de la uva en el Marco del Jerez: Campaña 1988.
10. VALCARCEL, M.J.; PEREZ, L.; GONZALEZ, P.; DOMECCQ, B.- "Efecto del pie de cuba sobre la fermentación dirigida en la zona del Jerez" Actas IV Jornadas de Viticultura y Enología en Jerez, Cádiz, 1987.
11. VALCARCEL, M.J.; PEREZ, L.; GONZALEZ, P.; DOMECCQ, B.- "Efecto de la sulfitación sobre las levaduras responsables de la fermentación en la zona del Jerez" Actas IV Jornadas de Viticultura y Enología en Jerez, Cádiz, 1987.
12. CASTELLI, T.- VI Cong. Internacional de Microbiología, Roma, 1953.
13. LODDER y KREGER-VAN-RIJ.- "The Yeasts: A Taxonomic Study" Ed. Nort-Holland, Amsterdam, 1970.
14. AMERINE, M.A.; BERG, H.W.; CRUESS, W.V.- "Technology of wine Making" Ed. The AVI Publishing Company, Inc, 1967.
15. IÑIGO, B.; PLASENCIA, A.M.; BRAVO, F.- "Estudio de bacterias aisladas del vino" Agroquímica y Tecnología de Alimentos, **9**, 116-125 (1969).
16. IÑIGO, B.; PLASENCIA, A.M.; BRAVO, F.- "Estudio de bacterias aisladas del vino" Microbiología Española, **22**, 19-39 (1969).
17. IÑIGO, B.; PLASENCIA, M.A.; BRAVO, F.- "Estudio de bacterias aisladas del vino" Agroquímica y Tecnología de Alimentos, **9**, 428-436 (1969).
18. DAVIS, C.R.; WIBOWO, D.; FLEET, G.H.; LEE, T.H.- "Properties of wine lactic acid bacteria: their potential enological significance" Am. J. Enol. Vitic., **39(2)**, 137-142 (1988).
19. WIBOWO, D.; ESCHEMBRUCH, R.; DAVIS, C.R.; FLEET, G.H.; LEE, T.- "Occurrence and growth of lactic acid bacteria en wine: a review" Am. J. Enol. Vitic., **36(4)**, 302-313 (1985).
20. DRYSDALE, G.S.; FLEET, G.H.- "Acetic acid bacteria in winemaking: a review" Am. J. Enol. Vitic., **39(2)**, 143-154 (1988).

TABLA I
MADURACION DE LA UVA EN EL MARCO DE JEREZ

| PERIODO | ACIDEZ TOTAL (ϵ TH ₂ /l) | pH | ACIDO TARTARICO (ϵ /l) | ACIDO MALICO (ϵ /l) | POTASIO (ϵ /l) |
|-------------|---|------|--|-------------------------------------|-----------------------------|
| 29/7 - 4/8 | 7,92 | 2,99 | 7,79 | 1,48 | 1,11 |
| 5/8 - 10/8 | 6,02 | 3,26 | 7,88 | 0,94 | 1,16 |
| 11/8 - 17/8 | 4,73 | 3,40 | 6,60 | 0,66 | 1,29 |
| 18/8 - 24/8 | 4,12 | 3,48 | 6,90 | 0,41 | 1,36 |
| 25/8 - 31/8 | 3,80 | 3,53 | 7,14 | 0,34 | 1,47 |
| 1/9 - 7/9 | 3,60 | 3,57 | 6,82 | 0,32 | 1,60 |
| 8/9 - 14/9 | 3,29 | 3,71 | 6,53 | 0,29 | 1,77 |

TABLA II EFECTO DEL pH SOBRE LAS LEVADURAS RESPONSABLES DE LA FERMENTACION

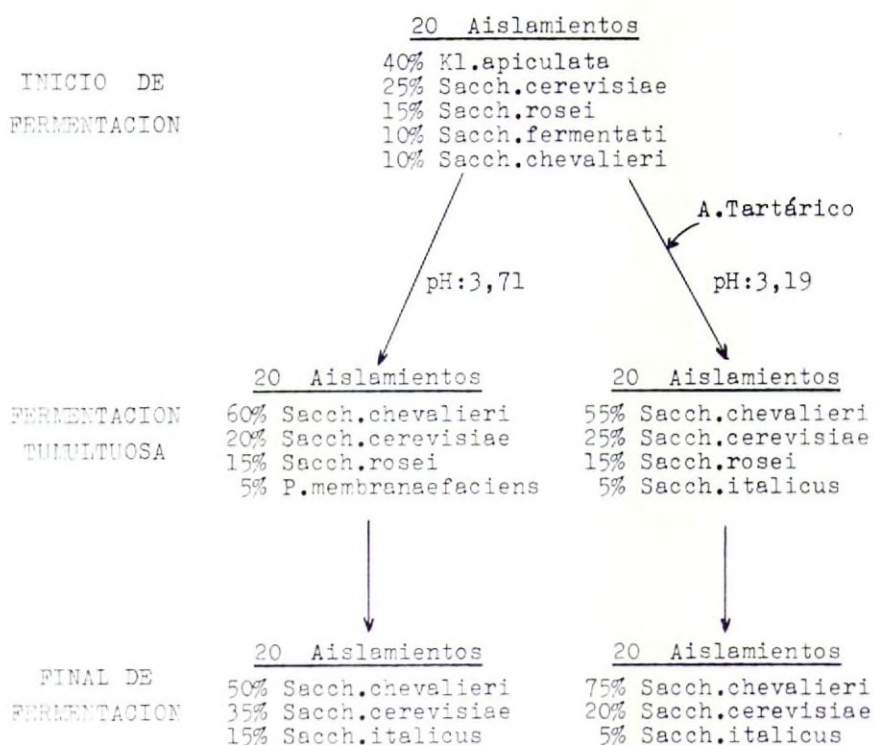


TABLA III CARACTERISTICAS PRE-FERMENTATIVAS DEL MOSTO

| <u>PARAMETROS</u> | <u>MOSTO SIN CORREGIR</u> | <u>MOSTO CORREGIDO</u> |
|-------------------------------------|---------------------------|------------------------|
| Grado baumé (°Be) | 13,5 | 13,5 |
| Acidez total (g TH ₂ /l) | 3,50 | 6,15 |
| pH | 3,71 | 3,19 |
| SO ₂ (mg/l) | Exento | Exento |

TABLA IV CARACTERISTICAS POST-FERMENTATIVAS DEL MOSTO

| <u>PARAMETROS</u> | <u>MOSTO SIN CORREGIR</u> | <u>MOSTO CORREGIDO</u> |
|--|---------------------------|------------------------|
| Grado alcohólico (°GL) | 13,7 | 13,9 |
| Acidez total (g TH ₂ /l) | 5,18 | 6,76 |
| Acidez volátil (g AcH/l) | 0,32 | 0,28 |
| pH | 3,69 | 3,13 |
| Azúcares totales (g/l) | 3,1 | 2,9 |
| Glicerina (g/l) | 10,33 | 9,45 |
| Absorbancia a 470 nm (x10 ³) | 324 | 294 |
| Acetaldehido (mg/l) | 10,8 | 10,2 |
| Acetato de metilo (mg/l) | 3,3 | 2,0 |
| Acetato de etilo (mg/l) | 14,8 | 16,8 |
| Metanol (mg/l) | 74,9 | 71,0 |
| Butanol-2 (mg/l) | 0,0 | 0,0 |
| N-propanol (mg/l) | 26,1 | 24,7 |
| I-butanol (mg/l) | 55,9 | 54,7 |
| N-butanol (mg/l) | 1,9 | 2,1 |
| I-amílicos (mg/l) | 304,6 | 299,3 |
| Alcoholes superiores (mg/l) | 388,5 | 380,8 |
| °GL / °Be x 100 | 101,4 | 103,0 |

DIFERENCIACION DE VINOS BLANCOS VARIETALES PRODUCIDOS EN LA ZONA DEL JEREZ

BELEN PUERTAS GARCIA, GARMELO GARCIA BARROSO*

Estación Experimental Rancho de la Merced.

Dirección General de Investigación y Extensión Agrarias

Junta de Andalucía.

***Facultad de Ciencias. Dpto. de Química Analítica**

Universidad de Cádiz

RESUMEN

Se ha realizado un análisis sensorial de 15 vinos blancos monovarietales de tres cosechas (1986, 1987 y 1988). El análisis de cata se ha llevado a cabo con tres grupos de catadores: comité de expertos de la D.O. de Jerez, comité de cata de una bodega de Jerez y un grupo de aficionados. Los resultados obtenidos se han sometido a un análisis multivariante con vistas a una posible caracterización o diferenciación de los distintos vinos elaborados. Se han comparado los resultados obtenidos con tres grupos de catadores así como con las tres cosechas producidas. Se ha establecido, finalmente, la clasificación de las distintas variedades, así como aquellos atributos que mayoritariamente son capaces de distinguir estos vinos.

INTRODUCCION

Una de las tendencias actuales del mercado vitivinícola se dirige a la elaboración de vinos blancos, jóvenes y afrutados. Concretamente en la zona del Jerez hay ya varias marcas comerciales, estando la mayor parte de ellas elaboradas con la variedad Palomino fino, lo que no debe extrañar, pues ocupa más del 95% del viñedo de esta zona.

Por otra parte, en los últimos diez años las cifras de ventas del vino de Jerez han disminuido, con el consiguiente aumento de los stocks, produciendo una desestabiliza-

ción económica en el sector vitivinícola de la zona.

Una línea de investigación de interés es el estudio del compartamiento agronómico y enológico de variedades mejorantes en cada zona vitícola. Pueden ser variedades que se consideren de calidad en otras zonas, o que hayan sido obtenidas a partir de hibridaciones o cruces.

En la Estación Experimental Rancho de la Merced se inició, en 1986, la elaboración de vinos monovarietales blancos de mesa. Se entiende como vino monovarietal el que se obtiene a partir de una sola variedad de vid.

Cuando se pretende evaluar la calidad sensorial de un alimento, es decir, el resultado de las sensaciones que el hombre experimenta al ingerirlo, parece que el camino más sencillo es preguntárselo a él mismo. La necesidad de que la respuesta humana sea sencilla y reproducible es lo que ha impulsado al nacimiento y desarrollo de lo que hoy se conoce como **Análisis Sensorial** (1).

De una forma general, este tipo de análisis puede definirse como, el conjunto de técnicas de medida y evaluación de determinadas propiedades organolépticas de los alimentos, realizadas con uno o más de los órganos de los sentidos humanos.

En el presente trabajo se pretende, con los resultados del análisis sensorial de 15 vinos blancos, jóvenes, monovarietales, de las cosechas de 1986, 1987 y 1988, buscar posibles diferencias entre los vinos y/o las cosechas, con el fin de determinar si estos vinos son potencialmente distintos, empleando para ello técnicas de análisis multivariante.

MATERIAL Y METODOS

Muestras: Los vinos estudiados proceden, por una parte de variedades que se cultivaban y/o se cultivan actualmente en Andalucía: Garrido fino, Jaén blanco, Moscatel Palomino fino, Palomino de Jerez, Pedro Ximénez y Perruno. Por otro lado, de variedades que destacan por su calidad en otras zonas vitícolas nacionales como Parellada, Viura y Xarello, e internacionales como Sauvignon blanc y Sémillon. Además se eligieron: La Airén por ser la variedad cultivada con mayor extensión en España y la Corredera y la Horquilla por se nuevas obtenciones del centro de trabajo.

Sala de cata: Al no disponer de una sala como la que se considera en la norma UNE 87-004 (2), se consideró que el lugar más adecuado para la realización de las pruebas era la biblioteca del centro por tener muchos de los aspectos no estrictamente necesarios pero si deseables.

Copa de vino: Se ha utilizado la copa de vino normalizada según la norma UNE 33-118 (3).

Temperatura del ensayo: Una temperatura comprendida entre 10 y 12 °C es la recomendada por la mayor parte de la bibliografía para la cata de vinos blancos jóvenes.

Tipo de prueba: Para la selección de catadores se han utilizado:

a) Una prueba referida a la capacidad para reconocer tres de los cuatro sabores básicos, ácido, salado y dulce (dejando aparte el amargo) (4).

b) Pruebas triangulares con el fin de aplicar un análisis secuencial. Para describir y comparar los vinos se ha utilizado la prueba de **Análisis Descriptivo Cuantitativo** (Q.D.A.).

Jueces: El análisis sensorial se ha realizado por tres grupos de catadores bien diferenciados.

Por una parte se ha contado con el Comité de Expertos de la D.O. "Jerez-Xéres-Sherry" y "Manzanilla-Sanlúcar de Barrameda". Este comité está constituido por cuatro personas altamente cualificadas y entrenadas (COE).

Por otra parte se contó también con las personas responsables de la cata de una empresa privada del marco de Jerez. Este grupo está constituido por cinco catadores expertos (MOD).

Por último se realizó una selección entre voluntarios del personal de la Estación Experimental Rancho de la Merced. Este grupo, denominado catadores aficionados, quedó constituido por siete personas (AFI).

Ficha de cata: Se ha utilizado la ficha redactada por el Consejo Superior de Investigaciones Científicas (C.S.I.C.), ligeramente modificada; no incluye la sensación aspecto-color, por considerar que en caso de no ser correcto es un defecto excluyente. Aquí se ha introducido esta sensación, pues aún siendo correcto el color de un vino, puede agradar en mayor o menor medida. La ficha utilizada es la que se muestra en la página siguiente.

Diseño estadístico de la experiencia: Se ha utilizado el diseño de bloques completos al azar, en el que cada juez analiza todas las muestras con un orden de presentación determinado al azar.

Método estadístico: Con los resultados procedentes del análisis sensorial se ha realizado, por una parte, un análisis de la varianza, calculando la media, la desviación típica, coeficiente de variación, mínima diferencia significativa al 95% y orden de preferencia. Por otro lado, se han sometido dichos resultados a un análisis multivariante, empleando para ello el paquete estadístico BMDP existente en el Centro de Cálculo de la Universidad de Cádiz (5). Con el objeto de obtener posibles diferenciaciones entre los vinos monovarietales considerados, se sometieron los datos mencionados al **Análisis Lineal Discriminante** (LDA).

RESULTADOS Y DISCUSION

Dado el elevado número de vinos monovarietales considerados, así como las distintas cosechas obtenidas, con el fin de facilitar la interpretación de las posibles diferencias, se sometieron al LDA en grupos previamente seleccionados. Se estudió por separado, con el fin de comprobar el potencial diferenciador de cada grupo, la clasificación obtenida por cada grupo de catadores: Comité de Expertos de la D.O. de Jerez (COE), Comité de cata de una bodega de Jerez (MOD) y un grupo de aficionados (AFI). De la misma forma se sometieron por separado las tres cosechas: 1986, 1987 y 1988 y, en la mayoría de los casos se trataron conjuntamente no más de seis vinos por LDA, seleccionados arbitrariamente unas veces e intencionadamente otras, considerándose algún parámetro como producción de uva, grado Baumé, acidez total, ácido málico, etc. De esta forma se han sometido la totalidad de los vinos, de los grupos de cata y de las cosechas, así como el conjunto de todos ellos.

Cosecha de 1986

En primer lugar se sometieron conjuntamente los tres grupos de catadores para un número reducido de vinos escogidos al azar, encontrándose que para la casi totalidad de los vinos considerados no era posible distinción o diferenciación alguna, no llegando, ni siquiera, el programa a pasar de la primera etapa (selección de la primera variable-atributo con mayor varianza).

Sin embargo, cuando se estudiaron por separado dichos grupos de catadores, se obtenía cierta clasificación, en las distintas combinaciones de vinos ensayadas.

Cuando se consideraron los vinos de las variedades: Pedro Ximénez, Palomino de Jerez, Airén, Sauvignon blanc, Moscatel y Xarello, con el grupo AFI exclusivamente, resultó una situación idéntica a la anterior, no obteniéndose ninguna clasificación o diferenciación. Sin embargo, considerando sólo el grupo COE se obtuvo cierta clasificación, distinguiéndose los vinos de Airén y de Xarello con un 100%, resultando el regusto como atributo discriminatorio.

No obstante, según se puede observar en el histograma correspondiente tan sólo el vino de Xarello se diferencia claramente del resto. (Fig. 1).

Considerado sólo el grupo MOD con estos 6 vinos se obtuvo un ligero aumento del porcentaje de clasificación, distinguiéndose perfectamente los vinos de Airén y de Moscatel del resto, y además entre ellos se obtuvo una separación considerable (Fig. 2).

La diferenciación obtenida por los grupos de catadores es algo diferente, siendo el atributo discriminante para el grupo MOD el olor en vez del regusto. Sin embargo puede observarse que ambos grupos coincidieron en diferenciar el vino de la variedad Airén.

Cuando se somete la combinación de vinos de las variedades Parellada, Xarello, Garrido fino y Sauvignon blanc, siendo las dos primeras variedades las más productivas y las dos últimas las menos, con el grupo AFI no se consigue ninguna clasificación. Con el grupo COE se consigue al menos dos vinos con el 100%, el de Sauvignon blanc y el de Xarello, resultando como atributos discriminatorios el regusto y el color para establecer dicha clasificación coincidiendo ambas variedades con baja valoración (Fig. 3). Cuando se considera el grupo MOD se diferencian las mismas variedades, pero la clasificación es inferior.

Cuando se considera el conjunto de variedades de mayor graduación Baumé, Sauvignon blanc y Moscatel, con las de menor, Parellada y Perruno, ahora el grupo AFI si consigue una clasificación aunque con porcentajes muy bajos. El grupo COE mediante el regusto y el color consigue diferenciar claramente la variedad Perruno, siendo ésta la de menor valoración. El grupo MOD coincide con el anterior salvo que el atributo diferenciador es la sensación táctil.

De las seis combinaciones ensayadas se pueden resumir los siguientes comentarios:

| GRUPO CATADORES | Nº COMBINACIONES CON DIFERENCIAS | VARIETADES DIFERENCIADAS | ATRIBUTO DISCRIMIN. |
|-----------------|----------------------------------|-----------------------------------|--|
| AFI | 2 | Moscatel Perruno | Olor |
| COE | 6 | Jaén blanco Xarello Perruno | Regusto * Color Olor |
| MOD | 6 | Moscatel Perruno | Sen. Táctil* Olor Color Sen. Global |

– De las 6 combinaciones de variedades ensayadas el grupo AFI sólo es capaz de establecer diferencias en dos de ellas, resultando en ambas la variable discriminadora el olor. Destacan los vinos de Moscatel y de Perruno; siendo el de Moscatel de los de mayor puntuación total y el de Perruno de los de menor. A pesar de la escasa diferenciación alcanzada por este grupo, un hecho curioso es que resulta el olor como variable discriminadora separando el Moscatel (calidad e intensidad de olor) y el Perruno (intensidad de olor pero acetificado).

– El grupo COE distingue perfectamente los vinos de Xarello y de Perruno que son los de menor puntuación total, y por otro lado el vino de Jaén blanco que es el de mayor puntuación total. El atributo discriminante empleado en la mayoría de los casos es el gusto, seguido por el color y el gusto.

– El grupo MOD destaca el vino de Moscatel, uno de los de mayor puntuación total, y el de Perruno, el de menor. El atributo discriminatorio más utilizado fue la sensación táctil seguido por el olor, color y sensación global.

Cosecha de 1987

Además de las combinaciones ensayadas en la cosecha de 1986 se hicieron otras dos. Una con las variedades que presentaron mayor y menor contenido de ácido málico, y otra en base a los contenidos de potasio.

Tan solo conviene mencionar una experiencia, para compararla con 1986, en la que se consideró el conjunto de los tres grupos de catadores para los vinos de las variedades Pedro Ximénez, Palomino de Jerez, Airén, Sauvignon blanc, Moscatel y Xarello, obteniéndose este año diferenciación para los de las variedades Xarello y Moscatel de apenas un 80%. Lógicamente se visualiza mejor si se consideran sólo los de estas dos variedades. Cuando se considera esta misma combinación de vinos con los tres grupos de catadores por separado, se obtiene mejor diferenciación; para el caso del grupo COE (Fig. 4) y para el grupo MOD (Fig. 5) no alcanzándose diferenciación alguna para el grupo AFI. Por lo que de nuevo se aprecia la conveniencia de estudiar los grupos de jueces por separado.

Respecto a los demás ensayos cabe mencionar los siguientes aspectos más llamativos.

| GRUPO CATADORES | Nº COMBINACIONES CON DIFERENCIAS | VARIETADES DIFERENCIADAS | ATRIBUTO DISCRIMIN. |
|-----------------|-------------------------------------|-----------------------------|------------------------|
| AFI | --- | --- | --- |
| COE | 8 | Moscatel | Color * |
| | | Xarello | Gusto * |
| | | P.X. | Olor |
| | | Parellada | Retrogusto |
| MOD | 8 | Sauvignon | Color * |
| | | Parellada | Sen. Global* |
| | | Xarello | Olor |
| | | Horquilla | |

- El grupo AFI en ninguna de las combinaciones ensayadas es capaz de alcanzar clasificación alguna.

– El grupo AFI en ninguna de las combinaciones ensayadas es capaz de alcanzar clasificación alguna.

– El grupo COE siempre ha diferenciado los vinos de las variedades Pedro Ximénez y Moscatel, que por otra parte destacan del conjunto. Esto puede atribuirse a que la botella de P.X. estaba acetificada, siendo la que menor puntuación total obtuvo. Hay que señalar que la del grupo AFI estaba igual y éstos no fueron capaces de diferenciarla, aunque también este grupo la asignó la menor puntuación total. El vino de Moscatel, que destaca en el otro sentido, es el que obtuvo la mayor puntuación, esto puede atribuirse a que esta variedad tiene una aroma mucho más intenso que el resto de las variedades estudiadas. Además, suelen diferenciarse con porcentajes de clasificación del orden del 80% los vinos de Xarello y Parellada. El de Parellada fue el que obtuvo después del de Moscatel, la mayor puntuación; la puntuación del vino de Xarello se encuentra entre las menores.

Han resultado para este grupo, como variables discriminatorias en orden decreciente: color, gusto, olor y retrogusto, no utilizando nunca ni la sensación táctil ni la sensación global.

– El grupo MOD la variedad que más ha destacado es la Sauvignon, con porcentaje de clasificación del 80%, llama la atención que no es destacada por su puntuación total ya que ocupa el lugar 6º de las 13 variedades catadas este año. Este grupo ha destacado las variedades Xarello, Parellada y Horquilla, siendo la Parellada la que mayor puntuación obtuvo y la Xarello y la Horquilla de las que menos. Las variables que han resultado para este grupo como discriminatorias son en orden decreciente: color, sensación global y olor, no utilizando nunca las otras tres.

Cosecha de 1988

Se ensayaron las mismas combinaciones que para el año 1987. Así se pueden mencionar los siguientes comentarios:

| GRUPO CATADORES | Nº COMBINACIONES CON DIFERENCIAS | VARIETADES DIFERENCIADAS | ATRIBUTO DISCRIMIN. |
|-----------------|----------------------------------|--|---|
| AFI | 2 | P.X. Pno. fino Viura | Gusto |
| COE | 8 | Sauvignon P.X. Moscatel Corredera Sémillon Horquilla Perruno | Color * Sen. táctil* Regusto Sen. Global |
| MOD | 5 | Sauvignon Moscatel Corredera Pno. fino Horquilla | Olor |

– El grupo AFI sólo consiguió alguna diferenciación con dos de las ocho combinaciones ensayadas. En ambas destacó el vino de Pedro Ximénez, que fue uno de los de mayor puntuación total, en el extremo contrario destacaron los vinos de Palomino fino y de Viura que fueron los de menor puntuación. Como atributo discriminatorio resultó en ambos casos el gusto.

– El vino más destacado por el grupo COE fue el de Sauvignon blanc, que es de los que obtuvo menor puntuación total. También destacaron los vinos de Pedro Ximénez y de Moscatel, considerando que las coordenadas canónicas del de Pedro Ximénez eran idénticas a las del de Corredera y a las del de Semillon. Los vinos de Moscatel, Semillon, Pedro Ximénez y Corredera, fueron los de mayor puntuación total. En el otro extremo destacó el de Horquilla que consideraron que tenía coordenadas canónicas idénticas al de Perruno, teniendo ambas puntuaciones totales bajas. Los atributos discriminatorios resultantes fueron el color y la sensación táctil, usando a veces el regusto y sensación global.

– El grupo MOD también destacó el vino de Sauvignon, que en este caso obtuvo la máxima puntuación total. El vino de Moscatel fue bastante destacado, con puntuación total alta. En el extremo contrario destacaron vinos con puntuaciones totales bajas, como el de Palomino fino y el de Horquilla. De las 8 combinaciones ensayadas en 3 no se alcanza diferenciación alguna entre las variedades; en las otras 5 siempre utilizan como atributo discriminatorio el olor.

Valoración de las tres cosechas

Con los vinos que se habían diferenciado en cada cosecha, se sometieron en conjunto los datos de los tres años, con vistas a estudiar las posibles diferencias por año. Se observaron diferencias en los tres años, para los vinos considerados, aunque en algunos casos dichas diferenciaciones no eran del 100% entre las cosechas (Fig. 6 y Fig. 7).

Hay que señalar que el grupo MOD no consigue diferenciación para el vino de la variedad Moscatel al hacer la combinación de los tres años, coincidiendo en ser un vino con calificaciones altas los tres años, por lo que se puede pensar que este vino ha destacado por conservar sus características varietales las tres cosechas estudiadas.

CONCLUSIONES

No puede generalizarse si hubo una cosecha que destacara claramente de las demás, si bien en 1988 se consiguió una clasificación muy alta en la mayoría de los casos.

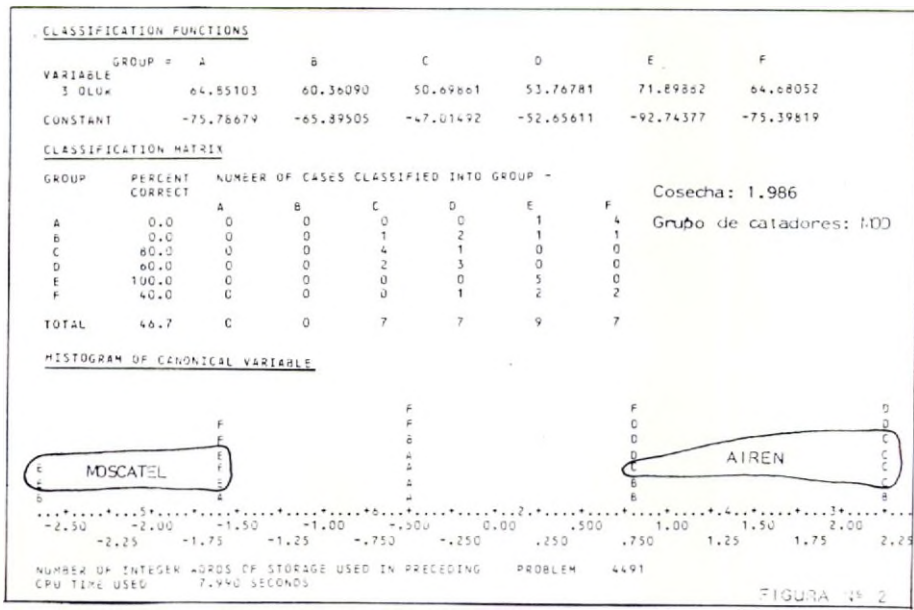
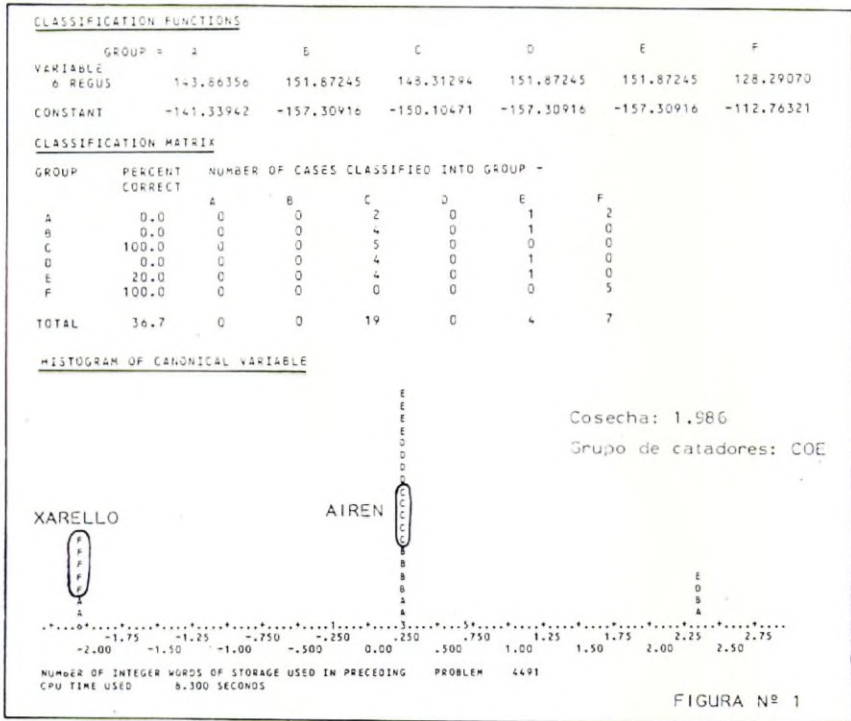
El potencial discriminante del catador no educado (grupo de aficionados), es muy bajo respecto a un grupo adiestrado, lo que indica el bajo índice discriminatorio (frente a un rango no excesivo) del público consumidor en general. Este grupo, catadores no adiestrados, sólo ha diferenciado vinos muy destacados de forma peyorativa o característica (Perruno y Moscatel).

Respecto al potencial discriminante de los dos grupos de expertos, se ha podido comprobar que es muy superior al de los aficionados, hecho que en principio era de esperar. Se puede decir que de los quince vinos blancos monovarietales estudiados, sólo se diferencian o distinguen claramente nueve y que con las otras seis variedades se han conseguido vinos no diferenciables entre ellos. Por lo que desde el punto de vista del análisis

sensorial, para elaborar ciertos vinos se podría elegir la variedad que en conjunto resultara más rentable (producción de uva, sensibilidad a enfermedades y carencias, etc...), puesto que no son potencialmente diferentes. Otra cuestión sería si se consideran otros parámetros físicos o químicos, con vistas a estudiar una posible diferenciación.

BIBLIOGRAFIA

1. COSTELL, E. y DURAN, L.; Rev. Agroq. Tecnol. Alim. 21, (1) 1-10. (1981).
2. I.R.N.; P.N.E. 87-004, Madrid (1978).
3. I.R.N.; P.N.E. 33-118, Madrid (1978).
4. RODRIGUEZ SANZ, F. Y VALENCIA DIAZ, F.; Bol. Asoc. Esp. Cont. Cal. 6, 11-35, (1986).
5. BMDP Statistical Software. User's Guide for VAX-11 Series Computers. University of California. Los Angeles (1986).



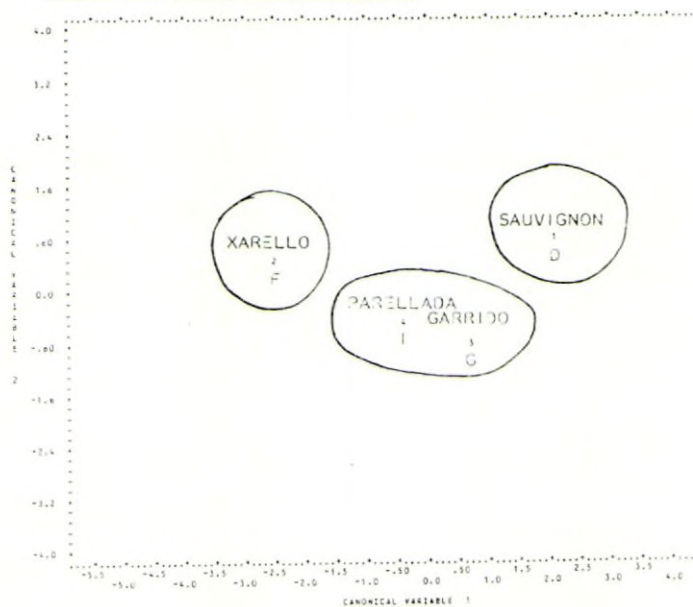
CLASSIFICATION FUNCTIONS

| VARIABLE | GROUP = D | F | G | J |
|----------|------------|------------|------------|------------|
| 2 COLOR | 30.42661 | 54.81751 | 46.37073 | 50.40112 |
| 6 REGUS | 195.15492 | 143.22501 | 153.31126 | 169.47211 |
| CONSTANT | -232.38179 | -186.50708 | -242.97953 | -224.69756 |

CLASSIFICATION MATRIX

| GROUP | PERCENT CORRECT | NUMBER OF CASES CLASSIFIED INTO GROUP - | | | |
|-------|-----------------|---|---|---|---|
| | | D | F | G | J |
| D | 100.0 | 5 | 0 | 0 | 0 |
| F | 100.0 | 0 | 5 | 0 | 0 |
| G | 40.0 | 1 | 0 | 2 | 2 |
| J | 60.0 | 0 | 1 | 1 | 3 |
| TOTAL | 75.0 | 6 | 6 | 3 | 5 |

OVERLAP OF DIFFERENT GROUPS IS INDICATED BY



Dosecha: 1.986

Grupo de Catadores: COE

FIGURA Nº 3

CLASSIFICATION FUNCTIONS

| VARIABLE | GROUP = A | B | C | D | E | F |
|----------|------------|------------|------------|------------|-------------|------------|
| 5 COLOR | 417.75381 | 536.46698 | 417.75381 | 550.03925 | 598.03381 | 488.32516 |
| 3 OLOR | 164.78223 | 199.15056 | 164.78223 | 214.12958 | 226.79645 | 175.17097 |
| CONSTANT | -519.03278 | -825.68341 | -519.03278 | -391.48114 | -1037.77734 | -672.27808 |

CLASSIFICATION MATRIX

| GROUP | PERCENT CORRECT | NUMBER OF CASES CLASSIFIED INTO GROUP - | | | | | |
|-------|-----------------|---|---|----|---|---|---|
| | | A | B | C | D | E | F |
| A | 0.0 | 0 | 0 | 5 | 0 | 0 | 0 |
| B | 100.0 | 0 | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| C | 100.0 | 0 | 0 | 5 | 0 | 0 | 0 |
| D | 60.0 | 0 | 1 | 0 | 3 | 1 | 0 |
| E | 100.0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 5 | 0 |
| F | 100.0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 5 |
| TOTAL | 76.7 | 0 | 6 | 10 | 3 | 6 | 5 |

OVERLAP OF DIFFERENT GROUPS IS INDICATED BY



Cosecha: 1.967

Grupo de Estudios: 002

FIGURA Nº 4

CLASSIFICATION FUNCTIONS

| VARIABLE | GROUP = A | B | C | D | E | F |
|----------|------------|------------|------------|-----------|------------|------------|
| 2 COLOR | 79.55318 | 72.10026 | 79.55318 | 53.09720 | 70.10882 | 84.45791 |
| 3 OLOR | 22.33078 | 29.08426 | 22.33078 | 34.29542 | 52.20576 | 10.01691 |
| CONSTANT | -125.63242 | -122.88384 | -125.63242 | -93.03765 | -125.59042 | -112.60017 |

CLASSIFICATION MATRIX

GROUP PERCENT CORRECT NUMBER OF CASES CLASSIFIED INTO GROUP -

| GROUP | PERCENT CORRECT | A | B | C | D | E | F |
|-------|-----------------|---|---|----|---|---|---|
| A | 0.0 | 0 | 0 | 4 | 0 | 0 | 1 |
| B | 0.0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 3 | 0 |
| C | 80.0 | 0 | 0 | 4 | 0 | 0 | 1 |
| D | 80.0 | 0 | 1 | 0 | 4 | 0 | 0 |
| E | 60.0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 3 | 0 |
| F | 80.0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 4 |
| TOTAL | 50.0 | 0 | 2 | 12 | 4 | 6 | 6 |

OVERLAP OF DIFFERENT GROUPS IS INDICATED BY



Cosecha: 1.987

Grupo de Catadores: MOD

FIGURA Nº 5

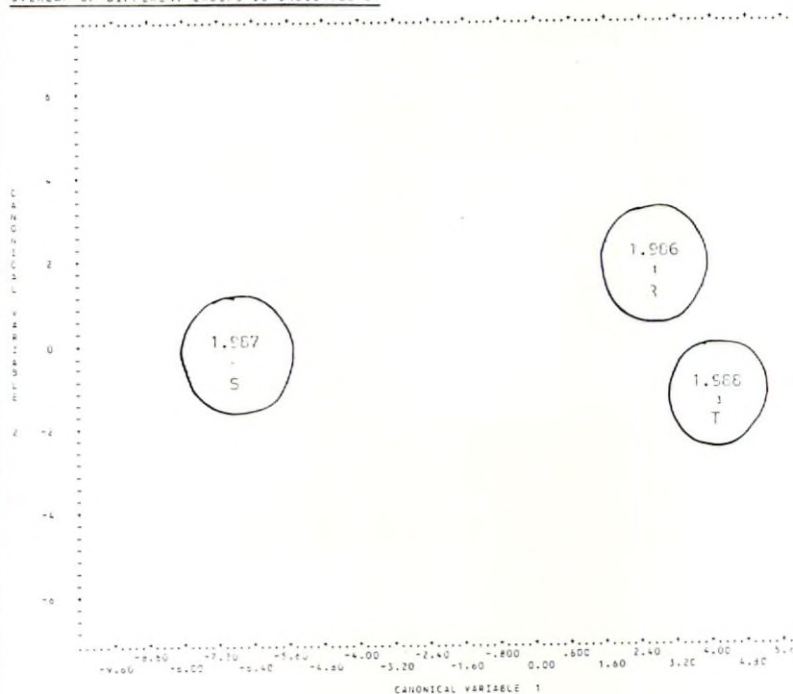
CLASSIFICATION FUNCTIONS

| VARIABLE | GROUP = R | S | T |
|----------|------------|------------|------------|
| 2 COLOR | 519.52720 | 368.34283 | 524.06970 |
| 5 TACTIL | 28.35935 | 40.23141 | 52.84596 |
| CONSTANT | -643.32611 | -355.60159 | -707.86159 |

CLASSIFICATION MATRIX

| GROUP | PERCENT CORRECT | NUMBER OF CASES CLASSIFIED INTO GROUP = | | |
|-------|-----------------|---|---|---|
| | | R | S | T |
| R | 80.0 | 4 | 0 | 1 |
| S | 100.0 | 0 | 5 | 0 |
| T | 100.0 | 0 | 0 | 5 |
| TOTAL | 93.3 | 4 | 5 | 6 |

OVERLAP OF DIFFERENT GROUPS IS INDICATED BY



Variedad: PEDRO MIMENEZ

Grupo de Catadores: COE

FIGURA N° 6

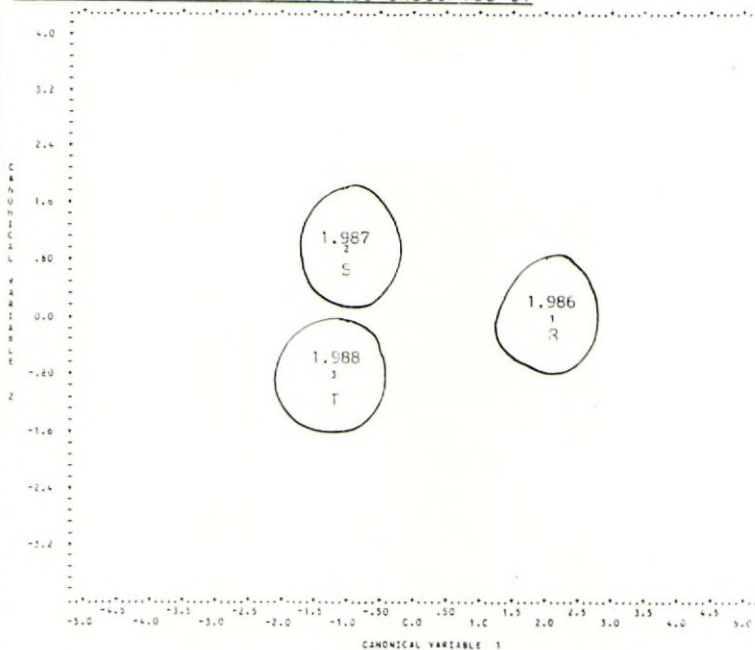
CLASSIFICATION FUNCTIONS

| VARIABLE | GROUP = R | S | T |
|----------|------------|------------|------------|
| 2 COLOR | 64.0418C | 73.991C7 | 64.69201 |
| 5 TACTIL | 94.1889C | 114.27816 | 119.74674 |
| CONSTANT | -152.5697C | -214.46082 | -204.05089 |

CLASSIFICATION MATRIX

| GROUP | PERCENT CORRECT | NUMBER OF CASES CLASSIFIED INTO GROUP - | | |
|-------|-----------------|---|---|---|
| | | R | S | T |
| R | 100.0 | 5 | 0 | 0 |
| S | 100.0 | 0 | 5 | 0 |
| T | 80.0 | 0 | 1 | 4 |
| TOTAL | 93.3 | 5 | 6 | 4 |

OVERLAP OF DIFFERENT GROUPS IS INDICATED BY



Variedad: PERRUNO
Grupo de Catadores: MOD

FIGURA N° 7

ESTUDIO DE PARAMETROS AMBIENTALES QUE CONDICIONAN LA CRIANZA DEL VINO FINO

J.I. LOZANO; F. PERDIGONES
Osborne y Cía, S.A.
Departamento Técnico
C/ Fernán Caballero, 3
11500-Puerto de Santa María (Cádiz)

RESUMEN

Se han realizado diversos seguimientos y experiencias en bodega encaminados a establecer las posibles relaciones entre el comportamiento de la flor en las botas y la evolución de las condiciones ambientales a lo largo del tiempo.

Los parámetros estudiados han sido: temperatura ambiente, humedad relativa, temperatura del vino, % oxígeno atmosférico dentro de la bota y estado de la flor (observación visual).

Además, se estudian diversos sistemas de cierre de las botas en crianza y su influencia sobre la flor y el vino.

Finalmente, se proponen las condiciones ambientales favorables para la crianza biológica del vino fino.

INTRODUCCION

Los vinos finos de Jerez se caracterizan principalmente por su fase de "crianza biológica". Esta fase viene condicionada por el desarrollo sobre la superficie del vino de una película de levadura, la "flor", cuya actividad metabólica confiere al vino sus características distintivas.

Es de conocimiento general en la zona, que la "flor" sufre variaciones importantes en su consistencia a lo largo del año, llegando en algunos casos a desaparecer.

En la presente comunicación se exponen los resultados de algunas experiencias realizadas en bodega con el objetivo de conocer la evolución de los factores climáticos y su posible relación con la evolución anual de estado de la flor.

Estos seguimientos han sido:

- Temperatura ambiente y humedad relativa.
- Temperatura del vino.
- Estado de la flor.
- Porcentaje de oxígeno atmosférico dentro de la bota.

MATERIAL Y METODOS

Para los distintos seguimientos realizados se han usado varias bodegas de crianza situadas en El Puerto de Santa María. Son bodegas antiguas, construidas siguiendo las pautas características de este tipo de edificaciones. Cada una de ellas contiene aproximadamente 1.000 botas, colocadas "en tercera".

Todos los seguimientos, excepto el oxígeno atmosférico, se han realizado durante un año.

La metodología empleada en cada seguimiento ha sido:

Temperatura del vino

Sumergiendo la sonda en el vino hasta una altura determinada.

Se ha realizado una lectura semanal, a un total de 18 botas instaladas en distintas bodegas, colocadas en segunda escala.

El seguimiento de la temperatura del vino en las tres escalas se ha realizado en dos bodegas distintas.

Temperatura ambiente – Humedad relativa

Se han colocado los aparatos registradores dentro de la bodega, siguiendo las pautas de GARCIA DEL BARRIO (1), es decir, a una altura aproximada de un metro sobre el suelo, en lugares escogidos de las bodegas.

Estado de la flor

Es éste un seguimiento puramente visual, por lo que a veces su interpretación puede ser bastante subjetiva. Para su seguimiento se han definido previamente una serie de calificativos que se han correlacionado con aspectos visuales concretos de flor.

Una vez entrenada la persona que iba a realizar el seguimiento, se comentó la experiencia.

El seguimiento se ha realizado sobre un total aproximado de 13.000 botas con una observación media diaria de 400 botas.

Porcentaje de oxígeno atmosférico en la bota

Se ha introducido una cánula por el registro de la bota, haciendo la lectura siempre a la misma altura sobre la flor.

RESULTADOS Y DISCUSION

En las Figuras 1 y 2 se presenta la evolución anual de la temperatura del vino, por escalas, en dos bodegas distintas.

En ellas puede apreciarse que existen diferencias importantes entre las escalas de

una misma bodega y entre dos bodegas entre sí.

En una bodega, las diferencias entre las escalas no son constantes a lo largo del año, sino que alcanzan un máximo en verano y llegan incluso a invertirse en invierno. Durante el invierno, el calor que penetra en la bodega por el techo es mínimo, prácticamente igual o incluso menor al irradiado por la Tierra, por lo que no existe gradiente de temperatura.

Sin embargo, durante el verano el equilibrio se desplaza hacia el techo, por donde la entrada de calor es mucho mayor. En este caso el gradiente es máximo.

Esto se ha podido visualizar en los registros de temperatura ambiente y humedad de una misma bodega, en los meses de febrero y junio. Los registradores se han ido a un metro bajo el techo.

Respecto a las diferencias entre ambas bodegas, ambas con la misma orientación, se observan con nitidez. A modo de comentarios, diríamos:

A simple vista parece que la bodega n.1 amortigua mejor las inclemencias climáticas, siendo más cálida en invierno y más fresca en verano. Sin embargo, si nos fijamos con atención en la época veraniega, observamos que las escalas 1 y 2 de esta bodega son más calurosas que las respectivas de la bodega n. 2.

Se observa también, en primavera, como la n.1 es más reacia a enfriarse, no puede, mientras que la n.2, consigue enfriarse algo.

Así pues, es difícil dilucidar cual de las dos bodegas será mejor para la crianza biológica: una será mejor para la tercera escala, la otra para primera y segunda.

En la Figura n.3, representamos la evolución anual de la temperatura ambiente frente a la temperatura del vino (año 1987).

Se observa perfectamente la evolución casi idéntica de ambas, lo que nos confirma que el seguimiento de uno sólo de estos parámetros es suficiente para conocer la evolución media del otro.

En la figura n.4, se reflejan los datos obtenidos en la evolución media anual del estado de la flor por escalas, expresados como porcentaje de botas con flor en buen estado. De esta representación cabe destacar:

Desde el mes de noviembre hasta el mes de junio, el estado de la flor es óptimo, independientemente de la escala. A partir del mes de junio, la flor comienza a deteriorarse, llegando a situación crítica en el mes de agosto. Este deterioro es mucho más acusado en la tercera escala, mientras que la segunda y primera escala presentan una evolución bastante pareja y mucho menos traumática.

Ya desde comienzos de septiembre y hasta principios del mes de noviembre, la flor se va recuperando lentamente, recuperando su estado óptimo.

Comparando las figuras expuestas anteriormente, cabe pensar que existe una estrecha relación entre la temperatura y el estado de la flor. Más concretamente entre la temperatura y la levadura de flor.

Surge aquí la pregunta clave: **cómo influye la temperatura sobre la levadura de flor?**

Desgraciadamente, poco o nada se ha publicado sobre este tema tan importante para nuestra zona. Las únicas referencias que hemos podido encontrar han sido los co-

mentarios del personal de las bodegas, capataces..., etc.

Las opiniones son muy variadas, abarcando un amplio abanico: desde que la flor se cae porque se desarrolla en exceso en verano gracias a las altas temperaturas, hasta que la flor se muere, se seca, por la misma razón.

Desde un punto de vista fisiológico o bioquímico, el planteamiento de este interrogante nos conduciría a una descripción detallada de una serie de procesos y reacciones a nivel celular que escapan ya del objetivo de esta comunicación. Así pues, me remitiré a expresar brevemente los que, desde nuestro punto de vista, probablemente son los principales agentes causantes de la caída de la flor, así como las consecuencias de esta caída.

Agentes causantes de la caída de la flor

Gracias a la elevada tolerancia al etanol que presenta la levadura de flor, ésta ha sido estudiada en profundidad por bastantes investigadores con distintas finalidades, siendo la principal de ellas la de la obtención de levaduras superproductoras de etanol. Basándonos en estos estudios, disponemos de una información bastante extensa que nos puede ayudar a comprender el problema.

Como extracto de todos estos trabajos, podemos considerar que son dos los agentes causantes de esta caída: **el etanol y la temperatura.**

La acción conjunta de estos dos agentes es el desencadenante de una serie de procesos y alteraciones celulares que prácticamente inhiben el desarrollo de la flor.

El mecanismo por el que actúa el etanol, no está hoy día muy claro (2). En la levadura altera multitud de funciones, siendo imposible definir cual de ellas es el paso clave. Actualmente se tiende a pensar que la toxicidad del etanol está asociada con su capacidad para interactuar con las membranas celulares alterando su fluidez y, como consecuencia, todas las funciones metabólicas de la levadura (fig. 5).

Intimamente relacionado con esta interacción sobre las membranas, está el hecho de que el etanol actúa en las levaduras como un mutágeno del ADN mitocondrial, dando lugar a mutantes (rho-), es decir, mutantes con mitocondrias no funcionales y por lo tanto incapaces de llevar a cabo el metabolismo oxidativo (respiración). Además se ha demostrado que el efecto letal del etanol es mayor en estos mutantes según AGUILERA (4).

Según JIMENEZ (5), los mutantes (rho-) de las cepas de flor pierden la capacidad para formar velo. Afortunadamente, las levaduras de flor presentan una gran resistencia a la mutación, dando frecuencias de mutación muy bajas si se comparan con otras levaduras (TABLA I).

Se ha demostrado que la toxicidad del etanol aumenta cuando aumenta la temperatura, y aquellas levaduras que son más tolerantes al etanol también lo son a la temperatura. Según VAN UDEN (3), "la presencia de etanol fortalece el efecto letal de las altas temperaturas (muerte térmica), y disminuye la temperatura máxima de crecimiento; por otra parte la capacidad de una cepa de levadura para resistir el efecto inhibitorio del etanol disminuye cuando aumenta la temperatura". (TABLA II).

Este autor también afirma que "las altas temperaturas provocan un aumento en la frecuencia de mutación [rho-], por lo que el efecto mutagénico del etanol se ve favorecido a altas temperaturas".

Consecuencia lógica de lo expuesto anteriormente, es el hecho de que la acción

conjunta de estos dos factores aumentan considerablemente el "tiempo de generación" de las levaduras, como se expone en la Fig. 6. En ella se observa que a una temperatura de 22 C, y un contenido alcohólico del 15% V/V, el tiempo de generación ha aumentado exponencialmente.

Sintetizando todo lo expuesto anteriormente, los efectos del etanol + temperatura en la flor, serían:

- Incremento sustancial del efecto inhibitor del etanol, aumentando la mortalidad y prolongando el tiempo de generación.

- Aumento en la frecuencia de mutación [rho-].

Como consecuencia de estos procesos, la flor sufre un deterioro importante, llegando incluso a desaparecer en algunos casos.

Para una mayor comprensión del proceso en conjunto, debemos señalar aquí que la levadura de flor que se desarrolla sobre vinos con 15-15.5 GL, en condiciones ambientales favorables, presenta una viabilidad muy baja, según datos de GARCIA MAIQUEZ (6), Fig. 7.

La levadura se encuentra en el vino en condiciones límites, por lo que no es de extrañar que las pequeñas diferencias de temperaturas encontradas en las distintas escalas de las soleras sean las causantes de las diferencias encontradas en el estado de la flor en éstas.

Consecuencias de la caída de la flor

Teniendo en cuenta la doble funcionalidad del velo en la bota, es decir, como agente de crianza y como capa aislante del vino que evita su oxidación, las consecuencias de su desaparición serán:

- Paralización de la crianza.

- Oxidación del vino.

- Sin adentrarnos en la repercusión económica de esta caída del velo, que la tiene, y mucha, vamos a basarnos sobre todo en la influencia que la caída del velo tiene sobre el aumento del oxígeno atmosférico dentro de la bota y sus distintos comportamientos y consecuencias. Con este objetivo se emprendió el seguimiento que se describe a continuación.

Relación "% oxígeno atmosférico-estado de la flor"

Punto de partida obligado es conocer los valores de oxígeno atmosférico que se dan cuando la flor se encuentra en estado óptimo. Se realizó un muestreo de enero a abril, obteniendo los resultados medios que se expresan en la figura 8. En ella destaca el incremento importante aportado por el rocío, que ya en la primera semana es totalmente consumido por la flor, llegando a niveles más bajos que los que existían antes de rociar. Los valores máximos no sobrepasan el 15%, siendo los valores medios siempre menores del 5%.

Apuntar aquí que todas las botas de solera poseen un pequeño registro, de 2,5 cm. de diámetro, con un tapón de corcho. Este dato es importante, ya que hemos comprobado que la existencia o no de registro, influye en los contenidos medios de oxígeno.

La existencia de estos registros es fundamental para facilitar la renovación del aire dentro de la bota, provocando corrientes de aire y facilitando el desarrollo de la levadura.

Observando los datos de la TABLA III se comprueba que retirar el tapón de la bota para que “respire” no tiene ningún efecto, o es mínimo, sobre el contenido, no siendo así en el caso de retirar ambos tapones, donde los valores se aproximan bastante al contenido normal en oxígeno del aire.

Destacar también en esta tabla cómo los contenidos iniciales de las botas con velo defectuoso son mucho más elevados.

Si se realiza un seguimiento de los contenidos en oxígeno en una solera durante el verano, se obtienen valores medios más elevados, debido al mal estado de la flor (Fig. 9).

Esta gráfica nos recuerda a la que representa la evolución del estado de la flor. En ambas la evolución de primera y segunda escala es paralela, teniendo un comportamiento distinto la tercera.

Como consecuencia de estos altos contenidos en oxígeno que se dan durante el verano, el vino sufre una serie de procesos oxidativos que le hacen perder su finura característica y que no son objeto de la presente comunicación.

Finalmente, exponemos las que, desde nuestro punto de vista, son las posibles vías de ataque para solucionar el problema de la caída de la flor. Estas serían:

- * Controlar las condiciones ambientales.
 - Métodos tradicionales.
 - Métodos modernos.
- * Microbiología.
 - Selección natural de una cepa resistente.
 - Creación de la cepa usando técnicas de ingeniería genética.

CONCLUSIONES

A modo de conclusiones finales a extraer de los datos aquí presentados, podemos considerar:

- 1) La temperatura ambiente juega un papel crítico en la crianza biológica, reforzando la acción inhibitoria del etanol sobre la levadura.
- 2) Las bodegas de crianza tradicionales amortiguan las inclemencias del verano, pero son incapaces de mantener un estado óptimo de crianza.
- 3) Debido al gradiente térmico formado en el verano, la temperatura del vino aumenta considerablemente según la escala, incidiendo negativamente sobre el estado de la flor.
- 4) Desde nuestro punto de vista, manteniendo una temperatura ambiente de 18-20 grados C, dentro de la bodega de crianza, el proceso de crianza biológica será óptimo y constante durante todo el año.
- 5) Son preferibles grandes bodegas, con grandes almacenados, que por poseer una gran inercia calorífica, impiden que se alcancen temperaturas extremas en verano.
- 6) La necesaria renovación del aire de la bodega debe hacerse a horas en las que el efecto térmico no incide sobre la temperatura del vino.

BIBLIOGRAFIA

1. GARCIA DEL BARRIO, I.: "Las bodegas del vino de Jerez". Cuaderno INIA, n. 16, 1984.
2. D'AMORE, T.; STEWART, G.: "Ethanol tolerance of yeast". Enzyme Microb. Technol., 1987, vol.), pp. 322-330.
3. VAN UDEN, : Adv. Microbiol. Physiol. 25, 1984, pp.195-248.
4. AGUILERA, A.: Arch. Microbiol, 142, 1985, pp.389-392.
5. JIMENEZ, J.; BENITEZ, T.: Appl. Microbiol. Biotechnol., 25, 1986, pp. 150-154.
6. GARCIA MAIQUEZ, E.: "Aplication a l'oenologie des progrès récents en microbiologie et en fermentation". O.I.V. 1988, pp. 341-372.

FIGURA Nº 1

EVOLUCION TEMPERATURA DEL VINO
EN BODEGA Nº 1

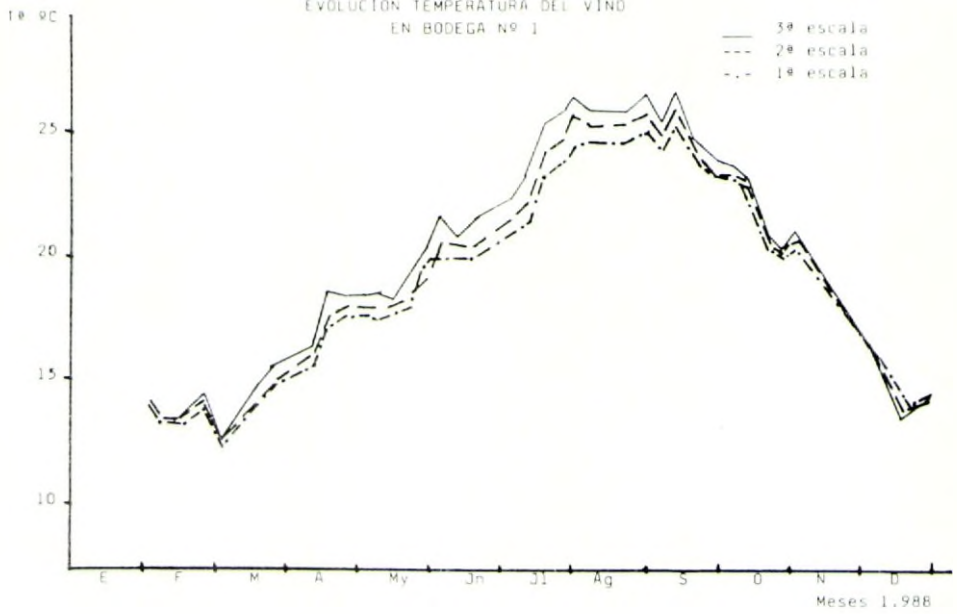


FIGURA Nº 2

EVOLUCION TEMPERATURA DEL VINO
EN BODEGA Nº 2

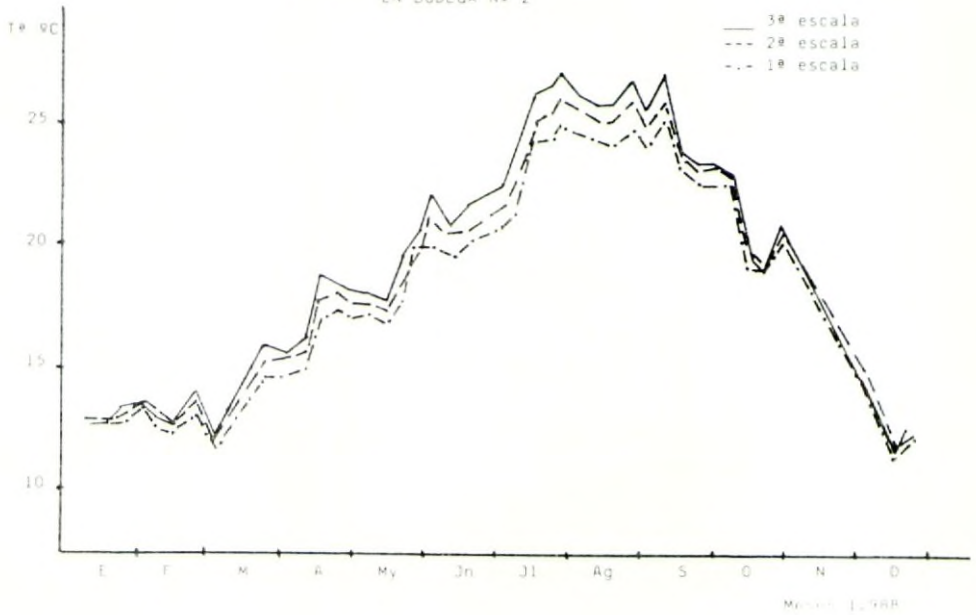


FIGURA Nº 3

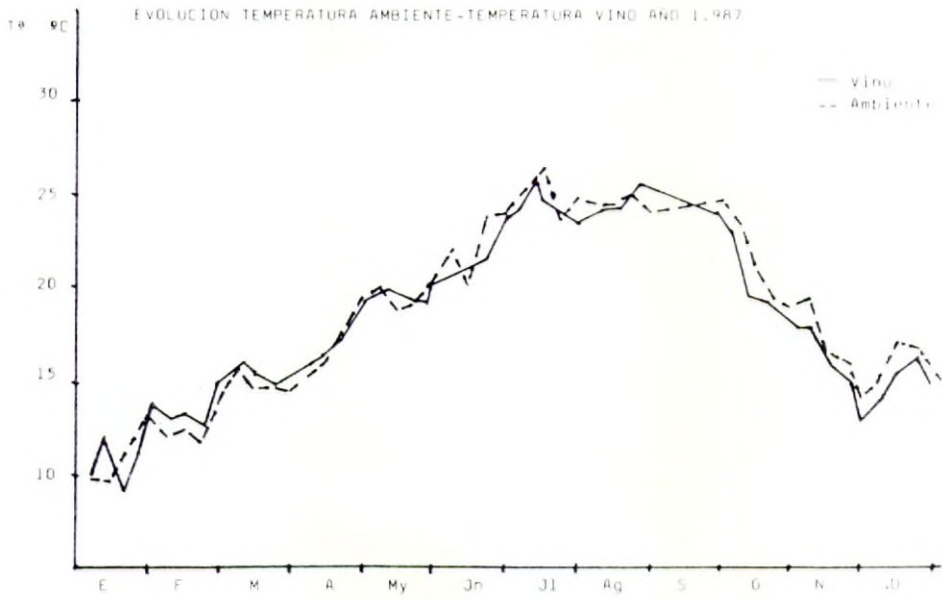


FIGURA Nº 4

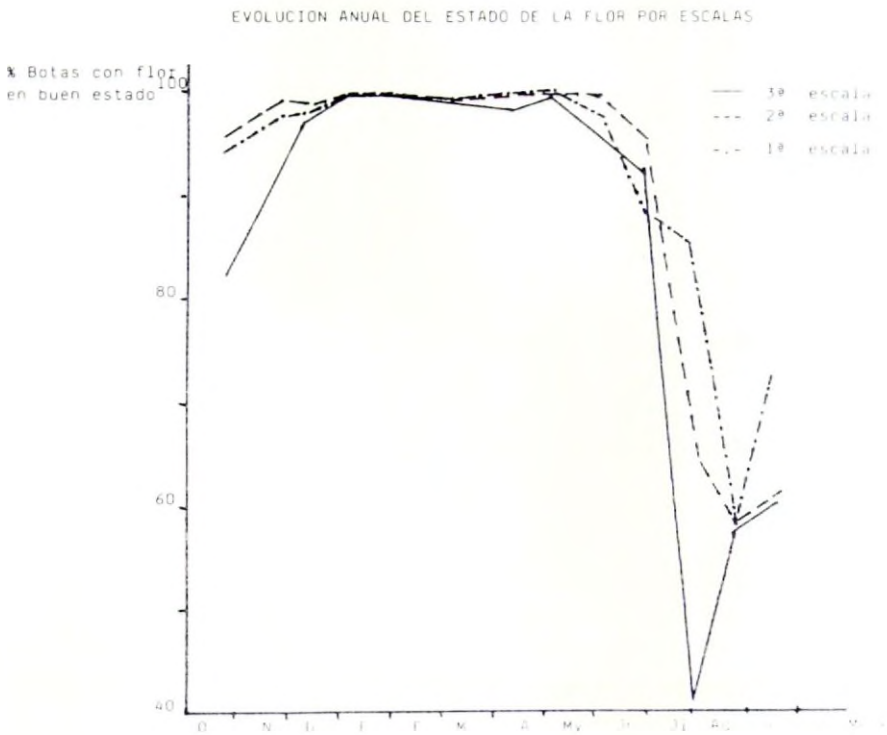


TABLA I

(JIMENEZ, BENITEZ, 1.987)

Percentage of spontaneous rho-mutants (YPD) and ethanol-induced rho-mutants (YPD 8% ethanol) of the strains described below.

| Strain | <u>rho</u> -mutants (%) | |
|--------|-------------------------|-------------------|
| | YPD | YPDE (8% ethanol) |
| ABQ21 | 2.4 | 21.7 |
| K5-5A | 5.6 | 23.8 |
| ACA4 | 0.1 | 0.4 |
| ACA21 | 0.2 | 0.9 |
| ACA174 | 0.4 | 0.3 |
| IF182 | 0.6 | 0.4 |
| IF1256 | 0.5 | 2.9 |
| FJF206 | 2.3 | 1.4 |
| FJF414 | 1.0 | 1.2 |

Results are the average of five trials

TABLA II

(JIMENEZ, BENITEZ, 1.987)

Maximal temperature for growth (T_{maxg}) and for survival (T_{maxs}) ($^{\circ}C$) of the strains described, in YPD and in YPDE (10% ethanol) media.

| Strain | Media | | | |
|----------|------------|------------|--------------------|------------|
| | YPD | | YPDE (10% ethanol) | |
| | T_{maxg} | T_{maxs} | T_{maxg} | T_{maxs} |
| ABQ21 | 38.0 | 42.0 | 25.0 | 27.2 |
| K5-5A | 39.0 | 42.5 | 26.0 | N.D. |
| D517-4B | 39.0 | N.D. | 26.2 | N.D. |
| RBV-D5A | 39.0 | N.D. | 27.0 | N.D. |
| ACA4 | 41.5 | 46.0 | 30.0 | 30.0 |
| ACA21 | 40.5 | 46.0 | 28.7 | N.D. |
| ACA174 | 41.0 | 46.0 | 28.7 | 30.5 |
| IF1256 | 40.5 | N.D. | 27.7 | N.D. |
| FJF206 | 37.0 | 46.0 | 29.5 | 30.5 |
| FJF414 | 36.0 | 46.0 | 31.0 | 32.0 |
| FSP414/6 | 36.0 | 46.0 | 30.5 | N.D. |
| FDH1 | 41.5 | 46.0 | 32.5 | N.D. |

N.D. = non determined

Results are the average of 4-5 trials

FIGURA Nº 5

(D'AMORE, STEWART, 1.987)

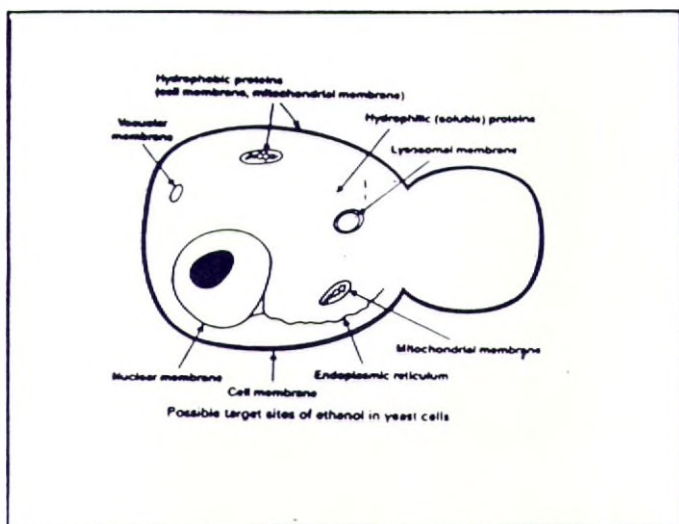
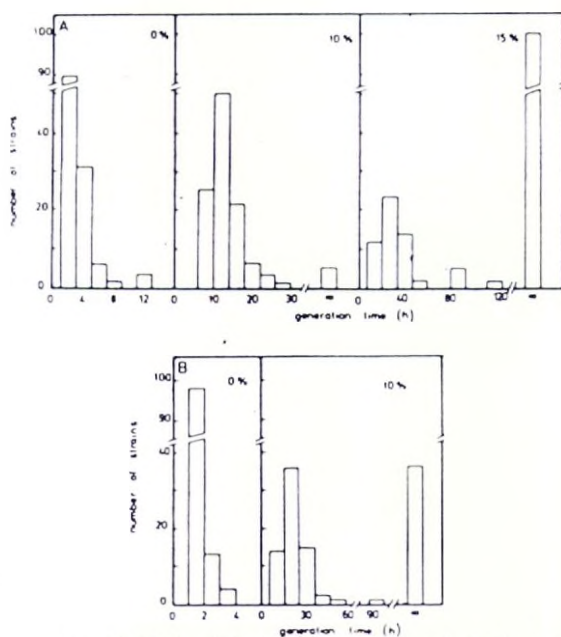


FIGURA Nº 6

(BENITEZ y COL., 1.983)



Generation times of 106 preselected wine yeast strains in YPD containing the indicated concentrations of ethanol. (A) Incubation at 22°C. (B) Incubation at 17°C.

TABLA 111

DATOS SOBRE LA VARIACION DE OXIGENO ATMOSFERICO QUE SE PRODUCE
AL DESTAPAR LA BOTA DURANTE 6 HORAS.

| Solera | Bota | Destapado | % O ₂ (8'00) | % O ₂ (14'00) | Estado flor |
|-------------|------|------------------|-------------------------|--------------------------|--------------------|
| Cuarteles A | 75 | Tapón | 2'1 | 3'75 | Bien |
| " | 76 | " | 1'2 | 3'2 | " |
| " | 77 | " | 1'45 | 2'5 | " |
| Infanta | 464 | " | 11'5 | 13'1 | Bien. Algo hundido |
| " | 465 | " | 2'8 | 10'2 | Bien |
| " | 466 | " | 2'15 | 5'4 | " |
| 1/120 | 14 | " | 1'2 | • 18'0 | " |
| " | 15 | " | 9'0 | • 18'5 | Hundido |
| " | 16 | " | 6'3 | • 19'0 | Algo hundido |
| Bajamar | 506 | " | 3'85 | 3'9 | Bien |
| " | 507 | " | 2'0 | 3'3 | " |
| " | 508 | " | 2'5 | 4'4 | " |
| Cuarteles A | 75 | tapón y registro | 2'45 | 17'5 | " |
| " | 76 | tapón y registro | 1'45 | 18'2 | " |
| " | 77 | tapón y registro | 1'45 | 18'3 | " |
| Infanta | 464 | tapón y registro | 9'8 | 19'0 | Bien. Algo hundido |
| " | 465 | tapón y registro | 2'9 | 17'5 | Bien |
| " | 466 | tapón y registro | 2'3 | 17'5 | " |

(*) Se encontró el registro destapado a las 14'00 horas.

FIGURA No 7

(G. S. I. S. I. A. M. A. I. G. U. E. I. A. - 1. 9. 8. 8.)

VIABILITY EVOLUTION OF FILM YEASTS AT LABORATORY LEVEL

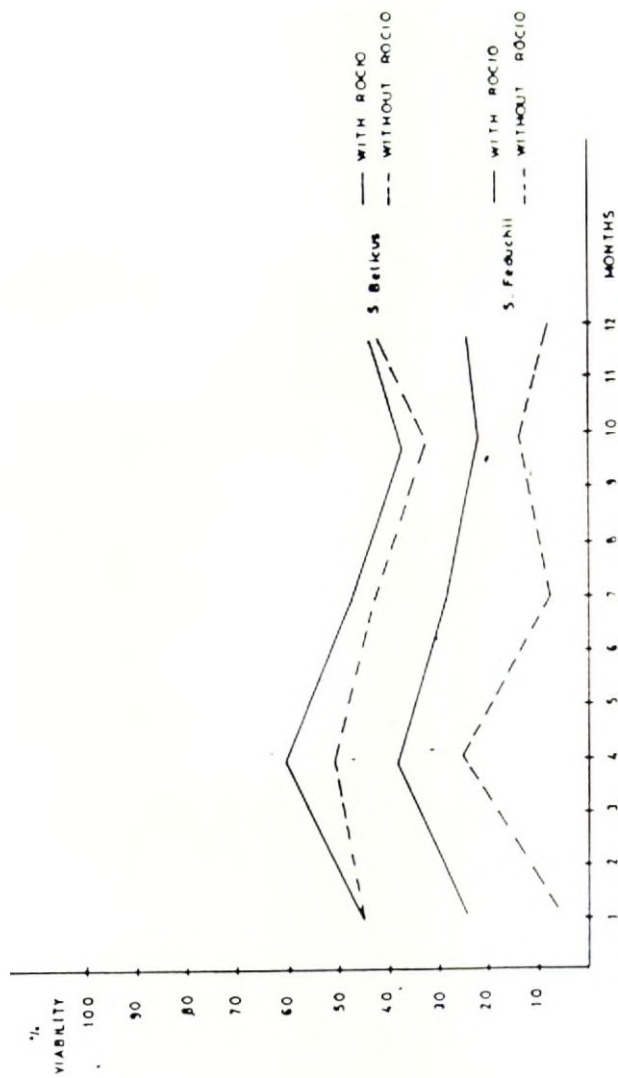


FIGURA Nº 8

EVOLUCION DEL CONTENIDO EN OXIGENO ATMOSFERICO EN LA EPOCA FAVORABLE

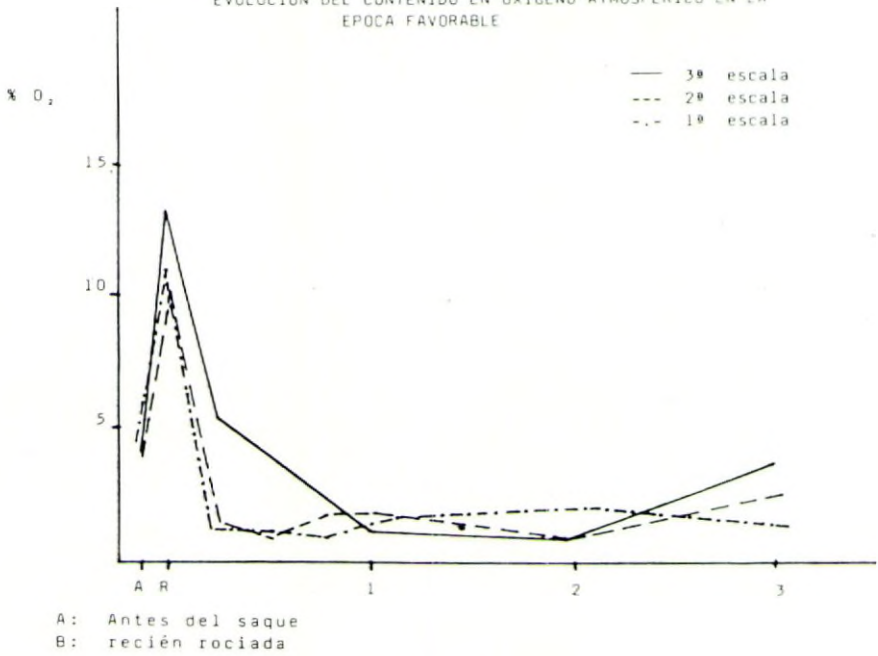
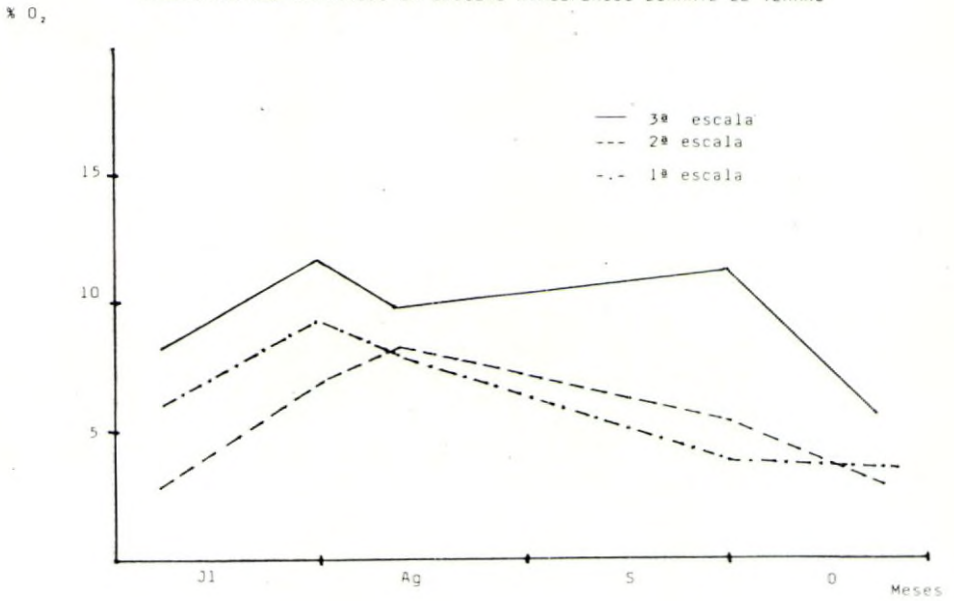


FIGURA Nº 9

EVOLUCION DEL CONTENIDO EN OXIGENO ATMOSFERICO DURANTE EL VERANO



PARTICIPACION DE LOS COMPUESTOS POLIFENOLICOS EN LA CARACTERIZACION Y DIFERENCIACION DE LOS VINOS FINOS DE JEREZ

**CARMELO GARCIA BARROSO, PILAR LÓPEZ PEREZ, FERNANDO MERELLO,
ERNESTO BRU MARQUEZ y JUAN ANTONIO PEREZ-BUSTAMANTE**

**Departamento de Química Analítica. Facultad de Ciencias
Universidad de Cádiz. Apto. 40. Puerto Real. Cádiz**

RESUMEN

En el presente trabajo se ha estudiado la participación de los compuestos polifenólicos de forma individualizada mediante la HPLC, en la posible caracterización y diferenciación del vino fino de Jerez, para ello se han estudiado una serie de muestras de vino fino, tanto de vino no acabado, concretamente antes de entrar en el sistema de soleras y otras muestras de vino ya acabado. Estas muestras se han adquirido de la denominación de origen Condado de Huelva. Montilla-Moriles y se han comparado con muestras de la denominación de origen Jerez-Xéres-Sherry. Y finalmente se ha comparado un análisis de cata con el de polifenoles con vistas a su diferenciación, con dos muestras de vino varietales.

El conjunto de datos obtenidos se han sometido a un análisis multivariante, concretamente un análisis lineal discriminante, que permite seleccionar aquellos picos que participan en la diferenciación, lógicamente si existe tal discriminación o diferenciación, y además obtiene el grado de dicha clasificación o diferenciación y finalmente nos da el histograma resultante.

INTRODUCCION

La constitución polifenólica final de un vino, viene condicionada fundamentalmente por dos aspectos: el vitícola y tecnológico. El aspecto vitícola influye en la variedad de

la uva, el clima, las costumbres agrícolas, los tratamientos específicos de la vid, etc. Cada variedad de uva posee su potencial polifenólico cuya composición quedará fijada por los factores mencionados.

El aspecto tecnológico va a marcar de forma rotunda el contenido polifenólico de un vino, el tratamiento mecánico de la uva influirá de forma clara en la extracción de estos compuestos (1), así como los distintos procesos a los que se somete el vino según el tipo de vinificación y las costumbres vinícolas de la zona, e incluso, de cada bodega en concreto.

Numerosos autores opinan que las diferencias en los vinos procedentes de distintas variedades son, tanto cuantitativas como cualitativas. La mayoría de los trabajos realizados en este sentido se han centrado fundamentalmente en el estudio de los grupos o familias de polifenoles, aplicados a vinos tintos.

Sin embargo gracias a la HPLC es posible el estudio individualizado de compuestos polifenólicos y así de esta forma se puede estudiar la participación de éstos en la diferenciación de los vinos.

Dado que son muy numerosos los compuestos polifenólicos presentes en el vino, para establecer si éstos participan en la diferenciación, es necesario el empleo de técnicas de análisis multivariante, como el análisis lineal discriminante (LDA) que permite tratar un gran número de datos y detectar si existen diferencias estadísticas entre el conjunto de muestras analizadas, así como seleccionar aquellos compuestos que participan en la diferenciación o clasificación de los vinos estudiados.

MATERIAL Y METODO

A las muestras de vino se les ha obtenido su perfil polifenólico característico mediante una extracción previa (2) y sometiendo el extracto a la cromatografía líquida de alta resolución, en las condiciones cromatográficas seleccionadas anteriormente por los autores (3), cuantificando e identificando en la medida que ha sido posible, los picos obtenidos.

El análisis lineal discriminante se ha realizado con el paquete estadístico BMDP del Centro de Cálculo de la Universidad de Cádiz, que permite mediante un programa adecuado especificar los picos cromatográficos considerados como variables y además podemos mediante la orden oportuna seleccionar aquellas variables que queremos someter al análisis. Una vez rodado el programa, si existe alguna clasificación, éste nos da la función de clasificación especificando aquellos picos o variables que han resultado suficientes para obtener la clasificación, con la combinación lineal de los distintos grupos obtenidos, nos da también el grado o probabilidad de la clasificación obtenida asignando las distintas muestras analizadas a los grupos diferentes obtenidos y finalmente se obtiene una gráfica con la distribución y distancia de las nubes de puntos correspondientes a todos los casos o muestras analizadas.

RESULTADOS Y DISCUSION

Así los perfiles obtenidos para los vinos no acabados, podemos apreciarlos en la figura 1, donde se presentan los perfiles tipo de las tres denominaciones de origen compa-

radas, se observa como los tres perfiles son sustancialmente diferentes, resalta el primer pico que es bastante alto en las dos primeras, sin embargo en el de Jerez es bastante bajo, y sobre todo resalta la altura del pico de la zona central de Montilla-Moriles con respecto a los otros, y en el de Jerez se puede observar un pico que no existe en el de Huelva y apenas existe en el de Montilla.

Si bien la visualización del perfil nos da una orientación de la diferencias entre estas muestras, el análisis lineal discriminante (fig. 2) nos da una clasificación entre estas muestras del 100% y la combinación lineal de aquellos picos que son capaces de discriminar dichas muestras y la separación entre ellas. Tenemos por tanto, que estas muestras de vino no acabado son perfectamente diferenciables considerando estos compuestos polifenólicos.

En cuanto a los perfiles obtenidos para las muestras de vino ya acabado, se presentan en estas gráficas (fig. 3) algunos ejemplos de muestras de Jerez, donde podemos apreciar como existen pequeñas diferencias sobre todo en algunas alturas de picos (fino E y D), otras dos muestras también de Jerez (fino F y B), presentan mayores diferencias en alturas de picos, sobre todo en la última zona y podemos resaltar el pico de la primera zona que sobresale siempre en las muestras de Jerez.

En esta otra gráfica (fig. 4) se presentan dos muestras de vino de Jerez (fino C y G), en las que podemos apreciar una diferencia notable respecto a los anteriores perfiles de Jerez, concretamente en lo que respecta a la zona central en la que se observa un pico de altura considerablemente alta, hasta el punto de saturar la sensibilidad del detector, sobre todo en el fino G, sin embargo en los picos restantes no se observan grandes diferencias con las muestras anteriores.

Respecto a los perfiles obtenidos para un vino acabado de la denominación de origen Montilla-Moriles, en la figura 5, podemos apreciar algunos ejemplos de muestras analizadas de esta denominación. Se observa como son sustancialmente diferentes respecto a los perfiles de Jerez, sobre en la zona central en la que se tiene dos picos bastante altos, que recuerdan las últimas muestras de Jerez mostradas en la figura 4. Además también puede observarse como también la primera zona es muy diferente a los de Jerez, salvo la última zona que no se encuentran diferencias considerables.

En cuanto al resultado del análisis lineal discriminante entre las muestras de Jerez y de Montilla-Moriles, reflejado en la figura 6, se observa las dos nubes de puntos correspondientes a los dos grupos de muestras diferenciadas, obteniéndose una clasificación del 100% entre ambas denominaciones. Esta clasificación se obtiene sin considerar aquellos picos de saturación de la zona central y cuando se consideran estos picos, entonces la clasificación obtenida es peor encontrándose las dos muestras de Jerez (fino C y G) en el grupo de las de Montilla-Moriles.

Un aspecto que también se ha considerado en este estudio es la posibilidad de distinguir vinos de una misma denominación de origen, así la clasificación obtenida para el caso de los vinos finos de Jerez se muestra en la figura 7, observándose como las distancias lógicamente son más pequeñas, aunque se diferencian perfectamente (clasificación del 100% con una combinación lineal de 12 picos).

Podemos por tanto diferenciar los vinos finos de Jerez con respecto a otras denomi-

naciones de origen, aunque aquí tan sólo se han comparado con dos de ellas, teniendo en cuenta que son quizás las de mayor parecido con los mostos de Jerez. No obstante de los varios perfiles que disponemos de otras denominaciones de origen, pero no en número suficiente para someterlos al estudio multivariante, cabe esperar la diferenciación con otras denominaciones de origen, mediante el estudio de los compuestos polifenólicos.

Y finalmente para poner de manifiesto la gran participación que estos compuestos tienen en la diferenciación de los vinos de Jerez, se ha comparado con la diferenciación obtenida mediante el análisis de cata llevada a cabo por expertos. Así se han sometido a este estudio dos muestras de vino varietales (obtenidas con uvas Airen y Palomino de Jerez).

Los datos resultantes del análisis sensorial de estos dos vinos, que fueron expuestos en una comunicación anterior (4), sometidos al análisis lineal discriminante, obtuvieron una clasificación escasa del 80% tan sólo con el grupo de catadores denominado DOM (comité de expertos de una bodega de la zona (figura 3.a), no consiguiéndose clasificación o diferenciación alguna con los otros dos grupos de catadores: AFI (grupo de aficionados) y COE (comité de expertos del Consejo Regulador de la denominación de origen de Jerez-Xères-Sherry).

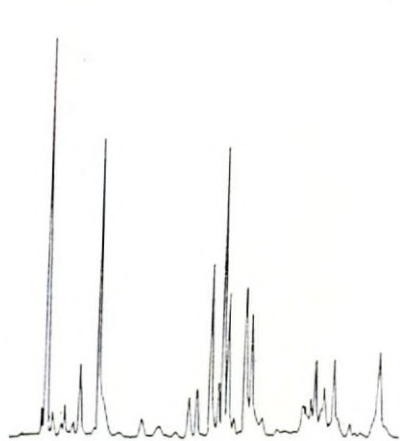
Sometiendo estos dos vinos varietales al estudio de los compuestos polifenólicos, se consigue unos perfiles cromatográficos claramente diferentes (figura 9), obteniéndose una clasificación o diferenciación ahora del 100%, como se refleja en la figura 8.b donde se presenta el histograma obtenido del LDA.

CONCLUSIONES

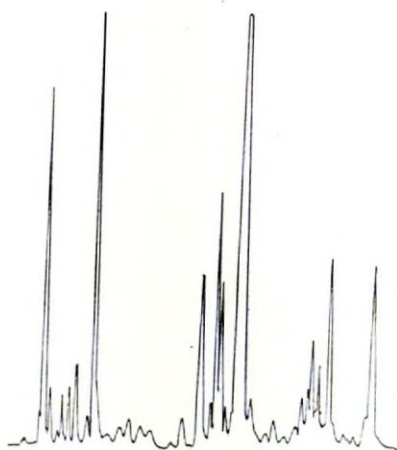
Mediante el análisis de los compuestos polifenólicos ayudado de un análisis estadístico, tipo análisis multivariante, es posible diferenciar mostos o vinos no acabados de la denominación de origen de Jerez, respecto a otras denominaciones. De la misma forma los vinos finos de Jerez son perfectamente diferenciados de otras denominaciones de origen, e incluso es posible encontrar pequeñas diferencias dentro de los finos de Jerez, suficientes para su diferenciación. Finalmente, es posible diferenciar también mediante el análisis de los compuestos polifenólicos, aquellos vinos que mediante el análisis organoléptico, no han sido diferenciados por grupos de catadores expertos.

BIBLIOGRAFIA

1. D.A. GUILLEN, C.G. BARROSO, R. CELA, J.A. PEREZ-BUSTAMANTE. Actas III Jornadas Univ. Jerez, 256-277 (1984).
2. C.G. BARROSO, R. CELA, J.A. PEREZ-BUSTAMANTE. Chromatographia, 17(5), 249-52 (1983).
3. C.G. BARROSO, R. CELA, J.A. PEREZ-BUSTAMANTE. Z. Lebensm. Unters. Forsh, 182, 413-18 (1986).
4. BELEN PUERTAS GARCIA, CARMELO GARCIA BARROSO. V Jornadas de Vitic. y Enol. de Jerez (1989).

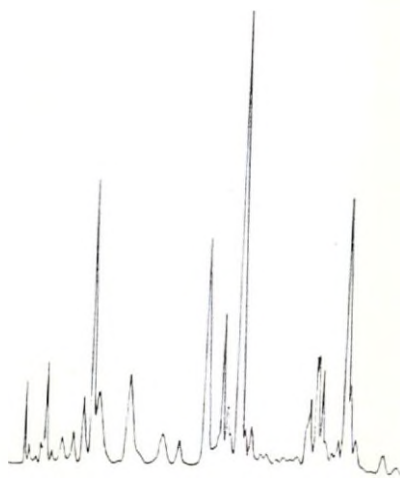


CONDADO DE HUELVA



MONTILLA-MORILES

Fig. 1 Perfiles de vino no acabado



JEREZ-XÉRES-SHERRY

OVERLAP OF DIFFERENT GROUPS IS INDICATED BY *

CLASSIFICATION FUNCTIONS

| VARIABLE | GROUP = HU | MR | JE |
|----------|------------|-----------|-------------|
| 3 B | 6.2109C | 9.19105 | -174.09656 |
| 12 K | -53.23767 | 1.50065 | 495.83432 |
| 18 R | 86.22251 | 5.04774 | -292.01846 |
| 28 RE | -90.57513 | -2.36029 | 448.26877 |
| CONSTANT | -62.75425 | -12.7602E | -1730.15186 |

JACKKNIFED CLASSIFICATION

| GROUP | PERCENT CORRECT | NUMBER OF CASES CLASSIFIED |
|-------|-----------------|----------------------------|
| HU | 100.0 | 4 |
| MR | 100.0 | 6 |
| JE | 100.0 | 3 |
| TOTAL | 100.0 | 13 |

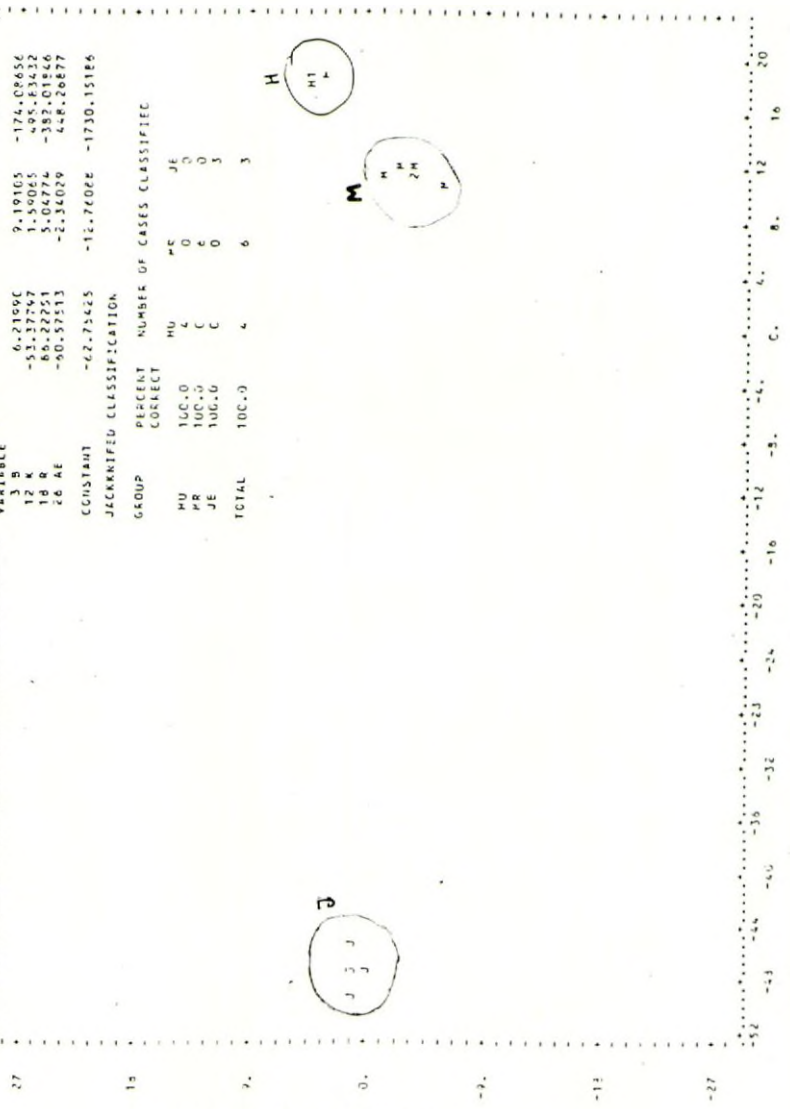


Fig. 2 LDA de vinos no acabados

FINO E

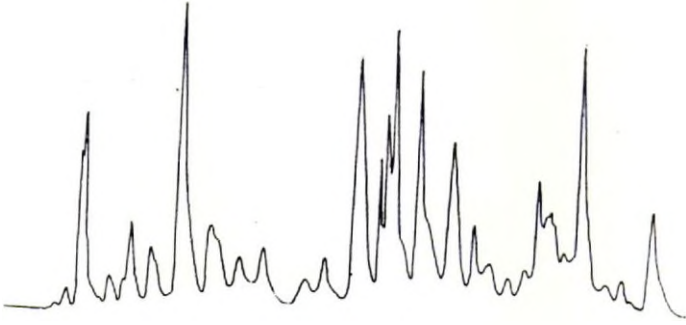
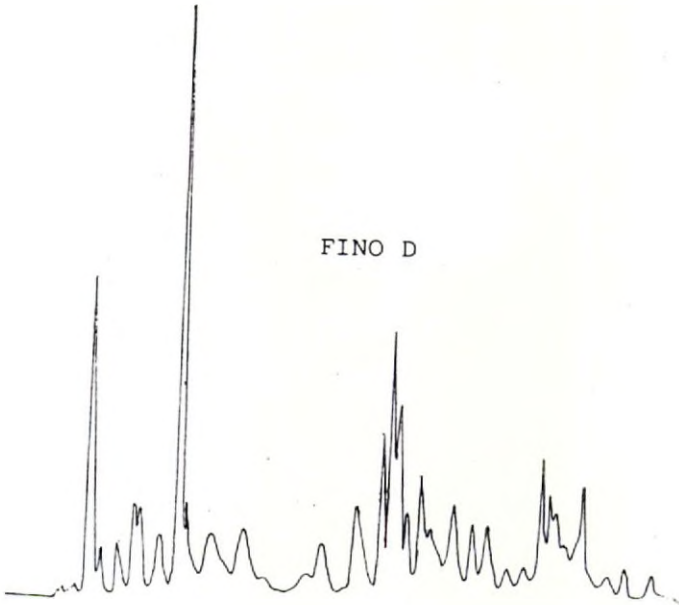


Fig.3 JEREZ-XÉRÈS-SHERRY

FINO D



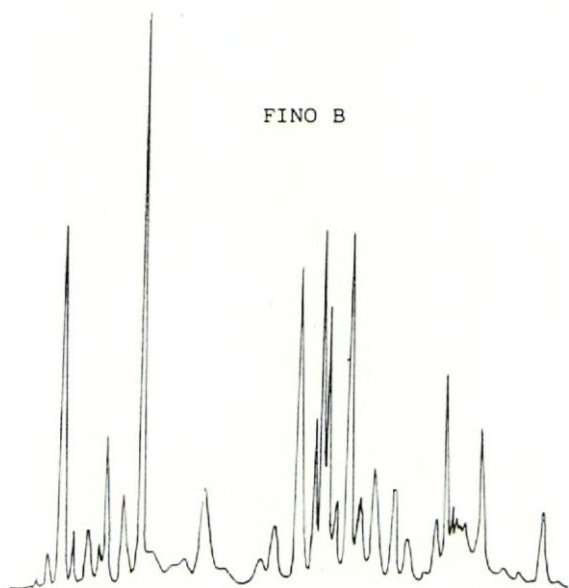
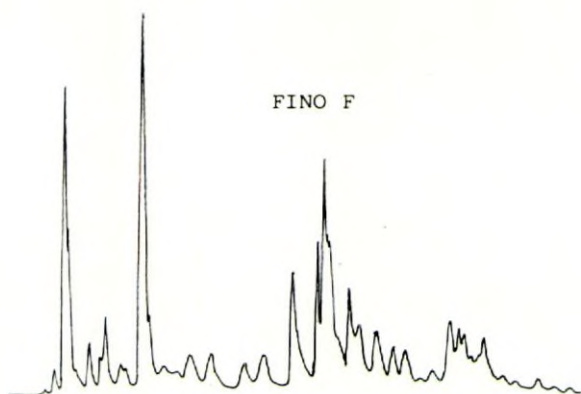


Fig.3 JEREZ-XÉRÈS-SHERRY

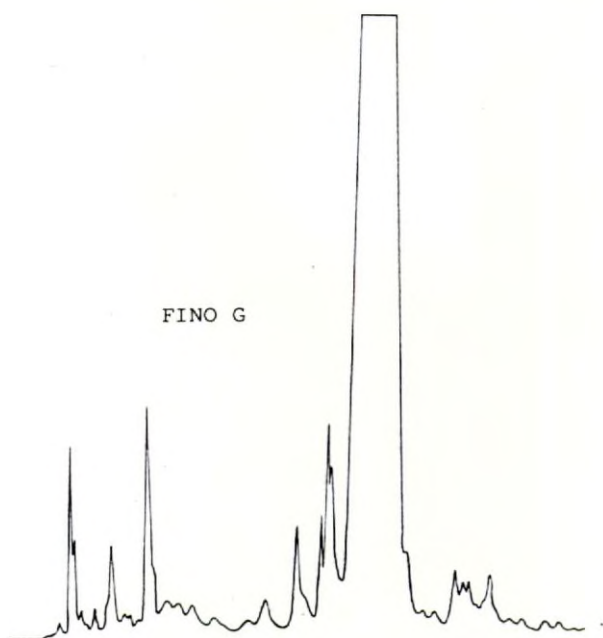
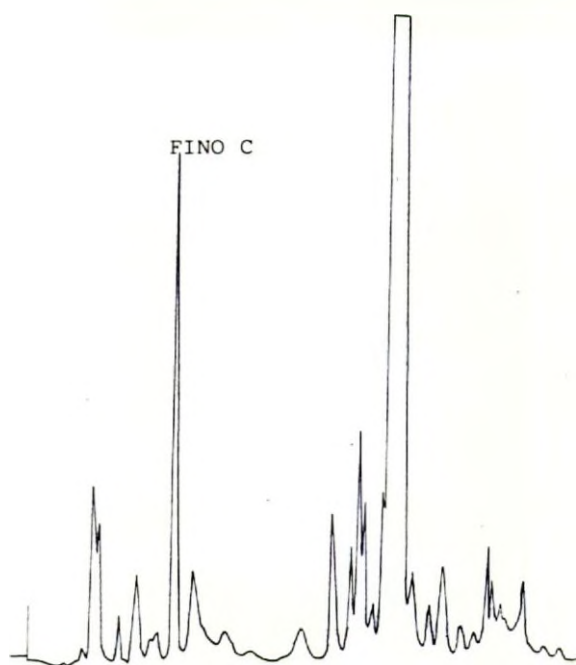
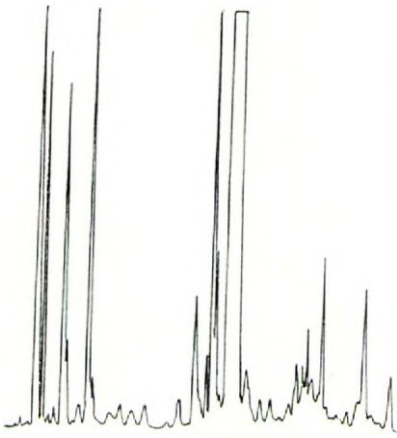
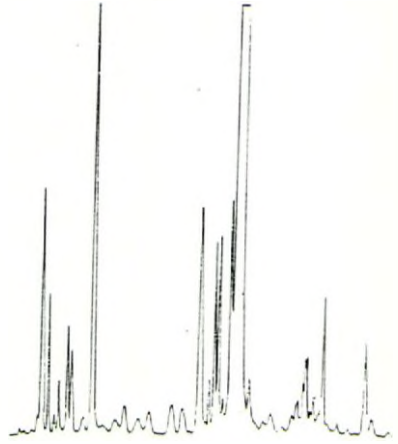


Fig.4 JEREZ-XÉRÈS-SHERRY

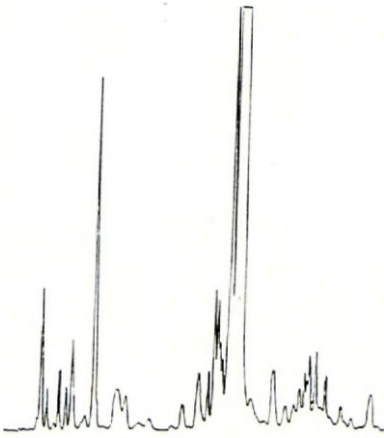


FINO A

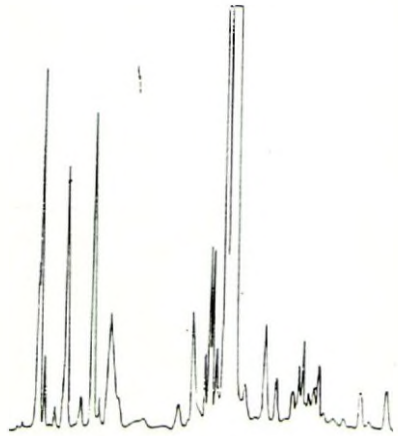


FINO B

Fig.5 MONTILLA-MORILES



FINO C



FINO D

FIGURE 17 2ND ORDER LDA DELTA JEREZ-MORILES

HISTOGRAM OF CANNONICAL VARIABLE

CLASSIFICATION FUNCTIONS

| VARIABLE | GROUP = JE | MOR |
|----------|------------|-----------|
| 4 C | -7.54281 | 21.03478 |
| 5 D | -1.42096 | 3.26640 |
| 10 I | 0.74196 | -0.18551 |
| 18 R | 6.50953 | -6.18304 |
| CONSTANT | -14.95020 | -50.31118 |

JACKKNIFE CLASSIFICATION

| GROUP | PERCENT CORRECT | NUMBER OF CASES CLASSIFIED INTO GROUP | MOR |
|-------|-----------------|---------------------------------------|-----|
| JE | 100.0 | 44 | 0 |
| MOR | 100.0 | 6 | 11 |
| TOTAL | 100.0 | 44 | 11 |

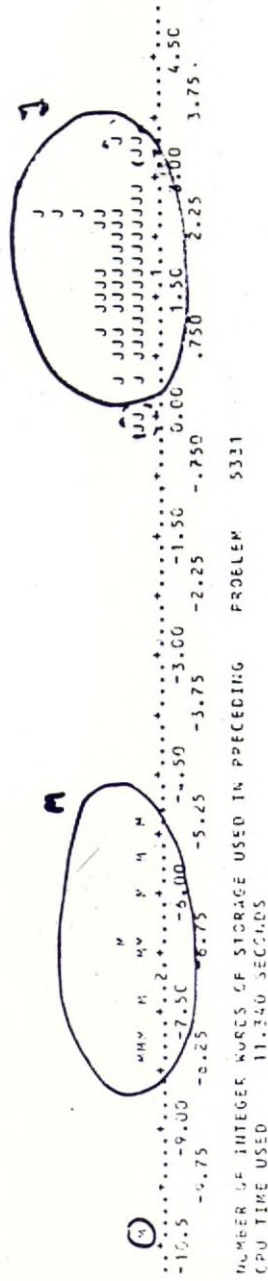


Fig.6 LDA de vinos finos de Jerez y Montilla-Moriles

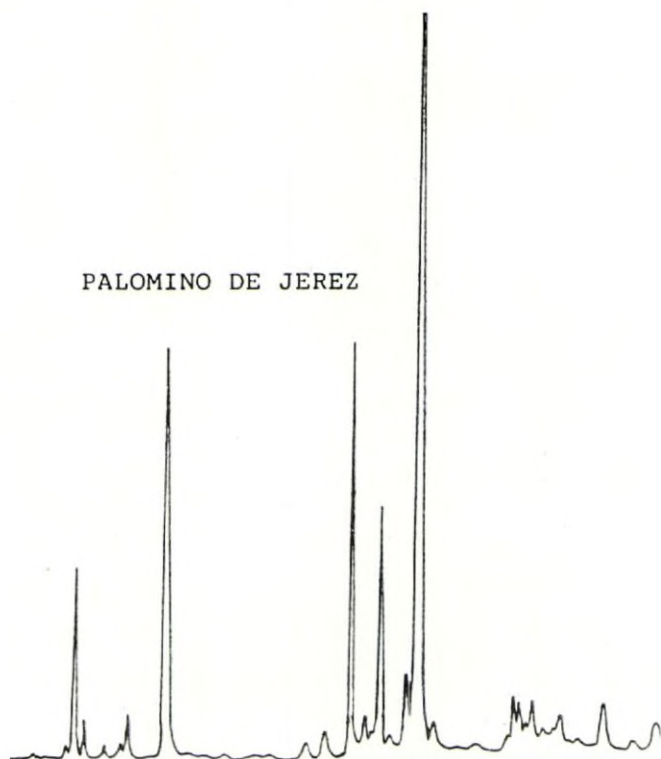
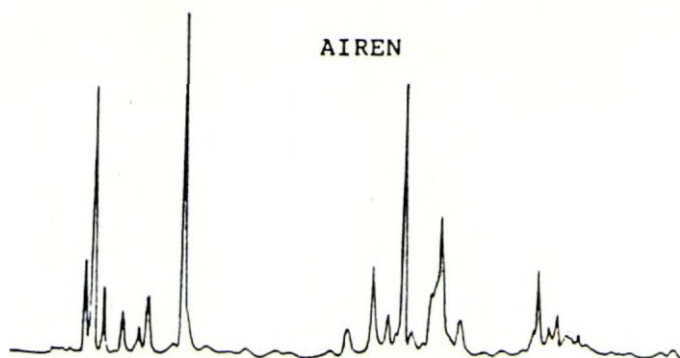


Fig.10 VINOS VARIETALES

ESTUDIO DE LOS COMPUESTOS POLIFENOLICOS EN EL FENOMENO DE REMONTADO DEL VINO FINO DE JEREZ

CARMELO GARCIA BARROSO, M.^a JOSE MARTINEZ COBOS, ERNESTO BRU MARQUEZ, RAFAEL CELA TORRIJOS y JUAN ANTONIO PEREZ-BUSTAMANTE
Departamento de Química Analítica. Facultad de Ciencias.
Apartado 40. Puerto Real. Cádiz

RESUMEN

Se ha realizado un estudio acerca de la participación de los compuestos polifenólicos en el fenómeno del remontado de vino fino de Jerez, para ello se han estudiado muestras de vino en perfecto estado de frescura, comparándose con muestras de vino a las que se les ha sometido un pardeamiento acelerado y muestras de vino que se encontraban en estado remontado pero de forma natural. Se ha comparado el papel de estos compuestos en la diferenciación entre vinos frescos y remontados respecto a los aromas minoritarios, realizando con el conjunto de datos un análisis multivariante, así como la posibilidad de distintos estados de remontado del vino fino de Jerez.

INTRODUCCION

Los alimentos en general que poseen escaso color propio y los vinos blancos en particular, intensifican su color a lo largo del tiempo. Los vinos de Jerez una vez embotellados, con el tiempo, sufren un pardeamiento acompañado de cambios desfavorables de sabor y olor, en definitiva pierden sus características organolépticas y a este fenómeno se le conoce por remontado.

En el presente trabajo se ha realizado un estudio acerca de la participación de los compuestos polifenólicos en el remontado del vino de Jerez, para ello se han estudiado la evolución de estos compuestos en muestras de vino a las que se les ha sometido a un par-

deamiento acelerado (mediante saturación con oxígeno y mantenimiento a 55°C durante 20 días) y muestras de vino que han sido almacenadas en botella, realizando un análisis cada mes, así se han estudiado una serie de botellas a las que se les ha lacrado el tapón y otra serie de botellas que fueron nitrogenadas (1). Una vez reunidos todos los datos estos fueron sometidos a un análisis de cluster, para estudiar los agrupamientos existentes entre aquellos compuestos que se comportan de forma parecida en estos seguimientos.

Con vistas a establecer un método que nos permitiera estudiar el grado de frescura o estado remontado en el que se encuentra un vino se planificó una serie de experiencias para comprobar en primer lugar si estadísticamente mediante el análisis de polifenoles es posible distinguir los distintos estados de frescura o remontado de un vino y al mismo tiempo que nos indique qué compuestos participan mayoritariamente en dicha distinción. Para ello se empleó el análisis lineal discriminante, en muestras de vinos recién embotelladas y las mismas muestras que ya se encontraban remontadas, concretamente vinos que llevaban de un año a año y medio embotelladas y también una serie de muestras que habían sido almacenadas en botellas, intencionadamente varios años, a las que hemos denominado superremontadas. Estas muestras fueron suministradas por varias bodegas de Jerez a las que aprovechamos esta ocasión para agradecerles su colaboración.

MATERIAL Y METODOS

El análisis de compuestos polifenólicos mediante la HPLC se ha llevado a cabo aplicando las condiciones puesta a punto anteriormente por los autores (2). El análisis de aromas minoritarios se ha llevado a cabo mediante una extracción rotatoria y en continuo con eter-pentano y posterior análisis mediante cromatografía de gases según las condiciones puestas a punto por los autores (3). El análisis lineal discriminante se ha llevado a cabo empleando el paquete estadístico BMDP del Centro de Cálculo de la Universidad de Cádiz.

RESULTADOS Y DISCUSION

En primer lugar, los cromatogramas obtenidos para una misma muestra de vino fresco y remontado ocurrido de forma natural, concretamente de un vino almacenado en garrafa, intencionadamente durante más de un año, presenta diferencias como puede apreciarse en esta figura (fig. 1), en la que existen picos claramente diferentes en una y otra muestra, que evidencia la participación de estos compuestos en el fenómeno.

Con vistas a esclarecer esta participación de los compuestos polifenólicos en el remontado, se sometieron una serie de muestras a un proceso de pardeamiento acelerado, controlándose el proceso a los 2, 6, 10 y 20 días (fig. 2), observándose como existen variaciones claras y contundentes en algunos picos. Sin embargo, estos cromatogramas eran diferentes a los obtenidos cuando el vino se remontaba o pardeaba de forma natural, es decir conservado en botella. Así se dispuso una partida de vino conservada en botellas, de forma que mensualmente se realizaba un control a estas botellas. En este estudio se compararon cuatro series, botellas con el tapón lacrado y sin lacrar y botellas nitrogenadas o sin nitrogenar. Así, en la siguiente figura (fig. 3) se presentan los cromatogramas obtenidos para las botellas lacradas y no lacradas, transcurridos nueve meses, frente al

cromatograma control al inicio del estudio, en la que puede observarse como la botella lacrada es la que presenta menor variación respecto al control y como la botella sin lacrar, presenta disminución de algunos picos, al contrario de lo que ocurría en el pardeamiento acelerado. En el caso de las muestras nitrogenadas, puede apreciarse (fig. 4) como prácticamente no existe diferencias entre lacrar o no el tapón y puede decirse que gracias al afecto del nitrógeno estos compuestos apenas varían coincidiendo con el estudio paralelo de color que se realizó, tardando estas mucho más en alcanzar el remontado.

En lo que concierne a la variación de los compuestos polifenólicos de bajo peso molecular, una vez reunidos todos los datos estos fueron sometidos a un análisis de cluster. El objeto de este tratamiento ha sido el establecimiento de posibles clases de comportamiento, es decir, tratar de averiguar qué especies pueden considerarse que evolucionan de una forma similar a lo largo de la conservación en botellas. Para este estudio se ha seleccionado finalmente aquellas especies para las cuales se disponía de datos cuantitativos fiables en toda la serie. Los resultados finales del cálculo se expresaban en forma de dendrograma, como se aprecia en la figura 5 donde se presentan los resultados para las series de botellas sin nitrogenar. Puede apreciarse diferencias entre las dos series, por lo que el efecto de lacrar el tapón, hace que el comportamiento de las especies sea diferente, sobre todo para el caso de los algunos ácidos cinámicos. En general se ha observado una variación más suave en casi todos los componentes estudiados cuando el vino se conserva con el tapón lacrado, evitándose en parte la oxidación de estos.

En cuanto a las botellas nitrogenadas puede apreciarse en la fig. 6, como los agrupamientos son diferentes que en los casos de las botellas no nitrogenadas y además el comportamiento de estos compuestos es idéntico cuando se lacra o no el tapón, no observándose apenas variación en estos compuestos cuando se conservaba el vino en estas condiciones.

Ya que con el pardeamiento acelerado, al menos desde el punto de vista polifenólico se conduce a una situación diferente que con el pardeamiento natural, con la intención de establecer un método que nos indique el grado de frescura de un vino y posiblemente la resistencia al pardeamiento, se planificó una experiencia consistente en someter los vinos en perfecto estado, es decir recién embotellados, y el mismo vino en un estado evidente de remontado, a un análisis lineal discriminante, con vistas como hemos visto en la anterior comunicación a establecer si estadísticamente los compuestos polifenólicos son capaces de distinguir estos estados diferentes del vino y en el supuesto que esto ocurra establecer qué compuestos participan en la diferenciación entre un vino fresco y un vino remontado. Así con estos dos grupos de muestras, se obtuvieron los análisis correspondientes a los compuestos polifenólicos mediante HPLC y además también se analizaron mediante cromatografía de gases, los aromas minoritarios.

El resultado de LDA de estos dos grupos de muestra se observa en la figura 7 donde se aprecia la nube de puntos de los vinos frescos y la nube de puntos de los vinos remontados, perfectamente diferenciadas, obteniéndose una probabilidad o grado de clasificación del 100% y esta clasificación se consigue con la combinación lineal de los picos o compuestos polifenólicos (B, C, R y S) y un compuesto aromático (B22).

Cuando se sometieron estas mismas muestras al análisis lineal discriminante pero

tratando solamente los datos procedentes de la cromatografía de gases, se obtuvo esta clasificación en la que puede observarse como la probabilidad es pequeña y además se aprecia como muchos casos de muestras remontadas están incluidos en la nube de puntos correspondientes a las muestras de vinos frescos (fig. 8).

Sin embargo, cuando se sometieron solamente los datos de polifenoles a este tratamiento (fig. 9), se obtuvo una probabilidad de clasificación del 100%, donde se encuentran las dos nubes de puntos perfectamente diferenciadas, aunque si bien hay que hacer constar que cuando se sometieron el conjunto de datos de HPLC y gases, la distribución de las dos nubes de puntos estaban algo mejoradas de hecho un pico procedente de gases participaba en la combinación lineal discriminante.

Para estudiar si los compuestos polifenólicos eran capaces de distinguir distintos estados de remontado se trataron una serie de muestras denominadas super-remontadas con las remontadas y con los vinos frescos, obteniéndose la clasificación de la fig. 10, en la que se aprecia un 100% de probabilidad de clasificación para frescos y remontados, como ya habíamos apreciado antes y para el conjunto de vinos superremontados se obtiene una clasificación del 87%, observándose como se escapan dos muestras de la nube de superremontados, lo que en principio es algo lógico ya que estas muestras no todas llevaban el mismo tiempo almacenadas.

Cuando se sometieron a este tratamiento solamente los datos de provenientes de la cromatografía de gases se obtuvo una nube de puntos en la que están mezclados los tres tipos de vinos, frescos, remontados y super-remontados (fig. 11), en la que es difícil establecer alguna diferenciación, tan sólo un escaso número de muestras remontadas agrupadas entre sí.

Sin embargo cuando se trataron solamente los datos de HPLC (fig. 12), se obtuvo una diferenciación con una probabilidad global del 98%, dada por la distribución de las muestras superremontadas, escapándose dos de ellas de la nube, al igual que ocurría con el conjunto de datos.

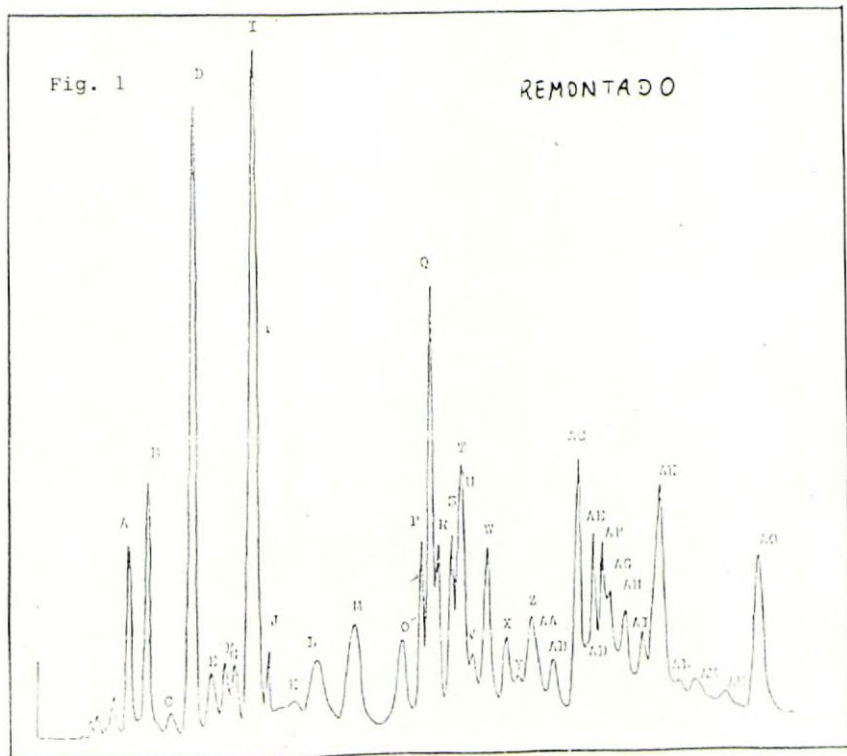
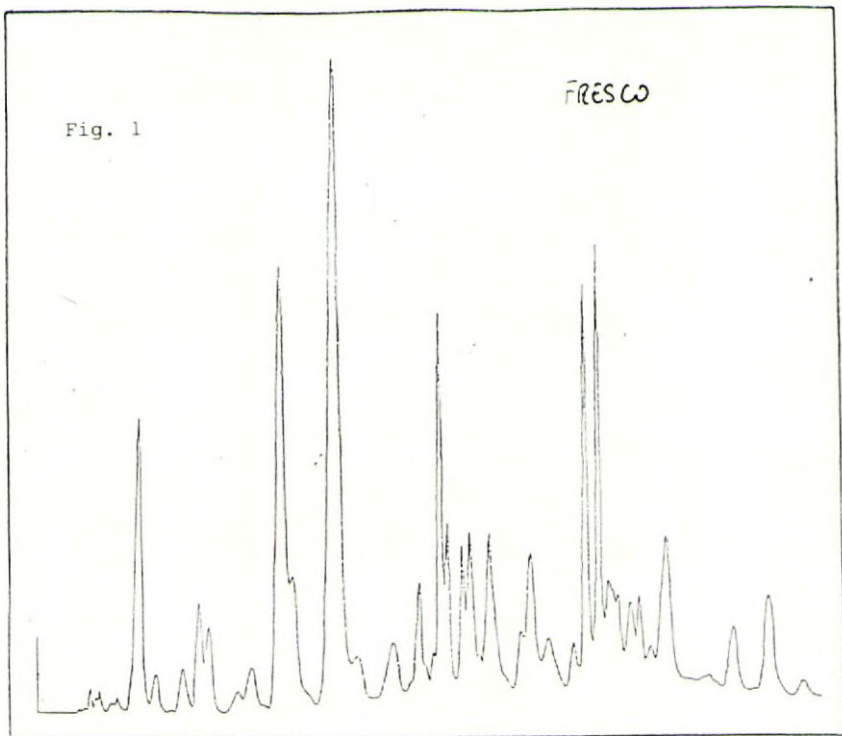
CONCLUSIONES

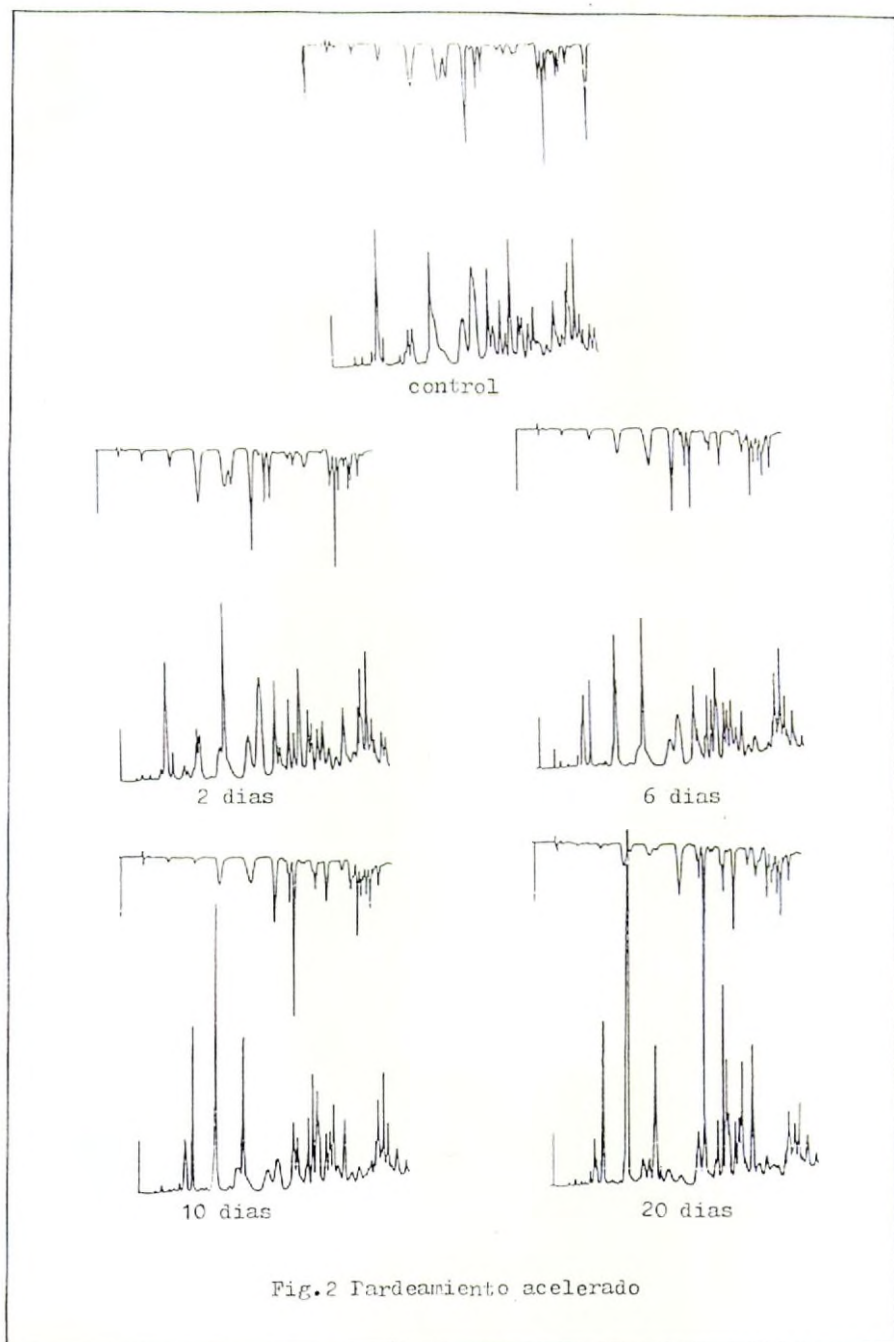
Se ha comprobado como las muestras sometidas a un pardeamiento acelerado conducen a un estado diferente al ocurrido de forma natural. Se ha podido observar como no todos los compuestos evolucionan con el pardeamiento de forma parecida, conservados en botella y como cuando las botellas mantienen su tapón lacrado y sobre todo han sido nitrogenadas, estos compuestos varían en menor grado (el vino ofrece una mayor resistencia al remontado).

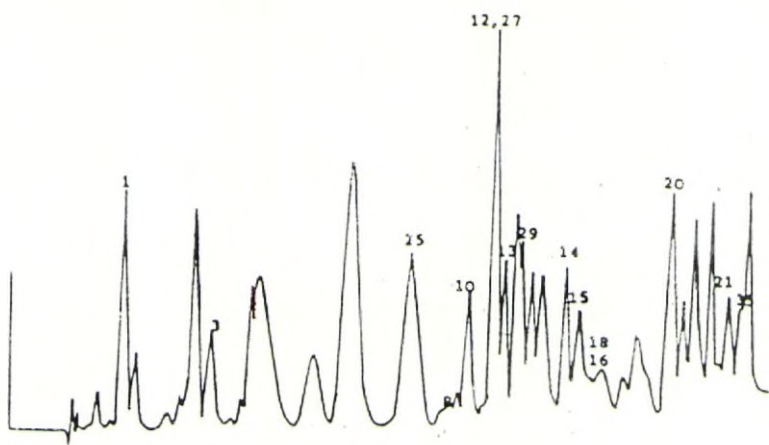
Es posible, finalmente mediante el estudio exclusivo de los compuestos polifenólicos, diferenciar un vino fresco de uno remontado aunque si se incluyen datos de aromas, la diferenciación se ve mejorada, sin embargo considerando solamente los datos de aromas no se consigue la diferenciación de ambos estados. Análogamente es posible diferenciar distintos estados o grados de remontado.

BIBLIOGRAFIA

1. CARMELO G. BARROSO, RAFAEL CELA, J.A. PEREZ-BUSTAMANTE, Z. LEBENS. *Unters. Forsch* 189: 322-325 (1989).
2. C.G. BARROSO, R. CELA, J.A. PEREZ-BUSTAMANTE. *Chromatographia*, 17 (5), 249-52 (1983).
3. M.^a JOSE MARTINEZ COBOS. Tesis de licenciatura (1989).

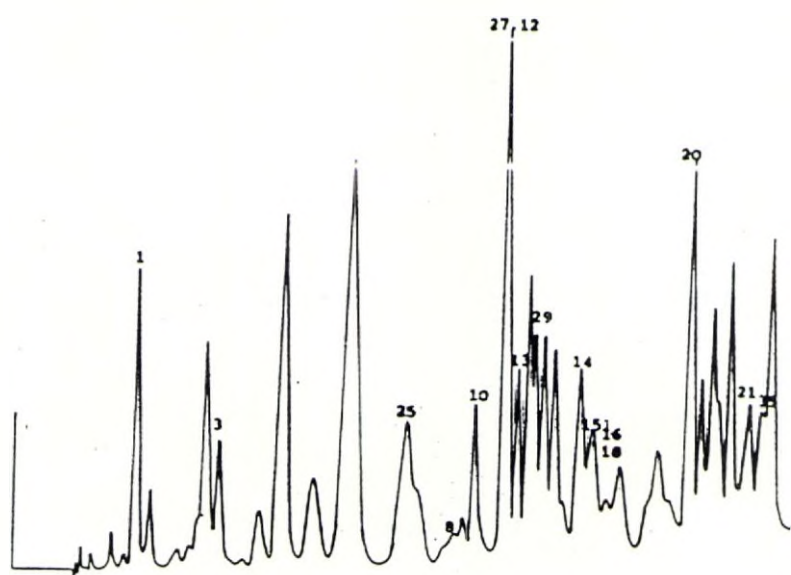






Botella sin lacrar

Fig. 3 Efecto del lacrado del tapón



Botella lacrada

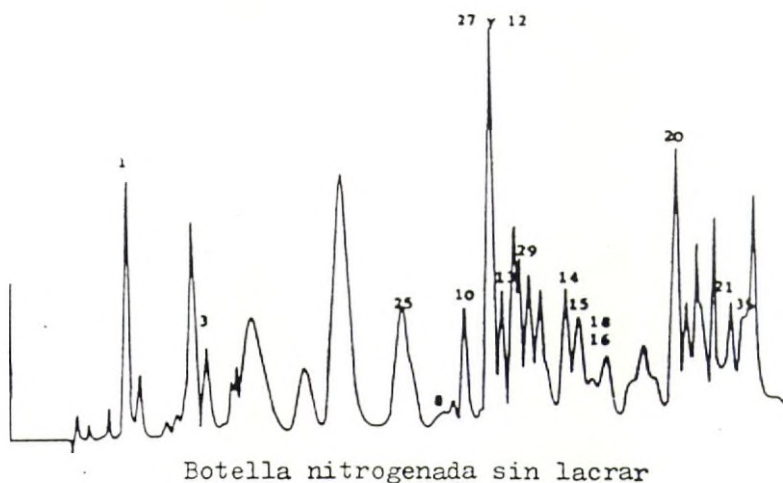
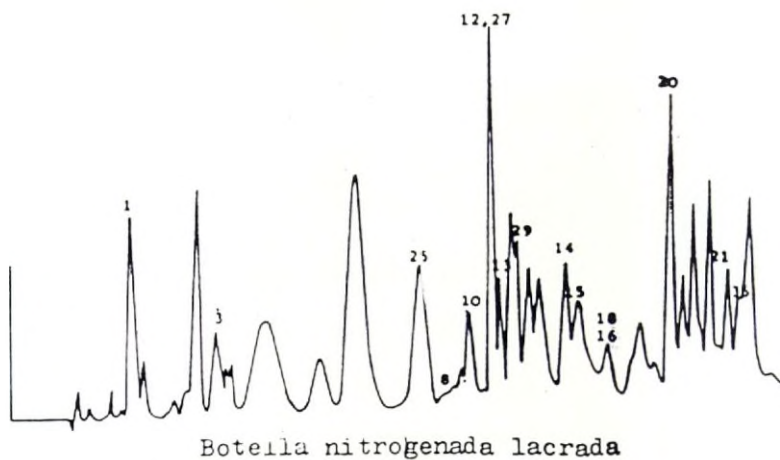


Fig. 4 Efecto de nitrogenar las botellas



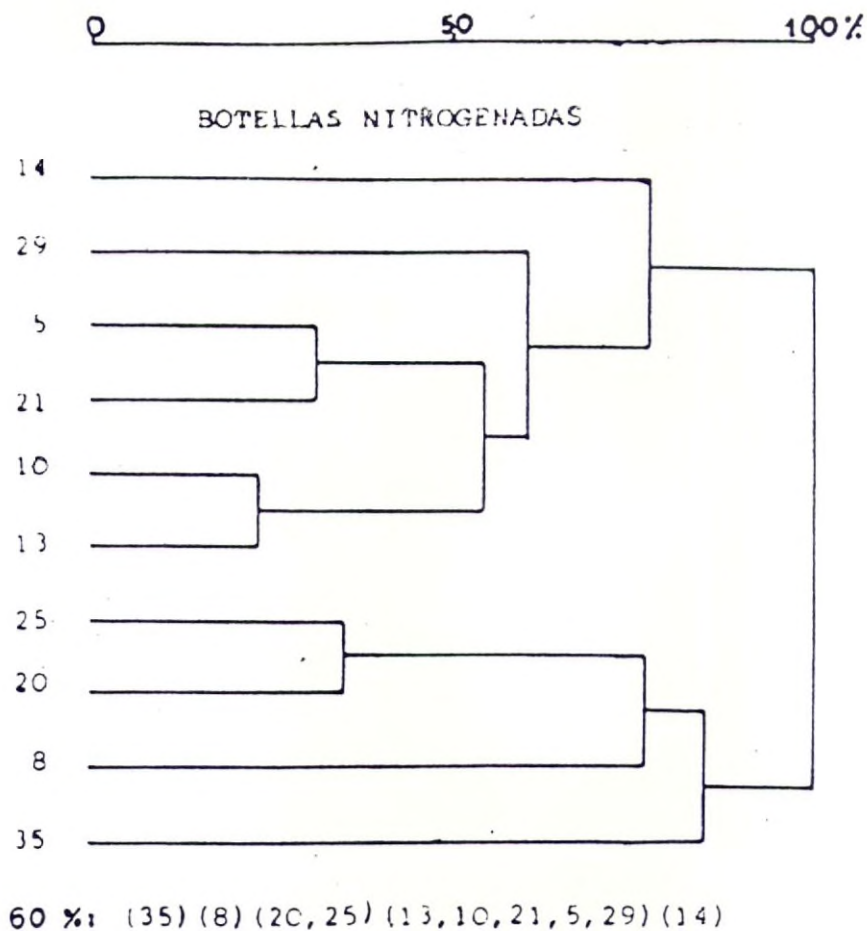


Fig. 6 Comportamiento de compuestos polifenólicos con el nitrogenado

PAGE 16 ANALISIS F-R-
HISTORIAM OF CANONICAL VARIABLE

CLASSIFICATION FUNCTIONS

| VARIABLE | GROUP = | FRESCO | REMONTAD |
|----------|---------|-----------|-----------|
| 3 R | | 0.47845 | 2.90354 |
| 4 C | | -5.77376 | -31.31817 |
| 18 R | | 5.74999 | 10.77826 |
| 19 S | | 0.65989 | 2.45543 |
| 42 B22 | | 0.59297 | -2.05148 |
| CONSTANT | | -14.46375 | -41.31693 |

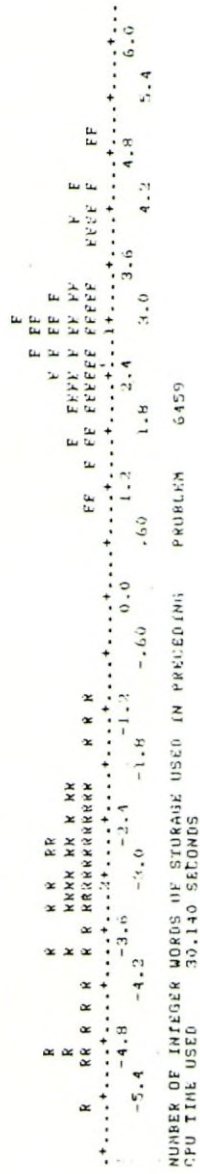


Fig. 7 LDA datos de HPLC y CG (R: remontadas, F: frescas)

PAGE 8 SMALL DIS F-K-
HISTOGRAM OF LINGUISTICAL VARIABLE

JACKKNIFE CLASSIFICATION

| GROUP | PERCENT CORRECT | NUMBER OF CASES CLASSIFIED INTO GROUP | REQUINTAD |
|----------|--------------------|---------------------------------------|-----------|
| FRESCU | 77.3 | 34 | 10 |
| REMONTAN | 50.0 | 20 | 30 |
| TOTAL | 64.3 | 54 | 30 |



Fig. 8 LDA considerando solamente datos de CG

PAGE 14 ANAL BUS F-K-
HISTOGRAM OF CATEGORICAL VARIABLE

CLASSIFICATION FUNCTIONS

| VARIABLE | GROUP - | FRESCU | MEMONTAD |
|----------|---------|-----------|-----------|
| 3 B | | 0.40471 | 2.64844 |
| 4 C | | -4.46811 | -36.80110 |
| 18 R | | 5.49783 | 9.90586 |
| 19 S | | 0.78373 | 2.88388 |
| CONSTANT | | -14.00356 | -36.40879 |

CLASSIFICATION MATRIX

| GROUP | PERCENTY CORRECT | NUMBER OF CASES CLASSIFIED INTO GROUP - |
|----------|---------------------|--|
| FRESCU | 100.0 | 44 |
| MEMONTAD | 100.0 | 0 |
| TOTAL | 100.0 | 44 |

| NUMBER OF INTEGER WORDS OF STORAGE USED IN PRECEDING CPU TIME USED | PROBLEM | 5757 |
|---|---------------------|------|
| -6.0 | R | |
| -1.8 | RR | |
| -3.6 | RRR | |
| -4.2 | RRRR | |
| -3.0 | RRRRR | |
| -2.4 | RRRRRR | |
| -1.8 | RRRRRRR | |
| -1.2 | RRRRRRRR | |
| 0.0 | RRRRRRRRR | |
| 0.6 | RRRRRRRRRR | |
| 1.2 | RRRRRRRRRRR | |
| 1.8 | RRRRRRRRRRRR | |
| 2.4 | RRRRRRRRRRRRR | |
| 3.0 | RRRRRRRRRRRRRR | |
| 3.6 | RRRRRRRRRRRRRRR | |
| 4.2 | RRRRRRRRRRRRRRRR | |
| 4.8 | RRRRRRRRRRRRRRRRR | |
| 5.4 | RRRRRRRRRRRRRRRRRR | |
| 6.0 | RRRRRRRRRRRRRRRRRRR | |

Fig. 9 LDA considerando solamente datos de HPLC

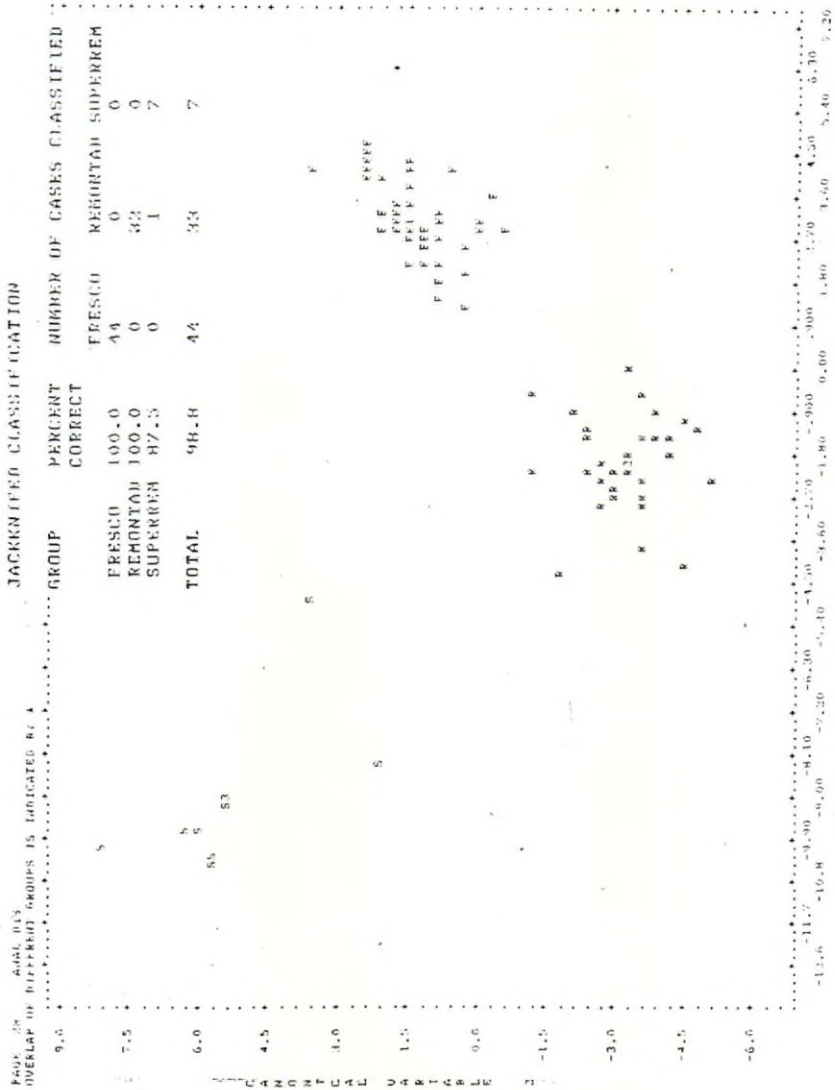


Fig. 10 LDA entre vinos frescos, remontados y super-remontados (s) considerando datos de HPLC y CG

PAGE 11 AMAL DIS
 OVERLAP OF DIFFERENT GROUPS IS INDICATED BY A

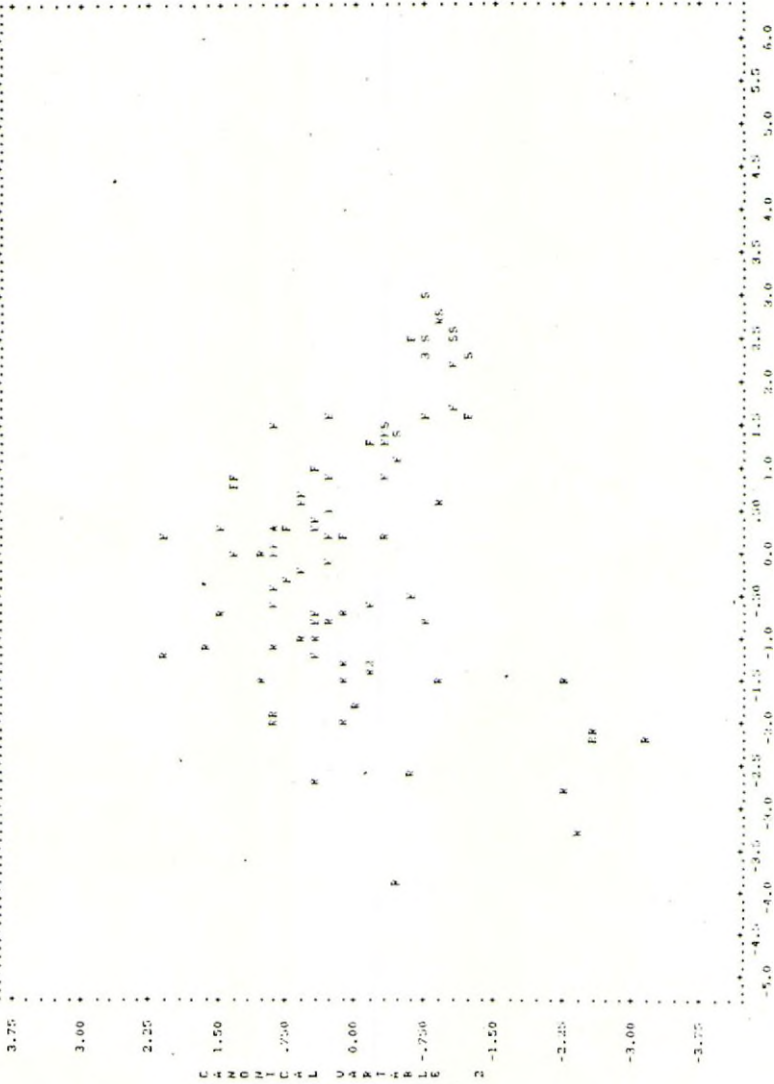


Fig. 11 LDA considerando solamente datos de CG

GEOMETRICAL VARIABLE 1

OVERLAP OF DIFFERENT GROUPS IS INDICATED BY +

JACOBIAN CLASSIFICATION

| GROUP | PERCENT CORRECT | NUMBER OF CASES CLASSIFIED INTO GROUP | | |
|----------|-----------------|---------------------------------------|----------|----------|
| | | FRESCL | REMONTAC | SUPERREM |
| FRESCL | 100.0 | 44 | 0 | 0 |
| REMONTAC | 100.0 | 0 | 32 | 0 |
| SUPERREM | 37.5 | 0 | 1 | 7 |
| TOTAL | 95.4 | 44 | 33 | 7 |

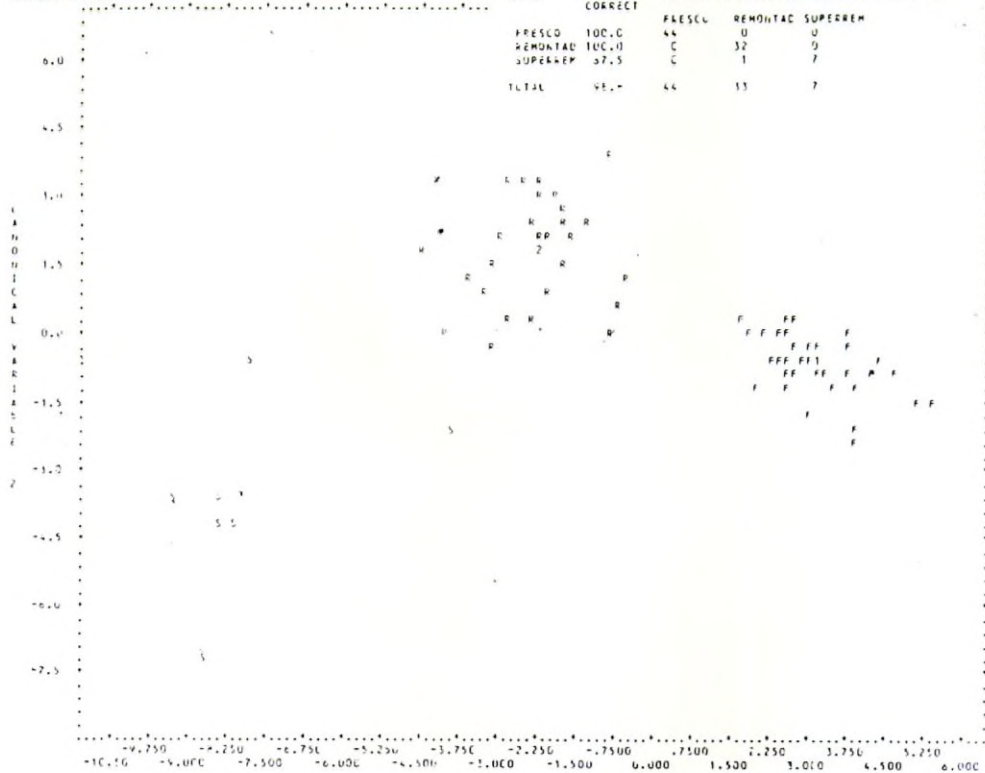


Fig. 12 LDA considerando solamente datos de HPLC

CONTENIDO Y EVOLUCION DE AMINOACIDOS LIBRES EN VINOS DE JEREZ DURANTE EL PROCESO DE ELABORACION

M.A. BOTELLA, L. PEREZ-RODRIGUEZ, B. DOMEQ y V. VALPUESTA
Departamento de Bioquímica y Biología Molecular
Universidad de Málaga

INTRODUCCION

Es de destacar la singularidad del proceso de elaboración de los vinos de Jerez (1), especialmente de los denominados finos. Con posterioridad a la fermentación alcohólica, en los vinos se sigue un proceso de crianza bajo velo de flor, caracterizado por estar sometido a la acción de las levaduras que por encontrarse en la superficie del vino, continúa transformando el sustrato pero con un metabolismo aerobio. En vinos olorosos el envejecimiento es físico-químico, mientras que en amontillados son secuenciados ambos procesos.

Los aminoácidos que son el objeto de nuestro estudio, en función de sus características químicas y sus funciones biológicas, no son componentes secundarios en el contexto del metabolismo de las levaduras y en el consumo humano, que además posee una capacidad limitada de síntesis de los mismos. Caracterizar por tanto el contenido de aminoácidos en estos vinos, así como seguir su evolución a lo largo del singular proceso de elaboración fue el objetivo marcado y al que corresponden los resultados que se presentan. Estos aminoácidos son componentes esenciales de las uvas (2) y vinos (3,4). El contenido final de estos componentes en vinos de Jerez depende no sólo de las variedades de uvas empleadas, sino del envejecimiento al que ha sido sometido.

MATERIALES Y METODOS

Son 6 los tipos de vinos estudiados: mostos, sobretablas, añadas, finos, olorosos y amontillados en sus diferentes escalas de criaderas y soleras.

El análisis de aminoácidos se realizó por cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC), por un método descrito previamente (5). Los reactivos fueron Li_2CO_3 , acetonitrilo, ácido acético y ácido clorhídrico de grado análisis, y trietilamina de grado síntesis suministrados por Merck.

Cloruro de dansilo, aminoácidos libres y dansil aminoácidos de la casa Sigma.

Los derivados dansilados se obtuvieron por el método descrito por Tapuhi y col. (6) con cloruro de dansilo disuelto en acetonitrilo y Li_2CO_3 40 mM a pH= 9.5 . A 0.1 ml de muestra se le añadió 0.7 ml de tampón de reacción y 0.7 ml de cloruro de dansilo de concentración variable entre 10 y 20 mM según el contenido total de aminoácidos de la muestra. Después de agitar vigorosamente durante 3 minutos, las muestras se mantuvieron durante una hora a temperatura ambiente. En todos los casos los viales de reacción fueron protegidos de la luz con papel de aluminio, debido a que los dansil derivados son fotosensibles.

La columna usada fue una silica gel C-18 (Supelco, USA). Los solventes de elución fueron metanol, y una solución con ácido acético al 0.6% y trietilamina al 0.008%, usando el gradiente descrito por Márquez y col. (5).

La detección es con UV a 254 nm. El computador integrador usado es Spectra-Physics SP4100 (USA). Para determinar la concentración de aminoácidos se empleó el método de extándar externo.

RESULTADOS Y DISCUSION

La Tabla 1 muestra los contenidos de aminoácidos de los mostos analizados. En los dos casos el contenido de prolina fue el más importante cuantitativamente, representando alrededor del 70% de los aminoácidos totales. Esta abundancia de prolina en el mosto está de acuerdo con otros estudios previos (3, 7, 8).

Para comprobar la evolución del contenido de aminoácidos a lo largo del tiempo, comparamos el sobretabla con la añada correspondiente a su mismo año. De esta manera eliminamos el factor de mezcla, presente en el estudio de otros vinos. Como observamos en la Figura 1, a medida que nos alejamos en el tiempo, la diferencia entre sobretabla y la añada del mismo año es mayor. Esto nos indica un consumo continuo de aminoácidos por parte de las levaduras. Consumo que ocurre de una manera lineal (9).

Esta disminución continua de aminoácidos (Tabla 2), debido fundamentalmente a la disminución de prolina, también es apreciable en vinos finos (Figura 2). Al igual que en los casos anteriores, la prolina es aminoácido mayoritario. De un valor inicial de un 50% respecto al total de aminoácidos en la tercera criadera, desciende hasta significar un 20% en la solera. Esto indica un consumo no sólo importante cuantitativamente, sino que en términos relativos disminuye más que el resto de los aminoácidos, como se aprecia en la figura 3. Una explicación razonable de este hecho, es que la levadura durante su metabolismo aerobio en esta fase filmógena, utiliza la prolina como fuente carbonada importante. Tras el proceso fermentativo y ante la carencia de azúcares, la levadura puede utilizar otras fuentes carbonadas tales como el etanol, acetato de etilo y glicerol, que disminuyen durante la crianza como se ha demostrado en estos vinos (1). Pero en un metabolismo aerobio es posible que la levadura también consuma la prolina como fuente de energía y

esqueletos carbonados, al poder transformarse fácilmente este aminoácido en un intermediario del ciclo de los ácidos tricarboxílicos, el ácido α -cetoglutárico. Los átomos de carbono de la prolina no sólo tendrían una función energética en el metabolismo aerobio de la levadura, sino que no se puede descartar un posible destino de la prolina hacia la síntesis de alcoholes superiores durante este período de la crianza. En estos vinos, Pérez-Rodríguez en 1979, ha mostrado un aumento del total de alcoholes superiores cifrado entre 315 y 374 mg/l desde la tercera criadera hasta la solera. La prolina, cuya conversión a ácido glutámico, está bien demostrada metabólicamente, podría estar en el origen de los esqueletos carbonados de algunos de estos alcoholes superiores.

En vinos olorosos, la prolina sigue siendo el aminoácido mayoritario (Tabla 3), y los valores son incluso mayores a los sobretablas, lo cual es congruente si tenemos en cuenta la ausencia del velo de levaduras en este tipo de vino. Como es de esperar no manifiesta ninguna tendencia, sino que su cantidad depende del contenido en este aminoácido de la añada con que ha sido repuesto, así como a las mezclas a que han sido sometido sus criaderas.

El incremento continuo que se observa en el total de aminoácidos y prolina a lo largo del envejecimiento sea posiblemente debido a la consecuencia de pérdida de volumen de estos vinos durante su almacenaje en botas. Este factor se denomina "merma" y puede representar hasta un 3.5% cada año.

En amontillados (Tabla 4), podemos explicar lo dicho prácticamente para olorosos, si bien las cantidades de aminoácidos en general son menores. Los aminoácidos no presentan una clara tendencia en cuanto a concentraciones a lo largo de su crianza. La prolina sigue siendo el aminoácido mayoritario, aunque los valores son menores, puesto que al reponerse de botas de solera de fino, hubo un consumo de prolina importante previo a su introducción en el sistema de amontillados. La explicación de esta fluctuación hay que buscarla tanto en la variabilidad estacional y mezcla como en un efecto de merma, que en estos tipos de vinos comienza a ser importante.

De esta manera general, el contenido de aminoácidos libres que se encuentra en el vino en un momento determinado es dependiente de diversos factores. Lógicamente el primero será el contenido en aminoácidos que tenga el mosto, materia prima de la cual deriva el vino. Estas cantidades iniciales de aminoácidos van a ser modificadas por la acción de las levaduras que en términos globales será el resultado de un balance, la toma del medio y su posterior devolución al mismo en procesos de lisis.

La entrada de aminoácidos en el interior de las células de levaduras se debe a un sistema de transporte activo que permite concentrar de manera específica los distintos aminoácidos en el interior de la célula (2). La liberación de aminoácidos al medio por parte de las levaduras ocurre en procesos de autólisis y las correspondientes actividades proteolíticas (11).

BIBLIOGRAFIA

1. GONZALEZ, M. M. JEREZ-XEREZ-SHERRY. Jerez Gráficas. Jerez de la Frontera. Cádiz (1970).
2. COOPER, T. N. Nitrogen Metabolism in *Saccharomyces cerevisiae*. En "The Molecular Biology of the Yeast *Saccharomyces*. Metabolism and Gene Expression. J.N. Strathern; E.W. Jones and J.R. Broach (Eds.) Cold Spring Harbor, New York (1982).
3. OUGH, C.S. Proline Content of Grapes and Wines. *Vitis* 7: 321-31 (1968).
4. SANDERS, E.M. y OUGH, C.S. Determination of Free Amino Acids in Wine by HPLC. *Am. J. Enol. Vitic.* 36: 4346 (1985).
5. MARQUEZ, F.J.; QUESADA, A.R.; SANCHEZ-JIMENEZ, F y NUÑEZ DE CASTRO, I. Determination of 27 Dansyl Aminoacids Derivates in Biological Fluids by Reversed Phase High Performance Liquid Chromatography. *J. Chromatog.* 380: 275-83 (1986).
6. TAPUHI, Y.; SCHMID, D.E.; LINDNER, W. y KARGER, B.L. Dansilation of Aminoacids for High Performance Liquid Chromatography Analysis. *Anal. Biochem.* 115: 123-29 (1981).
7. FEDUCHY, E. y CARBALLO, J. Boletín del Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias, 30, 62, 68 (1970).
8. GORDILLO, E.; MAYNAR, V.I. y MESIAS, J.L. III Jornadas Universitarias sobre el Jerez, Jerez de la Frontera (1984).
9. BOTELLA, M.A.; PEREZ-RODRIGUEZ, L.; DOMEQ, B. y VALPUESTA, V. AMINO. Acid Content of Fino and Oloroso Sherry Wines. *Am. J. Enol. Vitic.* En Prensa (1989).
10. PEREZ-RODRIGUEZ, L. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias. Univ. de Sevilla (1979).
11. WOLF, D.H. *BIOCHEM. Soc. Trans.* 13, 279 (1985).

Tabla 1. Contenido^a de aminoácidos de Mostos

| | Concentración (mM) | |
|-----------------|--------------------|-----------|
| | 1986 | 1987 |
| Asparragina | 0.39±0.04 | 0.27±0.02 |
| Aspartato | 0.14±0.01 | 0.13±0.02 |
| Glutamato | 0.23±0.03 | 0.20±0.03 |
| Glicina | 0.26±0.01 | 0.22±0.02 |
| Alanina | 0.19±0.02 | 0.23±0.03 |
| γ-aminobutírico | 0.17±0.04 | 0.07±0.02 |
| α-aminobutírico | 0.09±0.01 | 0.09±0.01 |
| Prolina | 4.52±0.27 | 6.16±0.33 |
| Metionina | 0.04±0.01 | 0.01±0.01 |
| Valina | 0.08±0.01 | 0.05±0.01 |
| Leucina | 0.18±0.03 | 0.11±0.03 |
| Cistina | 0.03±0.01 | 0.17±0.02 |
| Ornitina | 0.03±0.01 | 0.17±0.02 |
| Lisina | 0.11±0.02 | 0.16±0.03 |
| Histidina | 0.04±0.01 | 0.16±0.02 |
| Tirosina | 0.18±0.03 | 0.32±0.02 |

^a Determinaciones por duplicados de dos muestras diferentes ± desviaciones estándar.

Tabla 2. Concentraciones de aminoácidos en diferentes escalas de vino fino^a

| | Concentración (mM) | | | |
|-----------------|--------------------|-----------|-----------|-----------|
| | 3C | 2C | 1C | S |
| Asparragina | 0.22±0.02 | 0.21±0.02 | 0.23±0.02 | 0.15±0.02 |
| Aspartato | 0.15±0.01 | 0.16±0.02 | 0.13±0.01 | 0.14±0.01 |
| Glutamato | 0.15±0.01 | 0.13±0.01 | 0.14±0.01 | 0.13±0.01 |
| Glicina | 0.32±0.02 | 0.38±0.03 | 0.38±0.03 | 0.40±0.03 |
| Alanina | 0.27±0.02 | 0.23±0.02 | 0.19±0.01 | 0.24±0.02 |
| γ-aminobutírico | 0.32±0.03 | 0.27±0.03 | 0.33±0.03 | 0.27±0.03 |
| α-aminobutírico | 0.22±0.02 | 0.19±0.02 | 0.17±0.01 | 0.17±0.02 |
| Prolina | 3.30±0.23 | 2.59±0.17 | 1.50±0.12 | 0.98±0.08 |
| Metionina | 0.07±0.01 | 0.12±0.01 | 0.28±0.03 | 0.19±0.02 |
| Valina | 0.08±0.02 | 0.13±0.02 | 0.27±0.04 | 0.18±0.03 |
| Leucina | 0.17±0.02 | 0.16±0.02 | 0.22±0.03 | 0.13±0.02 |
| Cistina | 0.08±0.01 | 0.10±0.01 | 0.15±0.01 | 0.11±0.01 |
| Ornitina | 0.08±0.01 | 0.07±0.01 | 0.08±0.01 | 0.11±0.01 |
| Lisina | 0.19±0.02 | 0.21±0.02 | 0.23±0.02 | 0.15±0.02 |
| Histidina | 0.13±0.01 | 0.20±0.02 | 0.18±0.02 | 0.23±0.03 |
| Tirosina | 0.35±0.04 | 0.54±0.04 | 0.36±0.04 | 0.32±0.04 |

^a Determinaciones por duplicado de dos muestras diferentes ± desviaciones Stándar

3C. Tercera criadera

2C. Segunda criadera

1C. Primera criadera

S. Solera

Tabla 3. Concentración de aminoácidos en diferentes escalas de vino oloroso^a

| | Concentración (mM) | | | |
|-----------------|--------------------|-----------|-----------|-----------|
| | 3C | 2C | 1C | S |
| Asparragina | 0.26±0.03 | 0.27±0.03 | 0.26±0.02 | 0.25±0.02 |
| Aspartato | 0.09±0.01 | 0.09±0.01 | 0.08±0.01 | 0.07±0.01 |
| Glutamato | 0.18±0.02 | 0.22±0.02 | 0.24±0.03 | 0.24±0.02 |
| Glicina | 0.27±0.03 | 0.26±0.03 | 0.30±0.03 | 0.28±0.03 |
| Alanina | 0.32±0.04 | 0.36±0.03 | 0.35±0.04 | 0.32±0.03 |
| β-aminobutírico | 0.10±0.01 | 0.09±0.01 | 0.10±0.01 | 0.14±0.02 |
| α-aminobutírico | 0.22±0.03 | 0.28±0.03 | 0.38±0.03 | 0.37±0.03 |
| Prolina | 5.51±0.39 | 6.29±0.47 | 6.69±0.49 | 6.65±0.51 |
| Metionina | ND ^b | ND | ND | ND |
| Valina | 0.17±0.02 | 0.20±0.02 | 0.16±0.02 | 0.15±0.02 |
| Leucina | 0.19±0.02 | 0.23±0.02 | 0.22±0.02 | 0.20±0.02 |
| Cistina | 0.19±0.03 | 0.21±0.02 | 0.11±0.02 | 0.10±0.01 |
| Ornitina | ND | ND | 0.08±0.01 | 0.07±0.01 |
| Lisina | 0.15±0.01 | 0.15±0.02 | 0.25±0.03 | 0.27±0.03 |
| Histidina | 0.09±0.01 | 0.05±0.01 | 0.09±0.01 | 0.10±0.01 |
| Tirosina | 0.19±0.02 | 0.22±0.02 | 0.21±0.02 | 0.20±0.02 |

^a Determinaciones por duplicado ± Desviaciones Stándar

^b ND No detectado

3C. Tercera criadera 2C. Segunda criadera 1C. Primera criadera
S. Solera

Tabla 4. Concentración de aminoácidos en diferentes escalas de vino amontillado^a

| | Concentración (mM) | | | |
|-----------------|--------------------|-----------|-----------|-----------|
| | 3C | 2C | 1C | S |
| Asparragina | 0.23±0.02 | 0.28±0.04 | 0.35±0.04 | 0.23±0.03 |
| Aspartato | 0.11±0.01 | 0.12±0.01 | 0.15±0.02 | 0.08±0.01 |
| Glutamato | 0.22±0.02 | 0.18±0.02 | 0.17±0.02 | 0.18±0.03 |
| Glicina | 0.27±0.03 | 0.32±0.03 | 0.35±0.05 | 0.36±0.04 |
| Alanina | 0.21±0.02 | 0.42±0.03 | 0.33±0.05 | 0.28±0.03 |
| β-aminobutírico | 0.13±0.01 | 0.17±0.02 | 0.18±0.02 | 0.18±0.03 |
| α-aminobutírico | 0.08±0.01 | 0.18±0.03 | 0.13±0.01 | 0.09±0.01 |
| Prolina | 1.84±0.14 | 2.66±0.21 | 2.45±0.22 | 2.58±0.22 |
| Metionina | 0.10±0.01 | 0.20±0.03 | 0.13±0.01 | 0.10±0.01 |
| Valina | 0.09±0.01 | 0.10±0.01 | 0.13±0.02 | 0.10±0.01 |
| Leucina | 0.11±0.01 | 0.12±0.01 | 0.10±0.02 | 0.10±0.02 |
| Cistina | 0.21±0.02 | 0.22±0.04 | 0.28±0.04 | 0.25±0.04 |
| Ornitina | 0.08±0.01 | 0.09±0.01 | 0.05±0.01 | 0.04±0.01 |
| Lisina | 0.10±0.01 | 0.12±0.02 | 0.29±0.04 | 0.19±0.03 |
| Histidina | 0.11±0.01 | 0.05±0.01 | 0.14±0.02 | 0.08±0.01 |
| Tirosina | 0.16±0.03 | 0.21±0.03 | 0.18±0.03 | 0.19±0.02 |

^a Determinaciones por duplicado ± Desviaciones Stándar

3C. Tercera criadera 2C. Segunda criadera 1C. Primera criadera

S. Solera

Figura 4. Diferencias entre añadas y sobretablas del mismo año

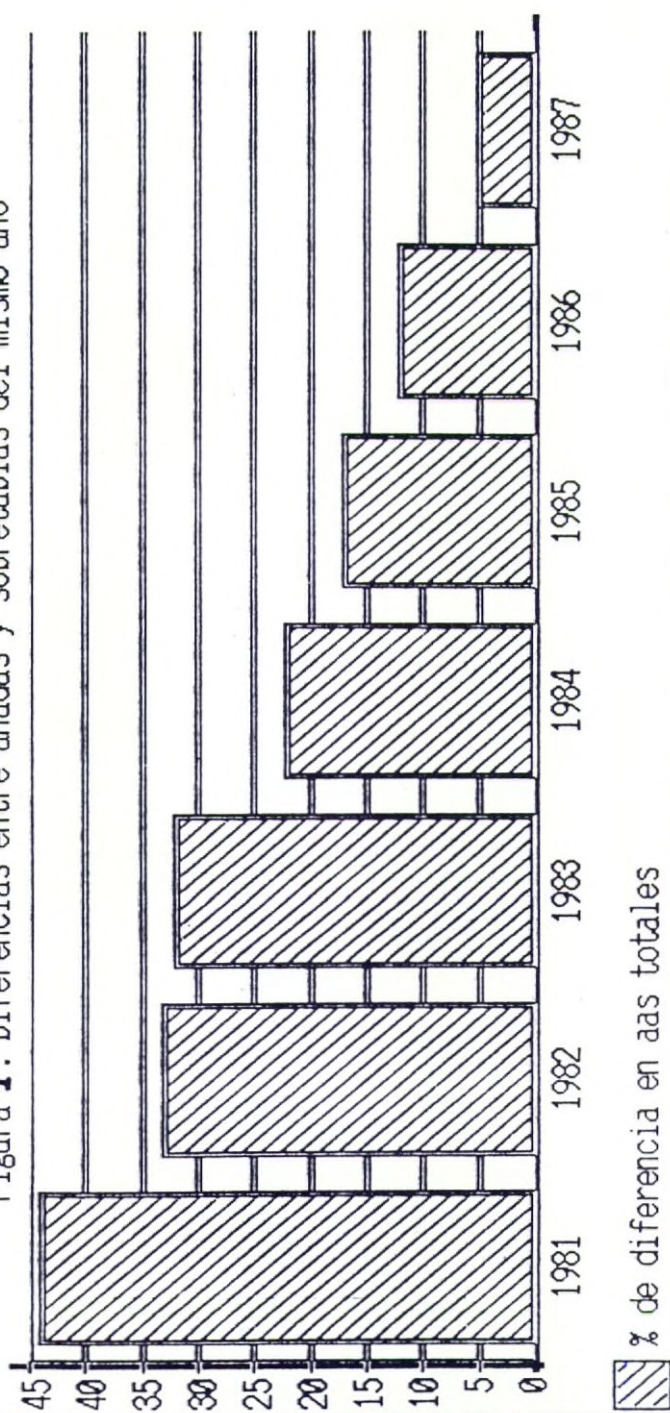


Figura 2. Concentración de aminoácidos totales (mM)

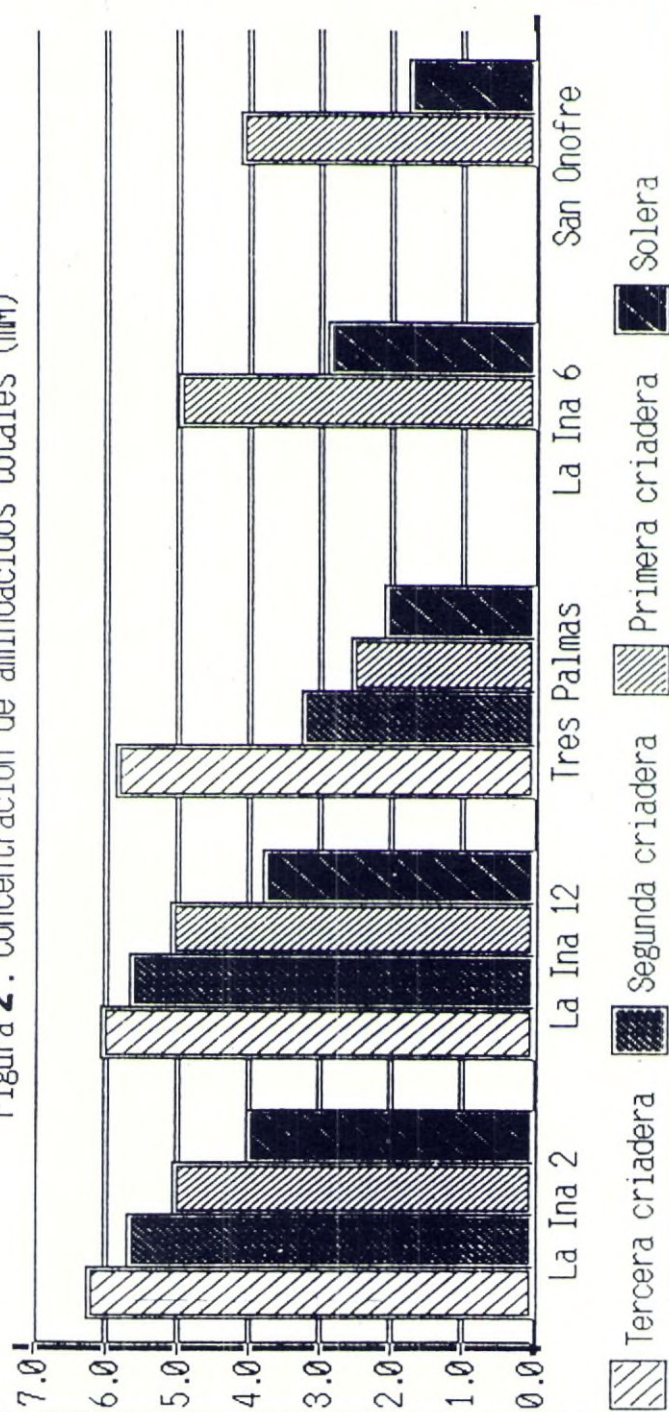
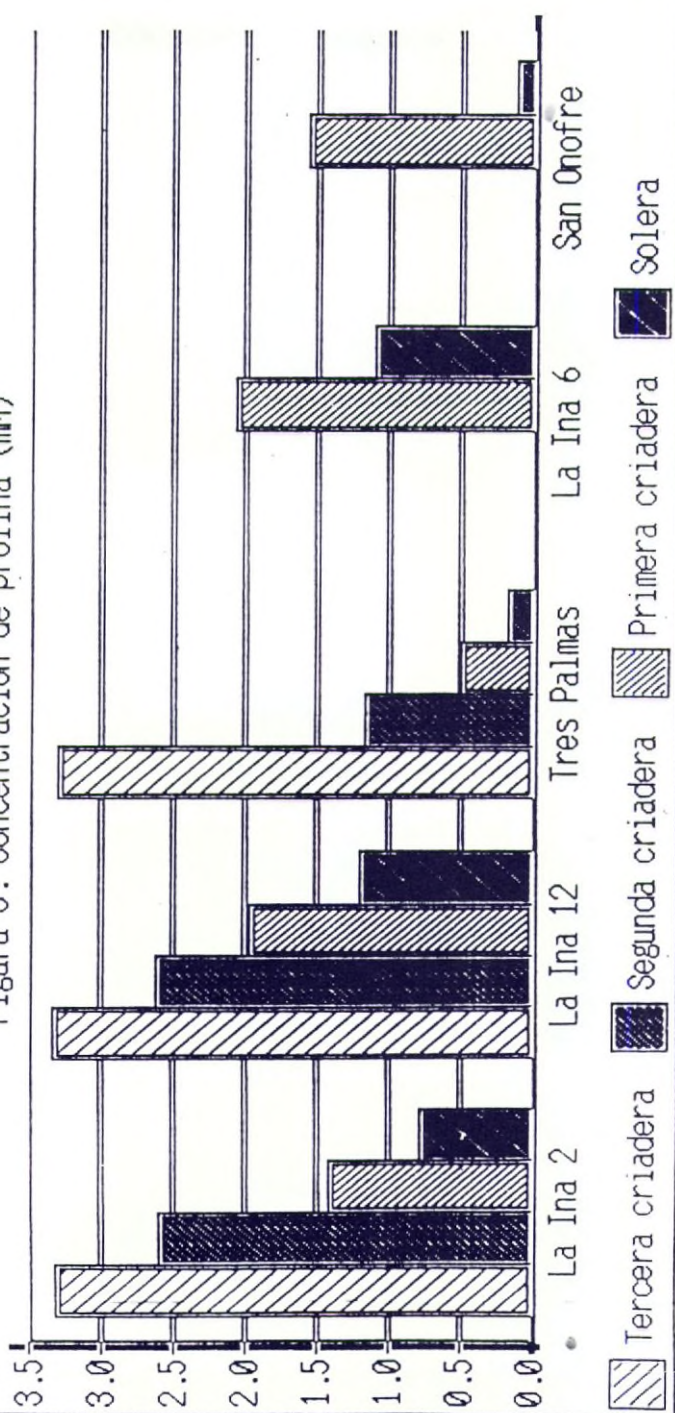


Figura 3. Concentración de prolina (mM)



DETERMINACION DE URETANO EN VINOS MEDIANTE HPLC CON DERIVATIZACION PRECOLUMNA Y DETECCION FOTOMETRICA Y FLUORIMETRICA

R. SUAUA, V. VALPUESTA, I. MEDINA y F. GARCIA SANCHEZ
Departamento de Química Analítica y Química Orgánica,
Bioquímica y Biología Molecular
Facultad de Ciencias. Universidad de Málaga

INTRODUCCION

El carbamato de etilo es un agente químico que aparece por proceso natural en ciertos productos de fermentación tales como cervezas, vinos, licores, destilados, pan, yogurt y aceites. En otros alimentos aparece en cantidades generalmente inferiores a su límite de detección. En destilados y vinos, su presencia excede a veces las concentraciones normales, aunque la razón de este incremento es desconocida. Hay varias hipótesis que pueden explicar los altos niveles de C.E. encontrados, como es la adición de urea al mosto para estimular el crecimiento de levaduras si hay deficiencia de nitrógeno, el uso de baycovin (pirocarbonato de etilo) y carbamato de dietilo como antisépticos, acción del calor sobre algunas sustancias constituyentes del vino, exposición de las bebidas a la luz, evaporación en los barriles.

El carbamato de etilo utilizados sobre animales de experimentación, ratones y ratas, en dosis elevadas, administradas durante toda la vida, provocan una mayor incidencia de tumores. Este hecho se ha extrapolado al hombre y se ha presentado el C.E. como agente cancerígeno. Frente a esta afirmación hay otros puntos que desmienten este carácter cancerígeno en el hombre, como el empleo de este producto como fármaco durante mucho tiempo, la enorme cantidad de C.E. para producir tumores en el hombre si extrapolamos desde los animales de experimentación. Importantes personalidades en este campo como el Dr. C. A. van der Heijden del National Institute of Public Health and Environmen-

tal Hygienic y el Dr. Bicheler afirman que no hay pruebas del carácter cancerígeno de este producto en el hombre.

Actualmente, la CEE y algunos países como Canadá han organizado mesas redondas para tratar de solucionar el problema que la falta de reproducibilidad de la medida origina a la hora de establecer sanciones para los vinos y licores que superan las concentraciones establecidas por las organizaciones de salud estatales.

El desconocimiento y confusionismo que existe alrededor de este escándalo ha desencadenado decisiones precipitadas por parte de las autoridades de ciertos países que basándose en insuficientes estudios, no han predicado con prudencia antes de decidir definitivamente el establecimiento de unos límites de concentración, con las consiguientes consecuencias que esto acarrea a la exportación de nuestros productos a estos países.

Por otra parte, los métodos utilizados actualmente en el análisis de C.E. que se basa en la cromatografía de gases con diferentes tipo de detectores (masas, Hall, Nitrógeno-fósforo, etc.) dan resultados irreproducibles para bajas concentraciones (5-20 ppb) típicas en los vinos de mesa.

Estas razones y la aparición relativamente reciente de este problema (es a finales de 1985 cuando destacados funcionarios canadienses del Ministerio de Consumo y Relaciones Comerciales anuncian la aparición de concentraciones de C.E. anormalmente altas en vinos tipo Oporto y Jerez) hacen interesante el desarrollo de métodos analíticos alternativos que sean sensibles, exactos y rápidos para la determinación de este agente.

La técnica instrumental a desarrollar es HPLC y el método analítico está basado en la derivatización precolumna del carbamato de etilo para obtener un derivado sensible en ultravioleta-visible, capaz de originar una señal en el detector sensible y selectiva. Alternativamente, se pretende desarrollar métodos de detección fluorimétrica.

MATERIAL

HPLC marca Shimadzu SPD-6A, con detector ultravioleta-visible. Columna empaquetada Spherisorb 5u S5-ODS/2 250 mm. Precolumna S5-ODS2.

Espectrofotómetro Ultravioleta-visible marca Shimadzu UV-240.

Espectrofluorímetro marca Perkin Elmer LS-5.

Cromatógrafo de gases acoplado a espectrómetro de masas.

Rotavapor marca Büchi RE 111.

Magnetoagitador con placa térmica marca SBS.

Material fungible de laboratorio.

Bala de nitrógeno.

pHmetro marca Crison micropH 2002.

METODO

Procedimiento de extracción:

Se han efectuado hasta el momento extracciones de matrices alcohólicas (17% etanol). 10 ml de una matriz de concentración conocida de uretano se saturan con cloruro potásico. Se llevan a un matraz de decantación y se añaden 20 ml de diclorometano. Se

agitan fuertemente durante tres minutos. Se recoge la capa orgánica inferior. La capa superior acuosa se vuelve a someter a una nueva operación de extracción. La fase orgánica total recogido se deshidrata con sulfato sódico anhidro. Posteriormente se lleva al rotavapor donde se reduce su volumen a unos 5 ml aproximadamente, pasándolos a un tubo de ensayo donde se llevan a sequedad en frío mediante una corriente de nitrógeno. A continuación tiene lugar la reacción de derivatización.

Derivatización:

La derivatización del uretano consiste en su reacción con aminas aromáticas, produciéndose un ataque nucleofílico al carbonilo, y dando como producto de reacción la diurea correspondiente, con propiedades espectrofotométricas y fluorimétricas de alta sensibilidad. Hasta ahora hemos trabajado con los derivados di-a-naftilurea (reacción con a-naftilamina) y difenilurea o carbanilida (reacción con anilina). Es esta una reacción que requiere elevada temperatura (150 °C con a-naftilamina y 160 °C con anilina) y largo tiempo de reacción (4 horas), y cuyo rendimiento oscila entre 80%-90%. En ambos casos la reacción se realiza en tubos de ensayo, llevando los reactivos (uretano y amina) a la temperatura indicada por calentamiento en baño de aceite. La reacción en el caso de la a-naftilamina es en fase sólida, que al calentar funde y posteriormente reacciona. De esta forma el rendimiento es mucho más alto que en disolución. En el caso de anilina no hay problema ya que está en fase líquida hasta una temperatura de 184 °C.

Ambos derivados han sido caracterizados viéndose sus siguientes propiedades:

Di-a-naftilurea.- Punto de fusión 280 °C, solo es soluble en dimetilformamida, caracterizada por masas con ion molecular a 312, longitud de onda de excitación a 317 nm, longitud de onda de emisión a 374 nm, longitud de onda de absorción a 315nm, las tres en dimetilformamida.

Difenilurea.- Punto de fusión 234 °C, caracterizada por masas con ion molecular a 212, longitud de onda de excitación a 315nm, longitud de onda de emisión a 340 nm, longitud de onda de absorción a 260 nm, las tres en acetonitrilo-agua (55-45) que es la fase móvil que se emplea.

Tratamiento precolumna:

Di-a-naftilurea.- El producto de reacción (sólido) se disuelve en dimetilformamida, tantas veces como sea necesario para que el pico de la a-naftilamina (exceso de reactivo) no tape el del producto.

Difenilurea.- Se diluye con metanol, tantas veces como sea necesario, o bien se extrae el exceso de anilina con ácido clorhídrico diluido (pH 2.5).

Tratamiento por HPLC:

Di-a-naftilurea.- Se ha comprobado una buena separación de los picos con una fase móvil de metanol-agua (75:25), un flujo de 0.7 ml por minuto. El exceso de reactivo sale a un tiempo de retención de 4.76 minutos, mientras que el producto sale a 10.01 minutos (cromatograma 1). La longitud de onda que hemos empleado para el detector ultravioleta es de 310 nm. El límite de detección de este producto está por debajo de la ppb.

Difenilurea.- Utilizando como fase móvil acetonitrilo-agua (55:45) se separan los picos de anilina y difenilurea. En el cromatograma 2 se puede ver cómo los picos se separan casi cinco minutos. La anilina sale a un tiempo de retención de 5.09 minutos, y la difenilurea sale a 9.86 minutos. El flujo empleado es de 0.8 ml por minuto, y la concentración ambos componentes es de 100 ppb. Aunque no se ha llegado a ver el límite de detección, podemos llegar por debajo de 1 ppb. La longitud de onda empleada para el detector ultravioleta del HPLC con esta fase móvil es de 260 nm.

RESULTADOS Y DISCUSION

En un principio se llevó a cabo el estudio de la reacción de derivatización del uretano con algunos de los marcadores típicos del grupo amino (fluorescamina, fluorenaldehído, cloruro de dansilo y fluorescein-isotiocianato). El marcaje es ineficaz debido a que el grupo -NH₂ del uretano no corresponde a un grupo amino, sino a un grupo amido. El grupo carbonilo desactiva al nitrógeno.

El uretano tiene la posibilidad de sufrir reacción de sustitución nucleofílica en el carbono carbonílico por el ataque de aminas desprendiéndose etanol y amoníaco. En nuestro trabajo hemos empleado a-naftilamina y anilina, que por sus propiedades aromáticas dan productos (ureas) muy sensibles por fluorimetría y fotometría ultravioleta. De esta forma podemos medir la concentración de uretano de manera indirecta. En la figura 1 podemos ver un espectro de fluorescencia correspondiente al producto de la reacción de uretano con a-naftilamina. Se observa en el espectro de emisión el máximo correspondiente al producto (di-a-naftilurea) a 374 nm, y un hombro a 443 nm correspondiente a la emisión del exceso de reactivo (a-naftilamina).

Se caracterizaron los productos de las dos reacciones estudiadas, viéndose su punto de fusión, espectros de masa (figura 2 correspondiente al espectro de masas de di-a-naftilurea, al que acompaña un DIP, ya que no se puede inyectar en el gas debido a su alto punto de ebullición, y figura 3 correspondiente a difenilurea), espectros de fluorescencia, y espectros ultravioleta.

Posteriormente hemos estudiado los parámetros de la reacción para optimizar el rendimiento, como son tiempo de reacción, temperatura de reacción, exceso de reactivo (relación molar uretano: amina de 1:10 en el caso de la a-naftilamina y 1:100 en el caso de la anilina). Estos parámetros son los que ya hemos especificado en el desarrollo del método.

La aplicación de HPLC se ha realizado hasta ahora empleando únicamente detección ultravioleta. No se ha averiguado exactamente el límite de detección de los derivados, pero sí se ha comprobado que se puede bajar de la ppb.

También se ha realizado un estudio de la reproducibilidad de la reacción con a-naftilamina, obteniéndose buenos resultados. El cuadrado del coeficiente de correlación es de un 99.69%. También se muestra a continuación en la tabla 1, y en la figura 4 el análisis de regresión. Este análisis se ha hecho a partir de tres rectas de calibrado entre 10 y 100 ppm.

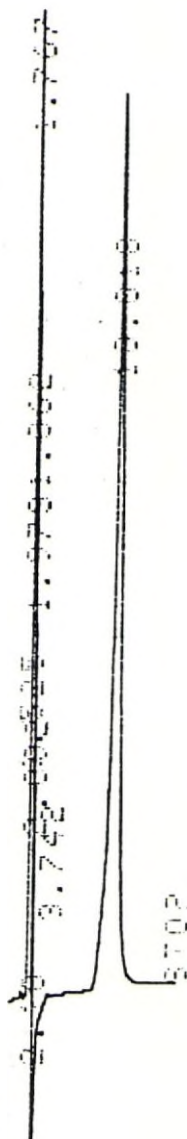
Aunque en un principio emprendimos el estudio de la reacción con a-naftilamina, se ha profundizado más en la reacción con anilina, consiguiéndose rectas de calibrado en

un rango de 1 ppm a 10 ppm (ver figura 5).

Vemos más ventajoso el empleo como marcador de anilina con vistas a aumentar la sensibilidad del método. A continuación se muestran dos cromatogramas (cromatogramas 3 y 4) donde podemos comprobar la desaparición del pico de la anilina (4.662 minutos) después de su extracción con ácido diluido (clorhídrico pH 2.5). La difenilurea aparece a 6.1 minutos. Además, es más cómodo trabajar con anilina por ser líquida. La misma anilina hace de reactivo y de disolvente del uretano, siendo la unión entre ellos más íntima.

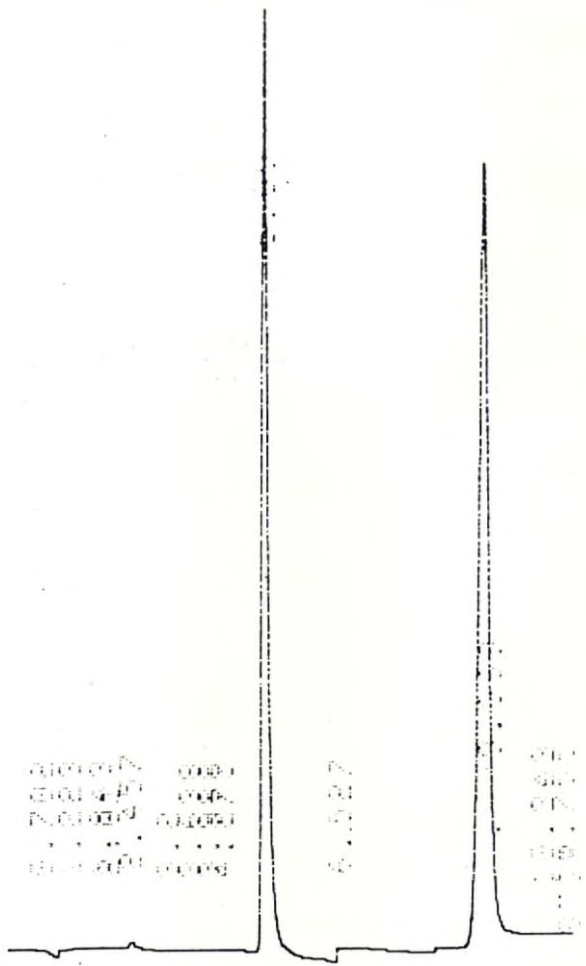
Nuestro objetivo más inmediato es conseguir rectas de calibrado de rangos de concentración inferiores con el fin de aplicar el método a muestras reales.

1000
START



| PKNO | TIME | AREA | PK | END | COND | NAME |
|-------|--------|--------|----|-----|--------|--------|
| 1 | 1.525 | 37.3 | | | 0.0000 | |
| 2 | 1.747 | 137087 | V | | 1.0000 | |
| 3 | 1.969 | 99977 | V | | 0.0000 | |
| 4 | 1.979 | 105545 | V | | 0.0000 | |
| 5 | 2.092 | 99141 | V | | 0.0000 | |
| 6 | 2.110 | 37720 | V | | 0.0000 | |
| 7 | 3.742 | 175367 | S | | 1.0000 | |
| 8 | 10.010 | 99009 | | | 0.0000 | |
| TOTAL | | | | | | 153069 |
| | | | | | | 1.00 |

Cromatograma 1



01 01
 02 01
 03 01
 04 01

01 01
 02 01
 03 01
 04 01
 05 01
 06 01
 07 01
 08 01
 09 01
 10 01
 11 01
 12 01
 13 01
 14 01
 15 01
 16 01
 17 01
 18 01
 19 01
 20 01
 21 01
 22 01
 23 01
 24 01
 25 01
 26 01
 27 01
 28 01
 29 01
 30 01
 31 01
 32 01
 33 01
 34 01
 35 01
 36 01
 37 01
 38 01
 39 01
 40 01
 41 01
 42 01
 43 01
 44 01
 45 01
 46 01
 47 01
 48 01
 49 01
 50 01

Cromatograma 2

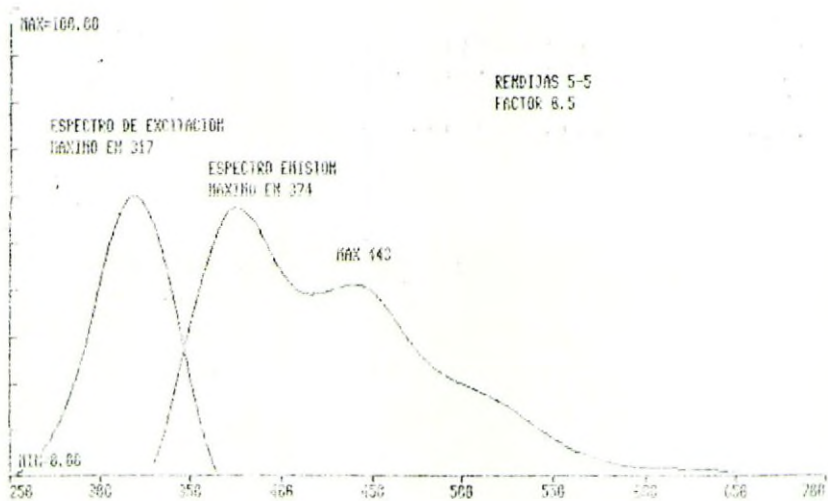
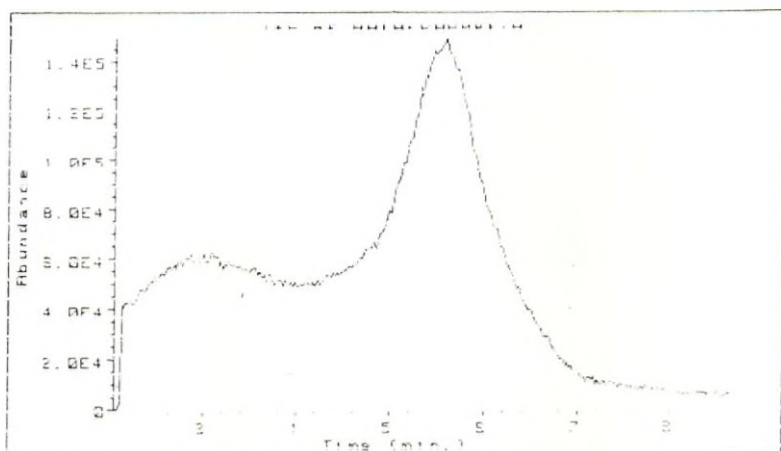


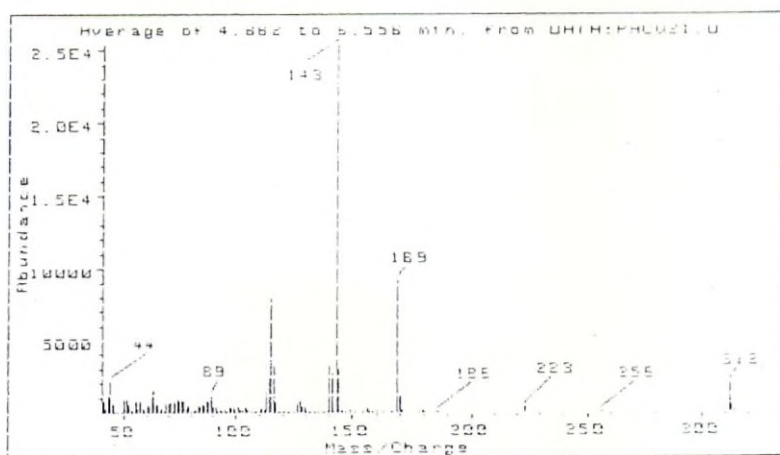
Figura 1. Espectro de emisión y excitación de dinaftilurea en presencia de exceso de reactivo.



T: null.
 Z: TIC of DATA:PR0021.D
 Y: null.
 X: null.

DRM done
 [OE]

| | | | | | | | |
|------|---------|-------|-----------|----------|---------|----------|-----------|
| File | Options | Tools | View Data | Spectrum | Library | Identify | Reference |
| File | Options | Tools | View Data | Spectrum | Library | Identify | Reference |

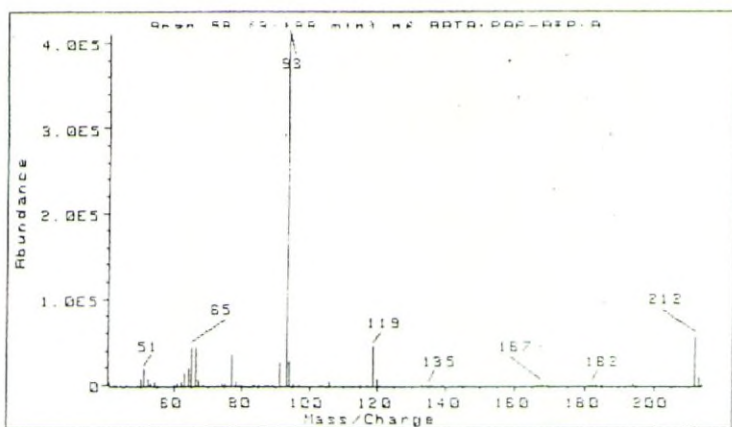


T: null.
 Z: TIC of DATA:PR0021.D
 Y: null.
 X: Average of 4.882 to 5.556

[MS1]

| | | | | | |
|----------|------|---------|---------|---------|---------|
| Previous | Next | Average | Library | Library | Library |
| Previous | Next | Average | Library | Library | Library |

Figura 2. Espectro de masas de dinaftilurea



DRAW done
[MS1]

T: Scan 75 (3.572 min) of DAT
Z: TIC of DATA:PAC-DIP.D
Y: Scan 74 (3.551 min) of DAT
X: Scan 56 (3.166 min) of DAT

Previous Spectrum Next Spectrum Average Spectrum Tabulate Spectrum Zoom In MORE KEYS Exit

Scan 56 (3.166 min) of DATA:PAC-DIP.D

| m/z | abund. | m/z | abund. | m/z | abund. | m/z | abund. |
|-------|--------|-------|--------|--------|--------|--------|--------|
| 41.00 | 3385 | 64.05 | 19144 | 89.05 | 417 | 136.05 | 184 |
| 42.00 | 770 | 64.95 | 43640 | 91.05 | 25980 | 139.05 | 244 |
| 43.00 | 469 | 65.05 | 42928 | 93.05 | 410368 | 166.00 | 402 |
| 44.15 | 704 | 67.05 | 4841 | 94.05 | 27728 | 167.00 | 888 |
| 45.65 | 277 | 68.05 | 272 | 95.05 | 977 | 168.00 | 400 |
| 45.90 | 278 | 72.95 | 476 | 97.05 | 525 | 169.00 | 207 |
| 49.00 | 705 | 73.95 | 2069 | 103.05 | 198 | 181.00 | 196 |
| 49.95 | 6678 | 74.95 | 1501 | 104.05 | 267 | 182.00 | 352 |
| 50.95 | 18158 | 77.05 | 33648 | 106.05 | 3183 | 183.15 | 152 |
| 51.95 | 7357 | 78.05 | 3922 | 115.05 | 346 | 185.00 | 194 |
| 52.95 | 1407 | 79.05 | 476 | 117.20 | 211 | 193.00 | 274 |
| 53.95 | 2758 | 80.05 | 346 | 119.05 | 44696 | 194.00 | 1876 |
| 55.05 | 302 | 83.05 | 523 | 120.05 | 7166 | 195.00 | 362 |
| 59.95 | 574 | 83.55 | 486 | 121.05 | 588 | 212.00 | 55856 |
| 60.95 | 1957 | 84.95 | 336 | 133.05 | 351 | 213.00 | 8429 |
| 61.95 | 4060 | 86.95 | 425 | 134.05 | 241 | 214.00 | 698 |
| 63.05 | 13651 | 87.95 | 425 | 135.05 | 407 | | |

Figura 3. Espectro de masas de difenilurea.

Regression Analysis - Linear model: Y = a+bx

Dependent variable: CI
Independent variable: Conccppm

| Parameter | Estimate | Standard Error | T Value | Prob. Level |
|-----------|----------|----------------|----------|-------------|
| Intercept | -94806.4 | 38789.3 | -2.44414 | 0.0346031 |
| Slope | 119500 | 2111.42 | 56.597 | 7.19425E-14 |

Analysis of Variance

| Source | Sum of Squares | Df | Mean Square | F-Ratio | Prob. Level |
|---------------|----------------|----|-------------|-------------|-------------|
| Model | 5.3551E0012 | 1 | 5.3551E0012 | 3.2032E0003 | .00000 |
| Error | 1.6718E0010 | 10 | 1.6718E0009 | | |
| Total (Corr.) | 5.3718E0012 | 11 | | | |

Correlation Coefficient = 0.998443
R-squared = 99.69 percent
Std. Error of Est. = 40887.5

Tabla 1

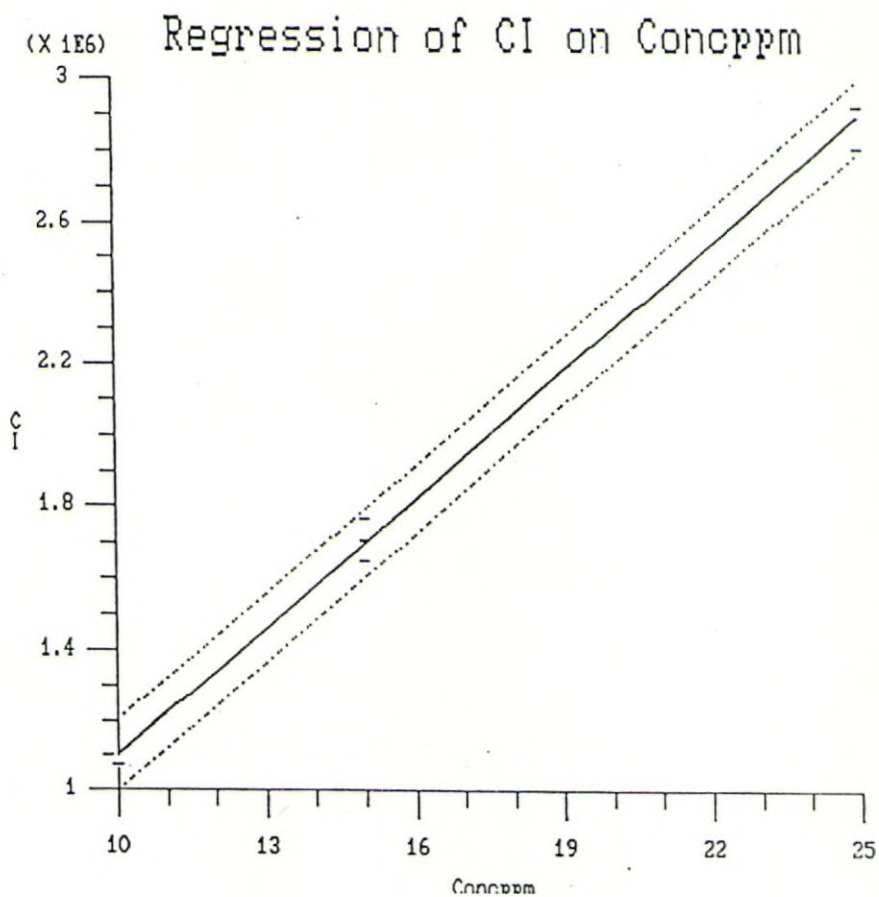


Figura 4

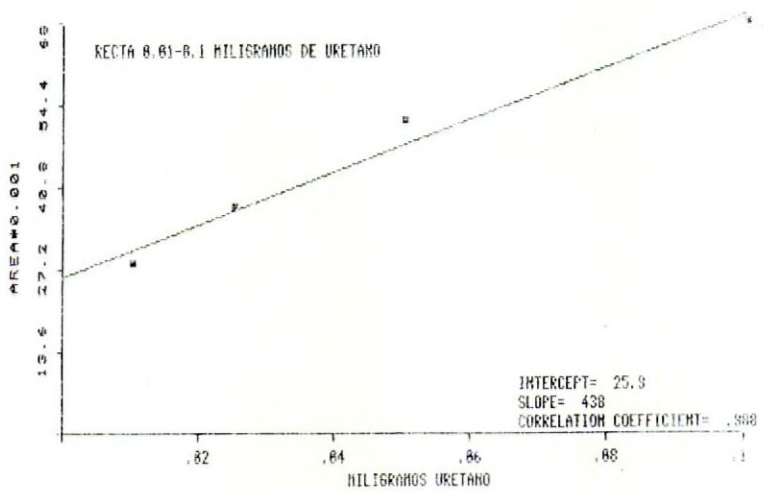
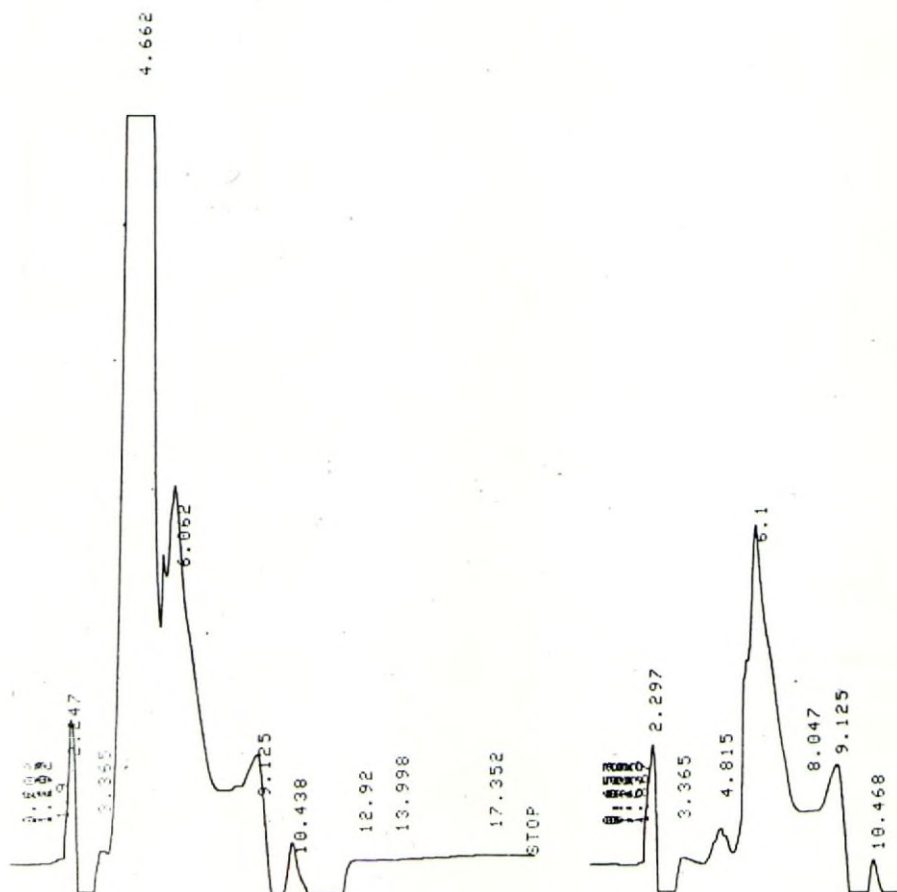


Figura 5



Cromatograma 3 y 4. Extracción del exceso de anilina (4.662 minutos). El pico de la difenilurea sale a 6.1 minutos.

DETERMINACION CONJUNTA DE VAINILLINA Y SIRINGALDEHIDO EN RON MEDIANTE EL MODELO GRAFICO ISODIFERENCIAL

**C. CARNERO, M. HERNANDEZ, J.C. MARQUEZ,
A. HEREDIA y F. GARCIA SANCHEZ**

**Departamento de Química Analítica y Departamento de Bioquímica
Facultad de Ciencias. Universidad de Málaga**

1.- INTRODUCCION

Diversos aguardientes, entre ellos el ron, son sometidos a un proceso de envejecimiento en barriles de madera (roble o recina) que puede durar algunos años. Durante este tiempo se produce una evolución, denominada envejecimiento, en la que se desarrollan unas cualidades organolépticas más completas (1).

En el curso del envejecimiento básicamente tiene lugar un proceso de extracción y degradación de lignina de la madera del barril que da como resultado la formación de diversos compuestos aromáticos, principalmente vainillina y siringaldehido (Figura 1), que contribuyen, en cierta forma, al aroma y sabor final de la bebida (2).

La formación de los aldehídos fenólicos requiere años y en líneas generales puede afirmarse que depende del tipo de barril y del grado alcohólico del destilado. Es por ello que la presencia de vainillina y siringaldehido en el ron, además de su contribución a las características organolépticas de la bebida, supone un índice apropiado del tratamiento a que ha sido sometido el producto, y por tanto, de su calidad. Sin embargo, desgraciadamente es una práctica habitual añadir vainillina al ron con objeto de mejorar sus cualidades de forma rápida, lo cual supone un fraude para el consumidor.

Los resultados obtenidos por Puech y Jouret (1) en estudios realizados sobre distintas muestras de aguardientes, coñac y ron, indican que existe un equilibrio entre el contenido en siringaldehido y vainillina cuando se producen de modo natural. Estos autores

han encontrado que la relación entre la concentración de siringaldehído y vainillina oscila entre 1,4 y 2,5.

Por todo ello es fácil entender que disponer de un método riguroso y fiable de determinación de estos dos aldehídos permitiría llevar a cabo un control de calidad del producto y, por otra parte, poner de manifiesto una eventual práctica fraudulenta.

Este problema ha sido resuelto anteriormente de formas diversas, por ejemplo, Puech y Jouret (1) han propuesto un método cromatográfico (cromatografía líquida) para la cuantificación de vainillina y siringaldehído en aguardientes, coñac y rones. El inconveniente de este método es que requiere una extracción previa que, según los autores, necesita una duración de tres horas.

Villalón y otros (3, 4) han desarrollado un método espectrofotométrico para la determinación de estos dos aldehídos fenólicos. El método está basado en la distinta velocidad de destrucción de cada aldehído, vainillina y siringaldehído, por ataque con una misma concentración de oxidante (H_2O_2) a PH básico ($pH=10$). Aunque el método que proponen estos autores proporciona resultados satisfactorios tiene como inconveniente que es necesario esperar por espacio de treinta minutos para que el siringaldehído quede totalmente destruido y sea posible determinar el contenido de vainillina. Además, la determinación del contenido de siringaldehído es sólo aproximada ya que se realiza de forma indirecta.

El objetivo del método que se presenta en esta comunicación es el de resolver el problema que plantea la determinación de vainillina y siringaldehído en ron haciendo uso de la espectroscopia de derivadas. Para ello se ha empleado un procedimiento gráfico, el modelo de medida isodiferencial, con los resultados que se discuten a continuación.

2.- PARTE EXPERIMENTAL

2.1.- Modelo de medida isodiferencial

Este es un procedimiento gráfico con el que hemos obtenido resultados satisfactorios en la resolución de dos compuestos que presentan un hábito espectral solapado (5, 6, 7). En líneas generales, este modelo exige el cumplimiento de dos condiciones:

- Que se cumpla la ley de Beer en todo el rango de concentraciones estudiado.
- Que la ^{máxima} de absorción no varíe con la concentración del analito, lo cual asegura la existencia de un único punto de corte en la línea base de los espectros de derivada.

Aunque podría realizarse una discusión más detallada (6) para explicar el fundamento de este método, cabrían aquí establecer las siguientes consideraciones: para cada longitud de onda la absorbancia de una disolución de una mezcla de dos componentes vendrá dada por:

$$A_{mezcla} = A_1 + A_2;$$

y, por tanto, para los espectros de primera derivada se cumplirá a cada longitud de onda que:

$$dA_{mezcla}/d = dA_1/d + dA_2/d ;$$

esto significa que si medimos la amplitud del espectro de primera derivada de la disolu-

ción mezcla a una λ en la que la amplitud de la primera derivada del otro componente sea cero, la lectura obtenida corresponderá exclusivamente al primer componente. Idénticas consideraciones cabrían para el otro componente de la mezcla.

2.2.- Análisis cuantitativo

En la Figura 2 aparecen los espectros de absorción de una disolución de vainillina (10 μM), de siringaldehído (15 μM) y de una mezcla de ambos en esas mismas concentraciones a pH 10. Puede observarse el fuerte solapamiento espectral que tiene lugar entre ambos compuestos. El espectro de la mezcla no es más que el espectro suma de los componentes de la mezcla.

En la Figura 3 se muestran los espectros de primera derivada para la vainillina y siringaldehído a distintas concentraciones. Puede observarse que en ambos casos aparecen sendos puntos isodiferenciales en la línea base donde podrá medirse la amplitud del espectro de derivada del otro componente sin esperar, al menos teóricamente, interferencia alguna. Además se presenta la particularidad de que el punto isodiferencial de cada componente coincide justamente con la longitud de onda en que la amplitud del espectro de derivada del otro componente es máxima, que es precisamente la condición de máxima sensibilidad del método.

Las respectivas rectas de calibrado de cada compuesto se obtienen midiendo desde la línea base hasta el punto de corte con el espectro de derivada desde cada punto isodiferencial, es decir, a 352 nm para el siringaldehído y a 368 nm para la vainillina. Las rectas de calibrados obtenidas mediante ajustes por el método de mínimos cuadrados fueron las siguientes:

donde c es la concentración en $\mu\text{g}/\text{ml}$.

Como resultado de los ensayos de reproducibilidad se determinaron las características analíticas del método para ambos compuestos con los resultados que se resumen en la Tabla 1.

3.- RESULTADOS Y DISCUSION

El método se empleó en la determinación de ambos compuestos en distintas mezclas sintéticas de vainillina y siringaldehído con diferentes relaciones de concentración, con los resultados que se presentan en la Tabla 2. Estos resultados indican que, si aceptamos como tolerable un error igual o menor a un 10%, el siringaldehído sólo puede determinarse en presencia de una concentración de vainillina tres veces superior, en el nivel de concentración estudiado. Sin embargo, excesos de 7 a 1 de siringaldehído sobre vainillina ocasionan errores perfectamente asumibles.

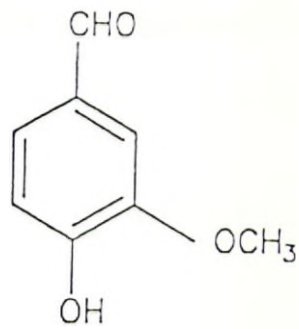
Cuatro rones adquiridos en establecimientos de alimentación fueron utilizados para llevar a cabo la determinación de vainillina y siringaldehído por el método propuesto. Dos de estos rones (el 1 y 2) eran del tipo llamado ron blanco, mientras que los otros dos (el 3 y 4) eran del tipo ron dorado. Antes del ensayo propiamente dicho se registraron los espectros de absorción de cuatro muestras de los respectivos rones a pH 10, todas las muestras dieron una señal nula a 352 nm, excepto el ron número 4 que mostró una banda ancha con un hombro en la zona de los 350 nm. De esta experiencia podía concluirse

que excepto el ron número 4, los demás rones carecían de aldehídos fenólicos (8). Por esta razón se optó por añadir una concentración conocida de vainillina y siringaldehído y determinar el porcentaje de recuperación al aplicar el método propuesto. Los resultados de este ensayo se resumen en la Tabla 3 en la que pueden observarse unos porcentajes de recuperación muy satisfactorios.

Desde el punto de vista de los resultados obtenidos la metodología que proponemos es comparable con otras anteriormente desarrolladas y reseñadas en este trabajo. Sin embargo, es necesario destacar dos ventajas muy interesantes a favor del método que proponemos, por una parte se posibilita una determinación directa de siringaldehído y, por otra, el procedimiento operatorio es sensiblemente más rápido y simple.

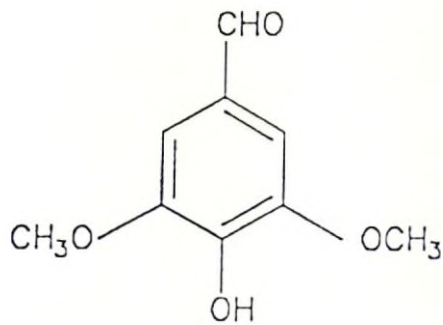
BIBLIOGRAFIA

1. PUECH, J.L. y JOURET, C.; *Ann. Fals. Exp. Chim.*, 1982, **75**, 81.
2. PUECH, J.L.; *Am. J. Enol. Vitic.*, 1981, **32**, 111.
3. VILLALON, M., MONTILLA, J. y GARCIA-VILLANOVA, R., *Anal. Bromatol*, 1987, **XXXIX**, 271.
4. VILLALON, M., MONTILLA, J. y GARCIA-VILLANOVA, R., *Anal. Bromatol*, 1987, **XXXIX**, 281.
5. GARCIA SANCHEZ, F., HERNANDEZ LOPEZ, M. y MARQUEZ GOMEZ, J.C., *Spectrochim. Acta*, 1987, **43A**, 101.
6. GARCIA SANCHEZ, F., HERNANDEZ LOPEZ, M. y MARQUEZ GOMEZ, J.C., *Anal. Chim. Acta*, 1987, **197**, 275.
7. CARNERO RUIZ, C., HEREDIA BAYONA, A. y GARCIA SANCHEZ, F., *J. Agric. Food Chem.*, en prensa.
8. Métodos oficiales de análisis del ron. *Boletín Oficial del Estado (24-X-1985)*. España.



Vainillina

(4-hidroxi-3metoxibenzaldehido)



Siringaldehido

(4-hidroxi-3,5-dimetoxibenzaldehido)

Fig. 1

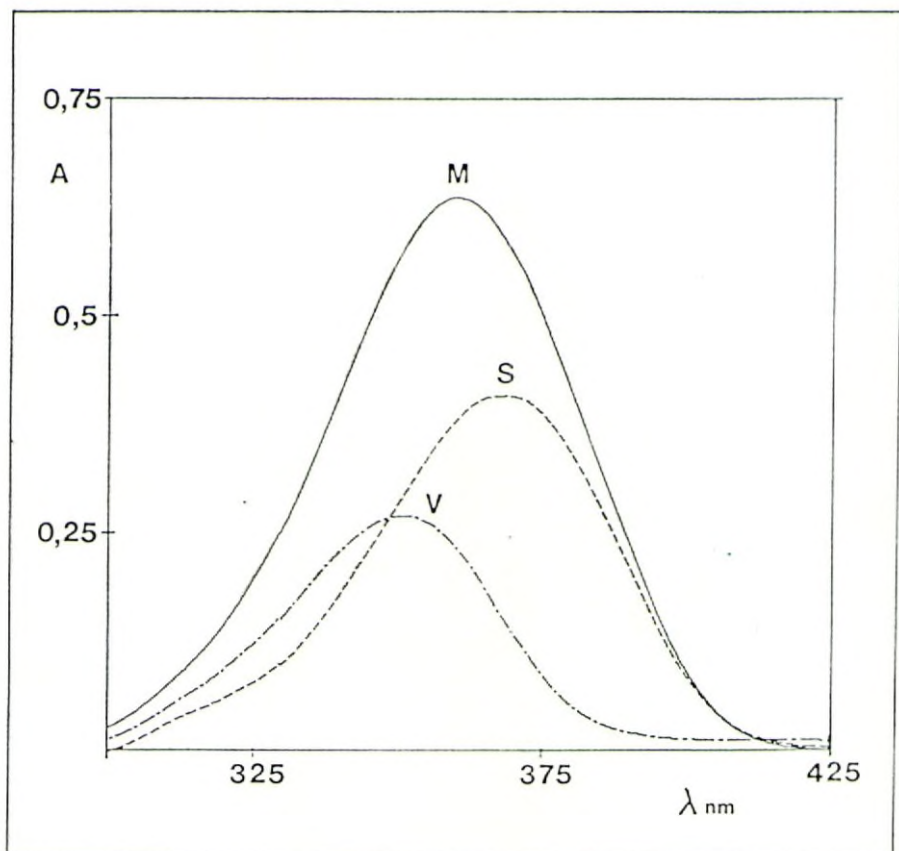


Fig. 2.-

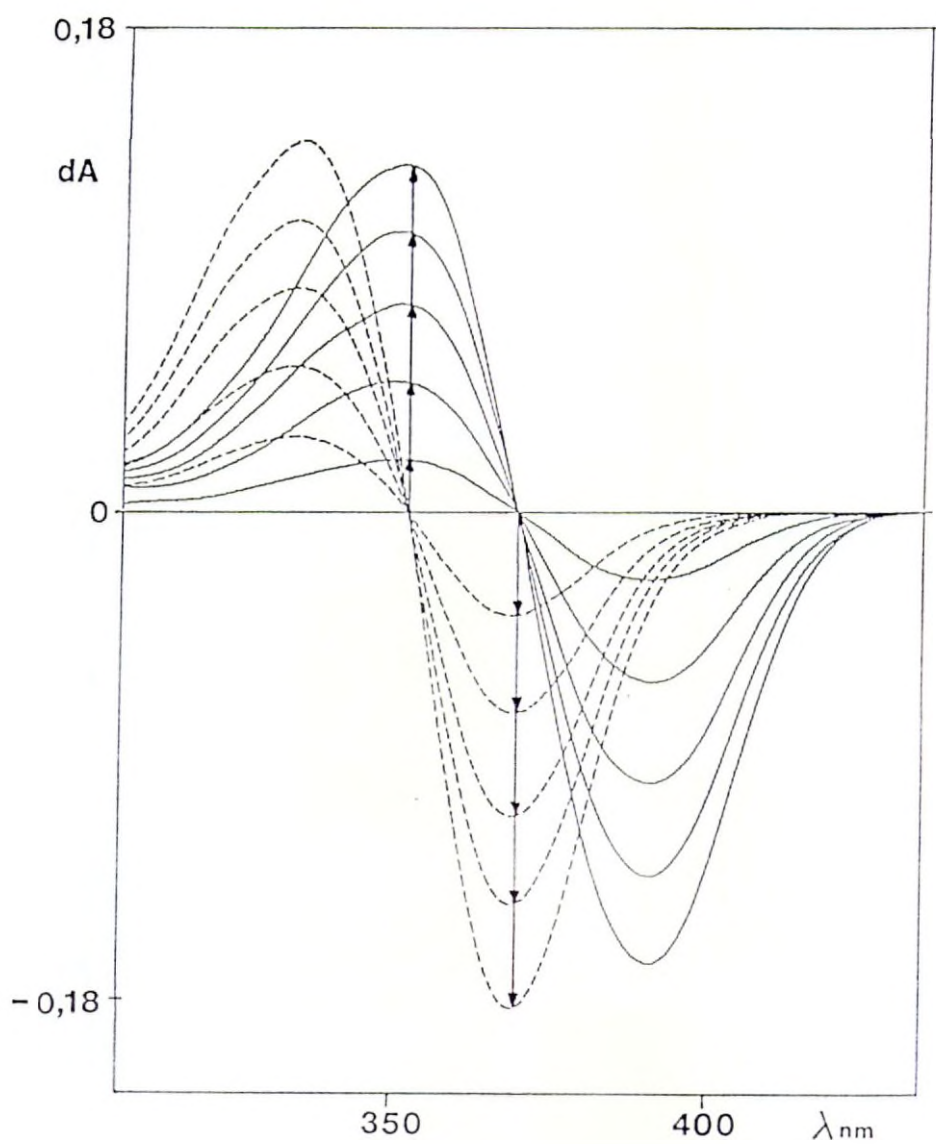


Fig. 3.-

TABLA 1

CARACTERISTICAS ANALITICAS DEL METODO ISODIFERENCIAL PARA LA
 DETERMINACION CONJUNTA DE VAINILLINA Y SIRINGALDEHIDO

| COMPUESTO | S _S | S _A | C _L | C _Q | ERROR | D.E.R. |
|----------------|--------------------|----------------|----------------|----------------|-------|--------|
| | dA | ng/ml | ng/ml | ng/ml | (%) | (%) |
| VAINILLINA | 2.10 ⁻³ | 60 | 81 | 272 | 1,4 | 1,8 |
| SIRINGALDEHIDO | 2.10 ⁻³ | 100 | 165 | 550 | 2,8 | 3,7 |

TABLA 2

ANALISIS DE MEZCLAS SINTETICAS DE VAINILLINA Y SIRINGALDEHIDO

METODO ISODIFERENCIAL

| RELACION A/B (p/p) | Vainillina ($\mu\text{g/ml}$) | | ERROR (%) | Siringaldehido ($\mu\text{g/ml}$) | | ERROR (%) |
|-----------------------|------------------------------------|------------|--------------|--|------------|--------------|
| | Puesto | Encontrado | | Puesto | Encontrado | |
| 7:1 | 7,00 | 7,06 | +0,9 | 1,00 | 0,87 | +13,0 |
| 5:1 | 5,00 | 4,97 | -0,6 | 1,00 | 1,14 | +14,0 |
| 3:1 | 3,00 | 3,06 | +2,0 | 1,00 | 0,92 | -8,0 |
| 2:1 | 4,00 | 3,99 | -0,2 | 2,00 | 1,97 | -1,5 |
| 1:1 | 2,00 | 1,98 | -1,0 | 2,00 | 1,97 | -1,5 |
| 1:2 | 2,00 | 1,98 | -1,0 | 4,00 | 4,38 | +9,5 |
| 1:3 | 1,00 | 0,97 | -3,0 | 3,00 | 3,28 | +9,3 |
| 1:5 | 1,00 | 0,97 | +3,0 | 5,00 | 5,43 | +8,6 |
| 1:7 | 1,00 | 0,86 | -14,0 | 7,00 | 7,63 | +9,0 |

TABLA 3

ANALISIS DE RON

| MUESTRA | VAINILLINA ($\mu\text{g/ml}$) | | | SIRINGALDEHIDO ($\mu\text{g/ml}$) | | |
|---------|------------------------------------|-----------------|------------------|--|-----------------|------------------|
| | Añadido | Encontrado* | Recuperación (%) | Añadido | Encontrado* | Recuperación (%) |
| 1 | 3,00 | $3,06 \pm 0,05$ | $102,1 \pm 1,6$ | 2,00 | $2,13 \pm 0,07$ | $106,5 \pm 3,5$ |
| 2 | 3,00 | $2,82 \pm 0,02$ | $94,1 \pm 0,7$ | 2,00 | $2,12 \pm 0,07$ | $105,8 \pm 3,5$ |
| 3 | 3,00 | $3,11 \pm 0,07$ | $103,7 \pm 2,4$ | 2,00 | $1,90 \pm 0,11$ | $95,2 \pm 5,8$ |
| 4 | -- | $1,53 \pm 0,01$ | ----- | -- | 0,00 | ----- |

* Valor medio \pm desviación estandar de 3 determinaciones

CONTROL ANALITICO EN LA VINIFICACION DEL JEREZ

J. DIEZ MARTIN *, J. GOMEZ BENITEZ *, CARMELO G. BARROSO *

*** Osborne y Cía., S.A. Departamento Técnico**

C/ Fernan Caballero, 3. 11500 Puerto de Santa María (Cádiz)

*** Departamento Química Analítica. Facultad de Ciencias
Universidad de Cádiz. Apartado 40. 11510 Puerto Real (Cádiz)**

RESUMEN

Se ha realizado un seguimiento en la vinificación del Jerez, de alrededor de cincuenta compuestos de interés enológico. Los controles analíticos que se ha llevado a cabo han sido; parámetros generales (densidad, grado alcohólico, pH, acidez total, etc.), mediante los métodos de análisis convencionales; azúcares, glicerina y ácidos orgánicos de forma simultánea mediante HPLC; determinación de 15 aminoácidos primarios mediante HPLC; alcoholes superiores mediante la cromatografía de gases y análisis de compuestos fenólicos mediante HPLC. Dichos estudios se han realizado en distintos muestreos, desde que se obtiene el mosto en la prensada hasta la fermentación lenta, analizándose de esta forma tres depósitos diferentes. Así se propone una metodología analítica completa, para el mejor seguimiento de un proceso de vinificación.

INTRODUCCION

En un estudio sobre la vinificación del Jerez, es indudable que con el conocimiento aportado por los parámetros convencionales se puede llevar a buen proceso de vinificación a un final correcto, y dichos parámetros por sí solos nos dan una información suficiente, por ejemplo, sobre el punto final de la vinificación. Sin embargo, no cabe duda que cuanto mayor información obtengamos, podremos conocer mucho mejor los fenómenos que tienen lugar durante los procesos en la vinificación.

Este tipo de información nos puede venir dada gracias a las técnicas instrumentales, que aunque caras, resulta totalmente necesarias en un laboratorio enológico, por los

numerosos datos aportados por muestra y por el número elevado de muestras que se pueden procesar en poco tiempo, en definitiva por la gran cantidad de información que se obtiene con el uso de éstas.

En el presente trabajo se ha realizado un seguimiento en la vinificación del Jerez, mediante el estudio de casi cincuenta parámetros de interés enológico, agrupados en tres bloques:

- convencionales: densidad, Bé, pH, AcT, GL. (clave T1).
- cromatografía de gases: alcoholes superiores (T2).
- Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) para el estudio de:
 - a) ácidos orgánicos, glicerina, azúcares (de forma simultánea) (T3).
 - b) aminoácidos (T3).
 - c) polifenoles (T4).

Así, se propone una metodología analítica completa, para el mejor conocimiento del proceso de vinificación.

MATERIAL Y METODO

Instrumentación

Para el estudio por HPLC se ha contado con un equipo Waters compuesto por: 2 bombas mod. 510; 1 inyector automático mod. 712; 1 detector (IR) mod. 412 con horno; 1 detector (UV-VIS) mod. 990 con estación de datos NEC APC III; 1 detector mod. 420 de fluorescencia y un ordenador central Digital 380. Las columnas utilizadas han sido 4 Fast Fruits en serie, 1 ODS2 de 25 cm y 5µm, 1 uBondapack C18 de 10 µm.

Para el estudio de cromatografía de gases se ha utilizado un equipo Perkin-Elmer E3B con doble ionización de llama y columna SGE BP20 30 m 530 µ, con un inyector automático AS 300.

Muestreo

Se han llevado a cabo una serie de muestreos en cada proceso de vinificación, realizando los análisis mencionados anteriormente, si bien conviene señalar que los controles de polifenoles se han realizado una vendimia anterior a la de los demás parámetros. Concretamente, durante el proceso de prensada se ha obtenido una muestra, cuando transcurrieron diez minutos de empezar a cargar, correspondiendo al desvinado, (DV) y otra muestra tomada cuando el registrador de presión de la prensa marcaba 1 kg (P).

Una vez transcurrida la prensada, los mostos se traspasaron al depósito de desfangado, donde se tomaron dos muestras a una altura de 1.5 m (lo que supone aproximadamente 1/3 del total del depósito), una tomada al comienzo del desfangado (DF1) y la otra al final del proceso (DF2), transcurridas 12 horas.

Finalizado el desfangado y traspasado el mosto al depósito horizontal de fermentación, se llevó a cabo una toma de muestra diaria durante una semana (F1-F7), coincidiendo con el periodo de fermentación del depósito. Estos depósitos son de 21.000 litros de capacidad y refrigeración interna para mantener la temperatura a 24,5 C.

Tratamiento de muestras

Respecto al tratamiento de las muestras, este ha sido el mismo para todas: colocación en el baño de ultrasonido hasta eliminación de gases; centrifugación durante 15

min. a 4000 rpm y filtración por disco de membrana de 0.22 μ m Durapore. Tenemos por tanto un tratamiento de muestras fácil, sencillo y sobre todo rápido. Sin embargo en el caso del análisis de los polifenoles, el tratamiento de las muestras es algo especial, dado los problemas que éstos originan, así estas muestras cuando se obtenían se filtraban directamente mediante unos paños especiales de algodón por presión manual, entrando en contacto el líquido filtrado de esta forma, con unos estabilizantes (ac. ascórbico 0.2% y DMF 15%) depositados en el bote de recogida de muestras. Estas convenientemente homogeneizadas, se congelan hasta proceder a su extracción y posterior filtración y análisis por HPLC (1).

RESULTADOS Y DISCUSION

Y seguidamente pasamos a comentar los distintos parámetros controlados, así respecto a los parámetros convencionales (fig. 1) se observa como el Bé es superior en el mosto obtenido bajo presión (P) que en el desvinado (DV) y superior en DF1 que en DF2. Con respecto a la densidad, partiendo de unos valores de 1.082 en DV y P, en F7 ya es de 0.9936 como era de esperar.

Con respecto al grado alcohólico ya el segundo día del muestreo de fermentación alcanza unos valores de 8-9 subiendo gradualmente en días posteriores. Respecto al pH y AcT de nuestros mostos, tan sólo comentar la baja acidez total que nos obliga a la adición tradicional de yeso y ácido tartárico.

Cuando empleamos la cromatografía de gases (2) para el análisis de alcoholes superiores (fig. 2), podemos observar como el metanol se encuentra en la misma proporción prácticamente desde el F1 a F7. Cabe señalar otras observaciones a lo largo de la fermentación, con estos compuestos. Así, el n-propanol, se encuentra formado en proporciones finales desde el 2.º día (F2). El isobutanol alcanza también valores normales ya desde el 2º día (F2). Los iso-amílicos aunque siguen creciendo hasta el tercer día donde alcanzan valores finales, el salto grande está entre F1 y F2 donde ya tiene el 75% de la cantidad total.

Conviene comentar, como conclusión final de este apartado la subida considerable entre el primer y segundo día, donde ya alcanza en general casi valores finales, siguiendo la misma tónica que el grado alcohólico.

No se han visto otros parámetros ya que las muestras se han destilado previamente al análisis y por ejemplo el caso del acetaldehído pensamos que debe medirse mediante técnica de espacio de cabeza o inyección directa de la muestra (con el consiguiente problema de suciedad aportado a la columna).

Respecto a los análisis procedentes de la cromatografía líquida de alta regulación, en primer lugar el estudio de azúcares y ácidos orgánicos (3, 4, 5) de forma simultánea, (fig. 3) conectando cuatro columnas Fast Fruit en serie, fijando la temperatura del horno a 65 C y utilizando como eluyente PO H exento de metales al 0.75% en agua bidestilada. Se utiliza fosfórico en vez de sulfúrico, como sugieren otros autores, debido a que el primero se puede conseguir de mayor pureza con respecto a metales, ya que las trazas de metales "envenenarían" las columnas. Estas columnas, a pesar de su coste, se pueden limpiar de residuos contaminantes perfectamente mediante el paso de metanol diluido y

nítrico diluido, para reactivarlas, ambos de especial pureza para HPLC. La longitud de onda seleccionada ha sido de 214 nm, ya que, de los espectros obtenidos por diodo array, por debajo de ésta los problemas de interferencias aumentan considerablemente las dificultades para cuantificar los resultados.

Así los parámetros medidos son cítrico, tartárico, málico, láctico, succínico, acético, glucosa, fructosa, glicerina. Respecto a las interferencias encontradas, podemos señalar:

–El succínico, que posee un tiempo de retención idéntico al skímico y al dar éste último una respuesta enorme en el UV se mide (el succínico) en el detector de índice de refracción donde la respuesta de éste prácticamente es nula a las concentraciones en que se encuentra en las muestras.

–Al final del tartárico y solapado con él, en pequeña proporción se encuentra el oxalacético.

–Entre el tartárico y el málico aparecen pirúvico y glucónico.

–Con el málico aparece el glioxílico.

–El glicólico se eluye cuando empieza el láctico.

–El oxoglutarico no interfiere para nada puesto que sale antes que el cítrico.

Estas interferencias dan lugar a pequeños errores en la cuantificación, pero dado que los ácidos interferentes se encuentran en muy pequeñas cantidad con respecto a los que se van a medir, se asume este pequeño error dada la rapidez con que se obtienen los resultados.

No se han observado mejoras con el empleo de cartuchos filtrantes y teniendo en cuenta el costo importante por cartucho se ha desestimado el empleo de estos. El análisis es relativamente rápido dada la cantidad de compuestos que se determinan simultáneamente y no hay cambios apreciables en los tiempos de retención que a veces obligaría a una integración más individual y laboriosa.

Respecto al análisis de aminoácidos (6,7), éste se realiza derivatizando los aminoácidos primarios con OPA (o-phtaldehído) adicionado de 2 mercaptoetanol, se forman rápidamente y a temperatura ambiente los isoindoles tiosustituídos que son altamente fluorescentes, empleando para ello, por tanto el detector de fluorescencia.

Para evitar variaciones en los tiempos de retención debido a cambios en la temperatura ambiental, se introduce la columna y precolumna en un horno a 45 C. La precolumna está rellena de pequeñas bolas de vidrio y la columna es una ODS2 5 μ y 25 cm.

Las condiciones cromatográficas son:

Disolvente A: 40 ml tampón A (fosfato disódico 8,9 g/l y acetato sódico 6,8 g/l) + 20 ml MetOH + 20 ml THF + AcH (hasta pH = 7,4) (Se conserva en frigorífico, teniendo un tiempo de vida de 2 semanas).

Disolvente B: MetOH 65% en agua.

Reactivo OPA: 500 mg OPA se disuelven e 10 ml MetOH, enrasar hasta 100 con tampón Borato sódico 0,4 M a pH 10 + 300 μ l 2-mercaptoetanol.

(No se debe utilizar durante más de 3 ó 4 días).

Gradiente:

| <i>tiempo</i> | <i>flujo total</i> | <i>flujo A(%)</i> | <i>flujo B(%)</i> | <i>curva</i> |
|---------------|--------------------|-------------------|-------------------|--------------|
| 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 2.0 | 0.1 | 100 | 0 | 1 |
| 2.5 | 1.5 | 100 | 0 | 6 |
| 2.5 | 1.5 | 77 | 23 | 5 |
| 45 | 1.5 | 0 | 100 | 6 |
| 46 | 1.5 | 100 | 0 | 11 |
| 60 | 0 | 100 | 0 | 11 |

Para el análisis de aminoácidos hay que tener ciertas precauciones como: pinchar cada cinco muestras, un patrón (mezcla de aminoácidos), para poder corregir los tiempos de retención ya que esta columna se va degradando rápidamente y van cambiando los tiempos de retención. Aunque las casas comerciales dan como duración de la columna 100 análisis, se puede llegar a 150 sin muchos problemas teniendo la precaución de alargar el análisis unos 15 min. más después de la salida de lisina, esto mejora bastante la reproducibilidad y la vida de la columna. Una observación muy práctica del estado de vida de la columna es la aparición de dobles picos es decir en la bajada de un pico que aparezca otro pico más pequeño, esto es debido a la formación de canales preferenciales dentro de la columna lo cual obliga a integraciones mucho más laboriosas, puesto que hay que integrar pico a pico y dado que son 15 los estudiados por muestra, compensa el cambio a una columna nueva. Si se hacen análisis en serie y continuados lo ideal es disponer de 3 columnas en el laboratorio.

Conviene resaltar, respecto al OPA, que hay que adicionarle diariamente, 2 mercaptoetanol. Respecto a los patrones, el primero que pinchemos nos sirve para hallar factores de respuesta mediante calibración y los demás (1 cada 5 muestras) utilizarlos únicamente para controlar los tiempos de retención, como ya hemos mencionado.

Además de los 15 aminoácidos estudiados aparecen también Asparragina (entre glutámico y serina), Glutamina (entre serina e histidina), Gaba (entre alanina y tirosina), triptófano (entre valina y fenilalanina) y ornitina (entre leucina y lisina).

Respecto a la variación de los aminoácidos, por ejemplo en la fermentación, (fig. 4) podemos resaltar el gran contenido de arginina, por encima de 0.8 g/l, la pequeña cantidad que se encuentra de valina: aproximadamente 2 mg/l. Los demás se encuentran con valores en torno a las pocas decenas de mg/l.

Podemos observar como según va transcurriendo la fermentación van disminuyendo sus concentraciones (la arginina en 2 días disminuye 10 veces) hasta un punto de inflexión situado aproximadamente en el cuarto día y a partir de aquí se van recuperando en general hasta valores cercanos a los de partida como veremos en la próxima comunicación (salvo la arginina como es lógico).

Respecto al análisis de polifenoles podemos obtenerlo, mediante las condiciones cromatográficas siguientes (8):

Disolvente A: MetOH 10% y AcH 2%.

Disolvente B: MetOH 90% y AcH 2%.

Gradiente: 1^{er} escalón hasta 30%B, y 2 escalón hasta 50%B, hasta final del cromatograma, estimándose aproximadamente unos 45 min.

Detección: la mayoría a 280 y 340 nm.

Para el estudio de los polifenoles, especialmente en las muestras de mostos hay que mantener las precauciones mencionadas anteriormente en la toma de muestra, ya que éstos se degradan con facilidad y sobre todo que varían sustancialmente tan sólo en contacto con el aire, produciendo pardeamientos indeseables, que alteran considerablemente los resultados obtenidos, ya que son precisamente estos compuestos los que participan en estos fenómenos. Esto se evita, al menos en lo que respecta al tiempo de análisis, empleando los estabilizantes que hemos mencionado. Otro aspecto importante a tener en cuenta, en el análisis de polifenoles es la reproducibilidad del método de extracción, operación indispensable, al menos hasta el momento, ya que el método de extracción por etapas (embudo de decantación) aunque ocasiona un buen rendimiento, por contra origina una escasa reproducibilidad, además con este método las muestras de mosto antes de fermentar forman una emulsión posiblemente debida a los compuestos azucarados que dificulta la separación de la fase orgánica. Esto se evita en gran parte, empleando una extracción en continuo o diferencial, manteniendo durante dos horas la extracción con eter.

De esta forma es posible llevar a cabo un seguimiento de estos compuestos durante la vinificación, pudiéndose observar las variaciones de estos compuestos en los distintos procesos (fig. 5), como por ejemplo estos cromatogramas donde se presenta una muestra de mosto antes de fermentar y la misma una vez finalizada la fermentación, observándose notables diferencias en el contenido de algunas especies en concreto. Si bien hay que señalar que dado que los cromatogramas obtenidos son tan complejos, existen ciertos problemas de solapamientos de picos de forma no regular, lo que dificulta la cuantificación fiable de algunos picos en todo el seguimiento.

CONCLUSIONES

Siendo coherente con el título de esta comunicación y con el desarrollo de la misma, la conclusión más lógica es que gracias a esta instrumentación podemos recabar una gran cantidad de información de los distintos procesos estudiados, el problema es como se interprete esa información. No obstante, podríamos recalcar algunas observaciones de los estudios realizados, aunque en la siguiente comunicación (10), se profundizará más en este sentido, así por ejemplo, podríamos señalar el descenso considerable de la arginina, la subida de los alcoholes superiores, sobre todo los dos primeros días de fermentación. La fuerte subida de glicerina, que ya se encuentra en el mosto aunque en poca cantidad, hasta el 2.º día, a partir del cual la subida es más lenta. El lógico descenso de los azúcares, glucosa y fructosa (más rápido en la glucosa, como ya es sabido) en los dos primeros días.

BIBLIOGRAFIA

1. C.G. BARROSO, R. CELA, J.A. PEREZ-BUSTAMANTE "Método analítico para la determinación de compuestos polifenólicos extraídos de la uva y su evolución durante la vinificación". Anal. Bromat., XXXVII-1, 143 (1985).
2. M.A.P.A., Métodos oficiales de Análisis.
3. F.V. 800. O.I.V. (Doc. 1309/86).
4. F.V. 813. O.I.V. (Doc. 1383/86).
5. FRAYNE R.F. "Direct analysis of the mayor organic components in grape must and wine using HPLC". Am. J. Enol. Vitic., 37, 281 (1986).
6. SANDERS E.M., OUGH C.S. "Determination of free amino acids in wine by HPLC". Am. J. Enol. Vitic., 36, 43 (1985).
7. SCHUSTER R., APFEL A. "A new technique for the analysis of primary and secondary amino acids". H.P. Application Note.
8. CARMELO G. BARROSO, R. CELA, J.A. PEREZ-BUSTAMANTE "Evolution of phenolic acids and aldehydes during the different production process of "fino" sherry wine". Z. Lebens. Unters. Forsch, 182, 413 (1986).
9. J. GOMEZ BENITEZ, J. DIEZ MARTIN, CARMELO G. BARROSO. "Estudio comparativo de la vinificación de mosto de Jerez desfangado y filtrado". V Jornadas Universitarias de Viticultura y Enología en Jerez. Jerez, Junio-Julio, 1989.

DENSIDADES

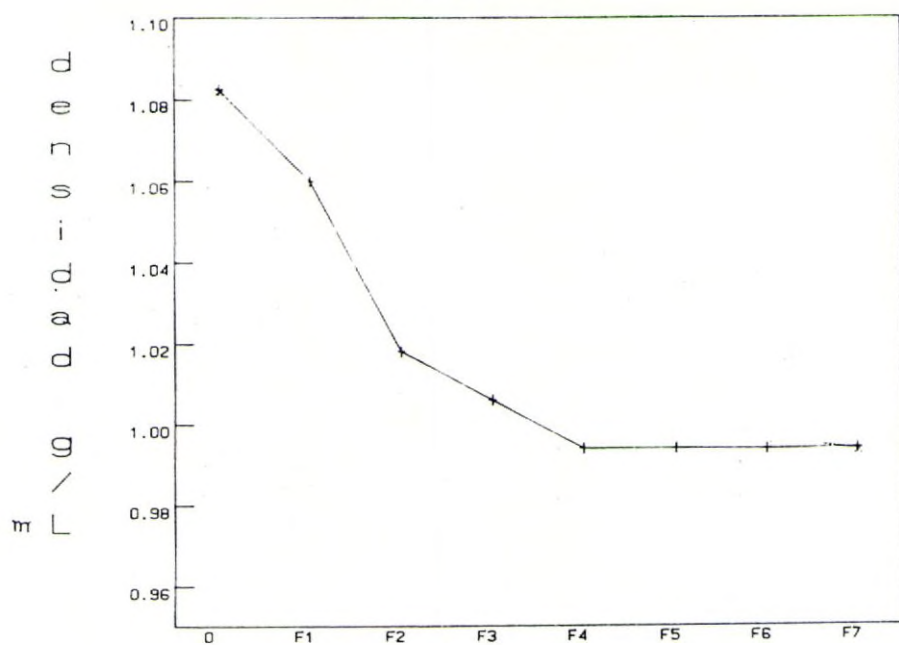
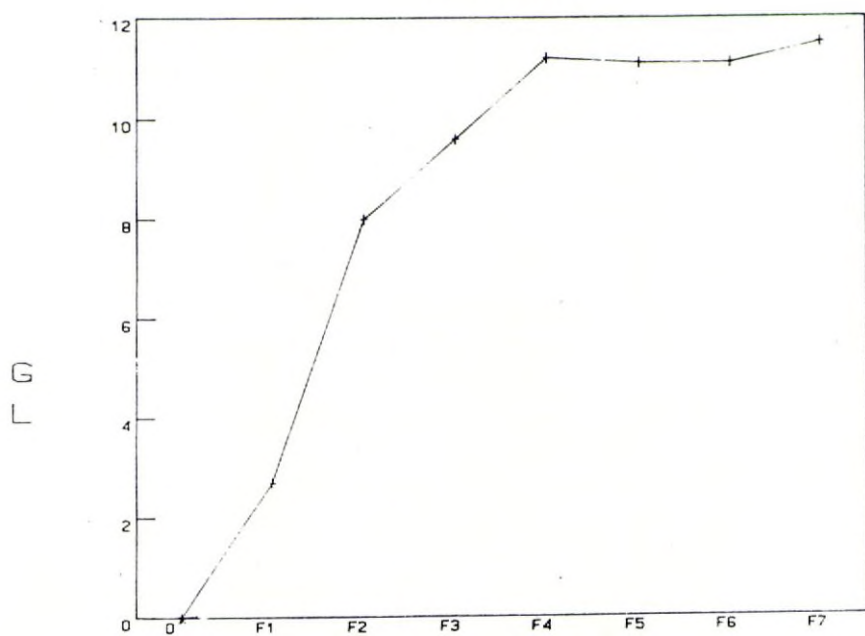
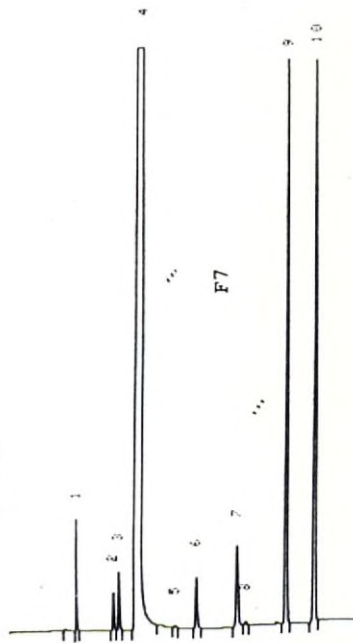


Figura 1

GRADOS



11:47(8)1220
 3:4KT
 10/00/02 20156110



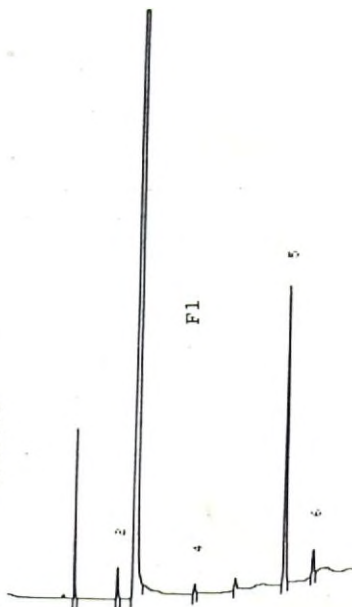
CHROMATOPAC C-338
 SAMPLE NO 9
 REPORT NO 1739
 15 WT 220

FILE 2
 METHOD 363
 SAMPLE WT 100

| PKNO | TIME | AREA | PK | 10MO | CONC | NAME |
|-------|--------|--------|----|----------|--------------|----------|
| 1 | 3.118 | 965 | 2 | 59.2137 | ACETALDEHIDO | |
| 2 | 4.853 | 547 | 3 | 24.6871 | ACETATO DE E | |
| 3 | 5.097 | 941 | 4 | 68.6244 | METANOL | |
| 4 | 6.568 | 271516 | | | | |
| 5 | 7.573 | 49 | | | | |
| 6 | 8.555 | 977 | 6 | 26.8008 | N-PROPANOL | |
| 7 | 10.952 | 1554 | 7 | 48.8871 | 150-BUTANOL | |
| 8 | 10.958 | 106 V | 7 | 2.4667 | 150-BUTANOL | |
| 9 | 12.780 | 9871 | 1 | | 4-METIL-2-PE | |
| 10 | 14.087 | 10615 | 9 | 239.2956 | 150-AMILICOS | |
| TOTAL | | | | | | 469.2956 |

15:47(2)1225
 3:4KT
 10/00/02 20156110

11:47(8)1194
 3:4KT
 10/00/02 15127118



CHROMATOPAC C-338
 SAMPLE NO 9
 REPORT NO 1745
 15 WT 194

FILE 2
 METHOD 363
 SAMPLE WT 100

| PKNO | TIME | AREA | PK | 10MO | CONC | NAME |
|-------|--------|--------|----|----------|--------------|--------|
| 1 | 3.112 | 1134 | 2 | 128.1297 | ACETALDEHIDO | |
| 2 | 5.112 | 474 | 4 | 57.418 | METANOL | |
| 3 | 5.985 | 254307 | | | | |
| 4 | 6.775 | 186 | 6 | 8.4702 | N-PROPANOL | |
| 5 | 10.868 | 5249 | 1 | | 4-METIL-2-PE | |
| 6 | 14.115 | 477 | 9 | 17.9322 | 150-AMILICOS | |
| TOTAL | | | | | | 262.24 |

15:47(2)1225
 3:4KT
 10/00/02 20156110

Figure 2

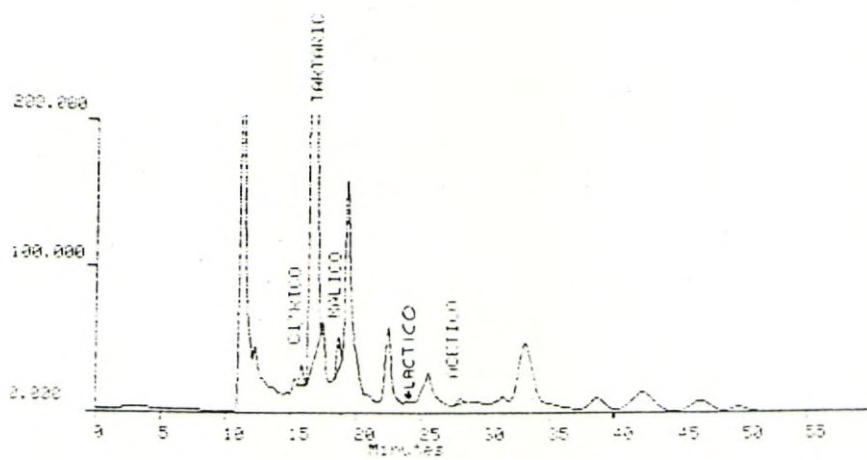
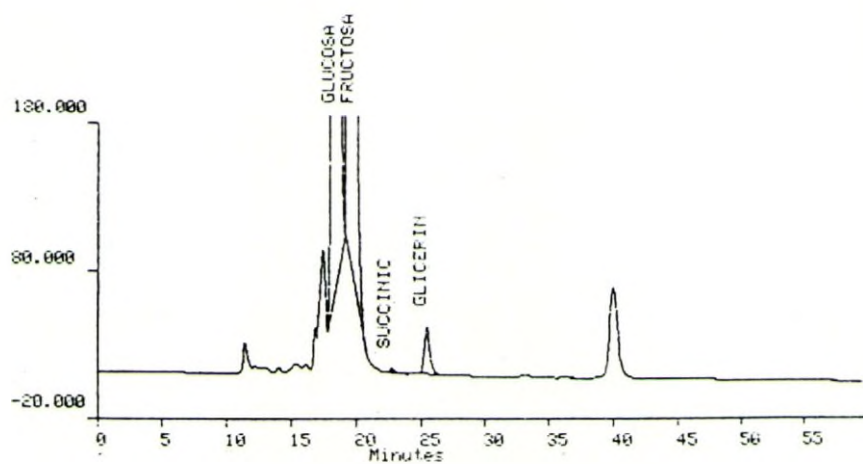


Figura 3

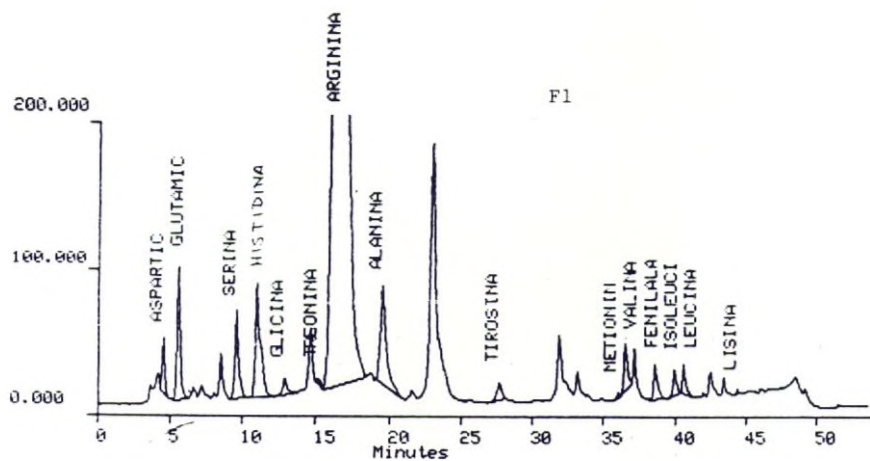
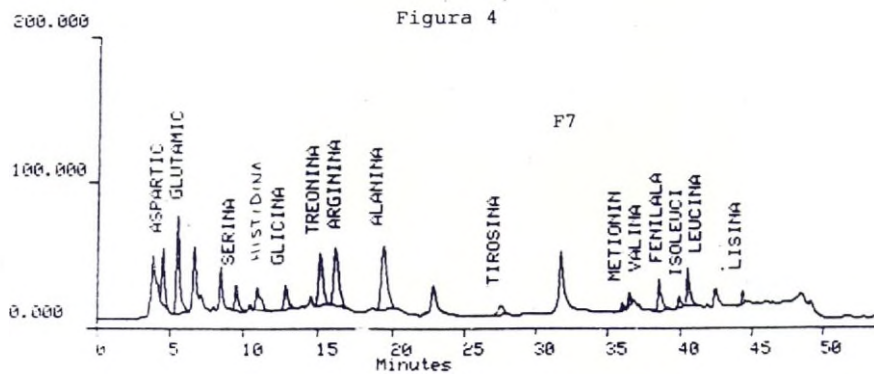


Figura 4



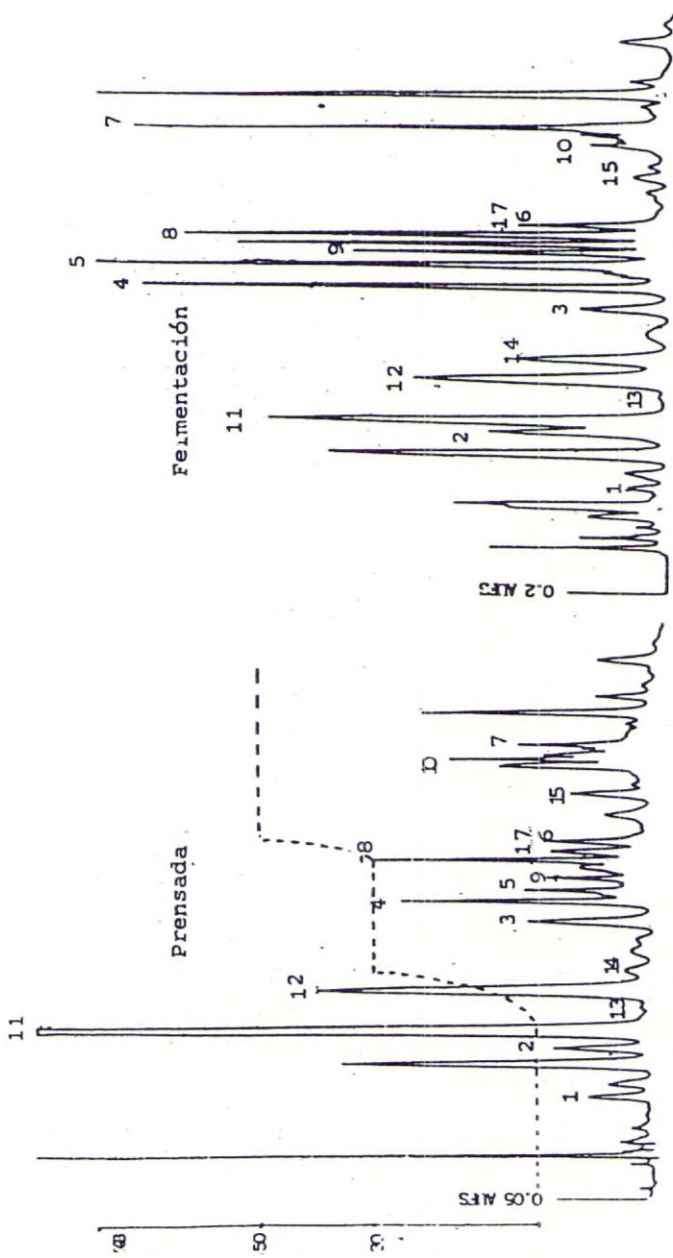


FIGURA 5

ESTUDIO COMPARATIVO DE LA VINIFICACION DE MOSTO DE JEREZ DESFANGADO Y FILTRADO

J. GOMEZ BENITEZ (1)

J. DIEZ MARTIN (1)

C. GARCIA BARROSO (2)

**(1) Osborne y Cía, S.A.; Departamento Técnico; C/ Fernán Caballero, 3;
11500-Puerto de Santa María (Cádiz)**

**(2) Universidad de Cádiz; Facultad de Ciencias Químicas; Departamento de Química
Analítica; Apartado 40; 11510-Puerto Real (Cádiz)**

1.- RESUMEN

Se ha realizado un seguimiento analítico de la vinificación de un mosto desfangado 12 horas a temperatura ambiente y un mosto filtrado con un sistema rotativo a vacío. El estudio incluye desde el prensado de la uva hasta inmediatamente después del deslío. El seguimiento se ha llevado a cabo en base a los análisis de parámetros generales (densidad, grado alcohólico, pH, acidez...), alcoholes superiores, azúcares, glicerina, ácidos orgánicos, aminoácidos y compuestos polifenólicos no flavonóides, empleándose técnicas como la HPLC y la cromatografía de Gases. Se ha observado un diferente desarrollo de la vinificación que se intenta justificar atendiendo a las teorías existentes.

2.- INTRODUCCION

Es un hecho generalmente admitido en la Enología que la fermentación del mosto con sólidos procedentes de la uva en suspensión origina aromas indeseables y disminuye la estabilidad del vino obtenido. La eliminación de dichos sólidos produce una mejora de las cualidades organolépticas y de la estabilidad del vino (19).

Son muchos los sistemas que la Enología ha dispuesto para proceder a la separación de los sólidos antes de la fermentación (19).

En el presente trabajo se va a estudiar la aplicación a mostos de Jerez del Desfangado a temperatura ambiente y de la Filtración con un sistema rotativo a vacío.

Al margen de los aspectos beneficiosos que produce la fermentación sin sólidos, la bibliografía hace referencia de numerosos problemas que se presentan cuando dicha separación se realiza de forma muy enérgica: Aumento de Acidez Volátil en el vino (20), fermentaciones lentas con final dificultoso, paralizaciones de fermentación... etc. (5), (7), (9), (13), (15), (16).

Varias son las razones que se aportan para justificar estos hechos: eliminación de nutrientes, efecto soporte de los sólidos para el oxígeno y la levadura (3), (7), absorción por los sólidos de inhibidores de la fermentación (14), etc.

Sin embargo, la hipótesis más realista hace mención a la eliminación paralela de esteroides y compuestos análogos.

Los esteroides y ácidos grasos insaturados son componentes de la membrana citoplasmática que actúan regulando la permeabilidad de ésta. Un defecto en la síntesis o el aporte de estos compuestos disminuirá la permeabilidad de la membrana, que se traducirá en una disminución de la resistencia al etanol en las últimas fases de la fermentación (12), un acceso más difícil de los metabolitos (16), y una disminución general de la actividad de la levadura (7). A este nivel, los ácidos grasos saturados del vino actúan potenciando el efecto inhibitor del etanol (12), (16).

La síntesis de esteroides y ácidos grasos insaturados necesita oxígeno (7), (11), (12), (17); en presencia de éste, la levadura almacena estos compuestos, aunque también los puede absorber del medio, en caso necesario (7). En las condiciones de semianaerobiosis de una vinificación normal se pueden presentar deficiencias sintéticas de estos compuestos y si las levaduras no lo encuentran en el medio, podrán sufrir defectos funcionales.

Es por ello, que existen dos modelos de actuación de esteroides y ácidos grasos insaturados: como "Factor de Crecimiento", actuando de limitante desde las primeras fases de la fermentación (2), (5) y como "Factor de Supervivencia" en que son factor limitante sólo en las últimas fases de la fermentación (7), (9). Ver Fig. I.

Por todo lo dicho, las condiciones de aireación durante la preparación del pie de cuba y elaboración del mosto pueden condicionar el desarrollo de la fermentación según uno u otro modelo.

Según RADLER, 1968, la cera cuticular que se encuentra en la epidermis de la uva en concentración de 100 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$, contiene un 50% de Ac. Oleanólico, compuesto de estructura y función similar a los esteroides (9). Ver Fig. II. Este compuesto es relativamente insoluble y sería eliminado en la filtración.

Es por ello, que la adición al mosto de turbios de desfangado regenera la capacidad inicial de fermentación (5), y tiene tanta importancia el grado de finura con que se realice la filtración (13).

3.- MATERIAL Y METODOS

El seguimiento de la vinificación se ha realizado según el esquema de la Fig. III.

El mosto de Yema 1 era procedente de la viña El Alcaparral, del Pago Carrascal. El prensado ha sido efectuado con prensas horizontales de platos, VASLIN, modelo 80 PA,

de 80 HI de capacidad.

El mosto ha sido adicionado con 120 mg/l de SO₂ y 2.5 g/l de Ac. Tartárico inmediatamente después del prensado.

El desfangado ha sido realizado durante 12 horas en depósitos verticales de 30.000 litros de capacidad, utilizándose en el ensayo la parte limpia del mosto para llenar el depósito de fermentación. Este tiene una disposición horizontal y una capacidad de 19.000 litros.

Una parte alicuota del mismo mosto ha sido filtrado en un sistema rotativo a vacío, marca PROCONOR, de 18 m² de superficie, obteniéndose un mosto brillante y translúcido.

El estudio ha sido realizado en la campaña 88.

Las magnitudes analizadas han sido:

- Magnitudes generales: Densidad, Grado Alcohólico, pH y Acidez Total.
- Alcoholes Superiores: Acetaldehído, Acetato Etilo, Metanol, n-Propanol, i-Butanol, Amílicos.
- Ácidos orgánicos: Cítrico, Tartárico, Máfico, Láctico y Acético.
- Aminoácidos: Ac. Aspártico, Ac. Glutámico, Serina, Histidina, Glicina, Treonina, Arginina, Alanina, Tirosina, Metionina, Valina, Fenilalina, Isoleucina, Leucina y Lisina.
- Compuestos Polifenólicos: gálico, protocatéquico, p-hidroxibenzoico, m-hidroxibenzoico, vanílico, caféico, siringico, p-cumárico, verátrico, ferúlico, m-cumárico, sinápico, o-cumárico, 3, 4, 5-trimetoxicinámico, protocatequialdehído, vanillina, siringaldehído, p-hidroxibenzaldehído, o-vanillina, 2,4-dimetoxibenzaldehído.

Los métodos utilizados en estas magnitudes se detallan en (21).

- Oxígeno disuelto: medidor específico, Y.S.I., modelo 57.

4.- RESULTADOS Y DISCUSION

Antes de comenzar este apartado convendría anotar que los fenómenos observados esta campaña se han repetido en las campañas 85 y 86 con mayor intensidad, pero éste estudio sólo comprenderá datos de la campaña 88.

En la tabla I, se presenta el resumen de las magnitudes analizadas más significativas.

Densidad-Grado alcohólico-Glucosa+Fructosa: Fig. IV.

Se observa una ralentización de la fermentación desde el primer día. Mientras el Mosto Desfangado finaliza la fermentación en 4 días, el Mosto Filtrado necesita 7 días.

Glicerina-Acido Succínico: Fig. V

En primer lugar se observa una presencia inicial de Glicerina de origen no fermentativo de 1.18 g/l. Hay una menor producción de estos compuestos en el Mosto Filtrado.

La Glicerina alcanza valores de 8.5 - 9.0 g/l en el Mosto Desfangado y próximos a 6.0 en el Mosto Filtrado.

El Ac. Succínico presenta unas concentraciones de aprox. 1.2 y 0.7 g/l.

En ambos casos se observa una disminución en la muestra M-1 por los efectos de la crianza bajo velo y la dilución de la alcoholización.

Alcoholes superiores. Fig. VI

La menor producción de Alcoholes Superiores en Mosto Filtrado es un hecho ampliamente recogido en la bibliografía (3), (4), (5) y (15).

En este caso, mientras la producción de n-Propanol no se ve casi afectada, la producción de i-Butanol e i-Amílico se ve reducida a menos de un 50% en el Mosto Filtrado.

Aminoácidos: Fig. VII

En el mosto desfangado se observa una disminución del contenido inicial de aminoácidos hasta casi el agotamiento en los primeros días de fermentación.

En el Mostro Filtrado, el consumo de Aminoácidos es siempre menor, no llegándose nunca a valores próximos al agotamiento. En el caso del aminoácido mayoritario, la Arginina, no hay consumo. En ambos casos, a partir del 5 día de fermentación, muestra F5, se observa un aumento del contenido de aminoácidos en el vino. Este fenómeno se acentúa a partir de la muestra S5. Estas muestras, posteriores a la formación del velo, fueron tomadas por la parte inferior del depósito, más próxima a las lías que se encuentran en el fondo que deben constituir una fuente de aminoácidos libres.

En ambos casos en la muestra M1 se produce una disminución de la concentración de aminoácidos por efectos de consumo, dilución por alcoholización y homogenización.

Exsorción de aminoácidos: Fig. VIII

Según LURTON, 1988 (18), la cesión de aminoácidos de la levadura muerta después de la fermentación al vino se produce en dos fases: una primera de exsorción del "pool" intracelular de aminoácidos que se produce en los primeros días y una segunda, más lenta, en la que se producen fenómenos de proteolisis liberándose aminoácidos y oligopéptidos.

En la Fig. VIII, se presentan los aumentos de concentración, de los aminoácidos mayoritarios, obtenidos por diferencia de los contenidos de las muestras S7 y F5.

Se aprecia que la Lisina es el aminoácido que mayor aumento experimenta, seguida de Alanina y Arginina. La Histidina no varía de forma sensible. No hay grandes diferencias de comportamiento en éste aspecto entre los dos tipos de mosto.

Polifenoles no flavonoides: Fig. X y XI

La concentración de estos compuestos aumenta con la Fermentación, Fig. X; éste último ha sido ya previamente constatado y parece debido a la liberación de compuestos previamente combinados o esterificados.

La cantidad global de polifenoles no flavonoides disminuye con la filtración. Sin embargo, como los comportamientos del Mosto Desfangado y del Mosto Filtrado a este respecto son diferentes, se ha realizado un análisis de "Cluster" de los compuestos identificados. Este se presenta en la Fig. XI, donde se indican los agrupamientos a un nivel de confianza del 60%. En efecto, se puede observar que los agrupamientos y, por tanto, las evoluciones de estos compuestos en los dos tipos de mosto son diferentes.

Oxígeno disuelto: Fig. IX

Tanto el Mosto Filtrado como el Mosto Desfangado se encuentran inicialmente saturados de Oxígeno, con valores próximos a los 8 mg/l. En el primer día de fermentación se produce una gran disminución hasta valores de 3-4 mg/l. En este tiempo se produce el crecimiento exponencial de la población de microorganismos que precisan de oxígeno en esta fase. Después se produce una lenta disminución hasta valores finales próximos a

los 2 mg/l.

Se puede afirmar por tanto, que el grueso de la fermentación se produce en condiciones de semianaerobiosis.

5.- CONCLUSIONES

Con los datos antes expuestos se puede afirmar que hay una disminución de la actividad celular desde el inicio de la fermentación.

En la hipótesis de que los esteroides y ac. grasos insaturados sean los únicos responsables de éste fenómeno, su función se adapta mejor al modelo de "Factor de Crecimiento" que al de "Factor de Supervivencia".

Se habría de aceptar por tanto, que se ha utilizado una levadura que, al haber desarrollado su actividad metabólica en un medio semianaeróbico, se encuentra empobrecida en esteroides y ac. grasos.

En el Mosto Desfangado la levadura puede absorber del medio estos compuestos; sin embargo, en el Mosto Filtrado que se encuentra privado de estos compuestos (6), la membrana citoplasmática de la levadura disminuirá su permeabilidad y con ello la actividad celular (7).

A pesar de ello, no se debería rechazar la hipótesis de eliminación de principios nutritivos como las proteínas durante la filtración. Esta suposición viene sustentada en el hecho repetidamente observado de la mayor oxidabilidad del Mosto Filtrado del que desafortunadamente no se tienen datos cuantitativos.

Sería de desear la confirmación de estas hipótesis en futuros trabajos en los que se determinen niveles de esteroides y de otros componentes que puedan ser eliminados durante la filtración.

BIBLIOGRAFIA

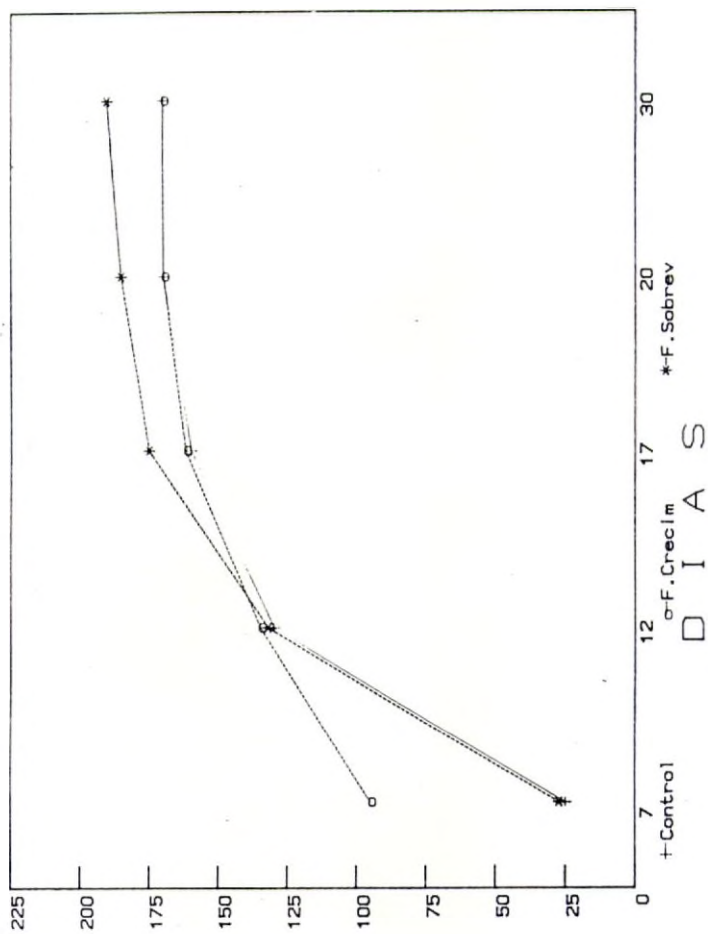
1. TRAVERSO-RUEDA, S.; KUNKEE, R.E.: The role of sterols on growth and fermentation of wine yeasts under vinification conditions. *Der. Ind. Microbiol.*, 1982, 23, 131-143.
2. ANDREASEN, A.A.; STIER, T.J.B.: Anaerobic nutrition of *Saccharomyces cerevisiae*. I.- Ergosterol requirement for growth in a defined medium. *J. Cell. Physiol.*, 1953, 41, 23-26.
3. CROWELL, E.A.; GUYMON, J.F.: Influence of aeration and suspended material on higher alcohols, acetoin and diacetyl during fermentation. *Am. Jour. Enol. Vitic.*, 1963, 14, 214-222.
4. HOUTMAN, A.C.; MARAIS, J.; DU PLESSIS, C.S.: Factors affecting the reproducibility of fermenting juice and of the aroma composition of wines. I.- Grape maturity, sugar, inoculum concentration, aeration, juice turbidity and ergosterol. *Vitis*, 1980. 19, 37-54.

5. HOUTMAN, A.C.; DU PLESSIS, C.S.: The effect of juice clarity and several conditions promoting yeast growth on fermentation rate, the production of aroma components and wine quality. *S. Afr. J. Enol. Vitic.* 1981, Vol. 2, N.2, 71-81.
6. RADLER, F.: La cire cuticulaire des grains de raisin et des feuilles de la vigne. *Conn. Vig. Vin.*, 1968, 2, 291-294.
7. LAFON-LAFOURCADE, S.: Connaissances récentes sur les accidents de la fermentation. *Rev. Franc. Oen.*, 1980, N.80, 63-77.
8. BRECHOT, P.; CHAUVET, J.; DUPUY, P.; CROSON, M.; RABATU, A.: Acide oléanolique, facteur de croissance anaérobie de la levure de vin. *Ann. Technol. Agric.* 1971, 20 (2) 103-110.
9. LAFON-LAFOURCADE, S.; LARUE, F.; RIBEREAU-GAYON, P.: Evidence for the existence of "Survivae Factors" as an explanation for some peculiarities of yeast growth, especially in grape must of high sugar concentration. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1979, Vol. 38, N. 6, 1069-1073.
10. ARIES, V.; KIRSOP, B.H.: Sterol biosynthesis by strains of *Saccharomyces Cerevisiae* in the presence and absence of dissolved oxygen. *J. Inst. Brew.*, 1978, Vol. 84, 118-122.
11. STRYDOM, M.; KIRSCHBAUM, A.F.; TROMP, A.: Ergosterol concentration of general different *Saccharomyces Cerevisiae* Yeast Strains. *S. Afr. Enol. Vitic.*, 1982, Vol. 3, N.1, 23-28.
12. D'AMORE, T.; STEWART, G.H.: Ethanol tolerance of yeast. *Enzyme Microbiol. Technol.*, 1987, Vol. 9, 322-330.
13. HOUTMAN, A.C.; DU PLESSIS, C.S.: Influence du cépage et de la souche de levure sur la vitesse de fermentation et sur la concentration des composants volatils du vin. *Bull. OIV*, 1985, (648-649), 235-246.
14. OLLIVIER, C.H.; STONESTREET, Th; LARUE, F.; DUBORDIEU, D.: Incidence de la composition colloïdale des mouts blancs sur leur fermentescibilité. *Conn. Vig. Vin.*, 1987, 21, N.1, 59-70.
15. RIBEREAU-GAYON, P.; LAFON-LAFOURCADE, S.; BERTRAND, A.: Le debourbage des mouts de vendange blanche. *Conn. vig. Vin.*, 1975, 9, 117-139.
16. RIBEREAU-GAYON, P.: New developments in wine microbiology. *Am. J. Enol. Vitic.*, 1985, Vol. 36, N.1, 1-10.
17. LEHNINGER, A.L.: *Bioquímica. Las bases moleculares de la estructura y la función celular.* Ed. Omega, 2.^a edición 1978.
18. LURTON, L.: Etude de la proteolyse des levures de vinification lors de l'élevage d'un vin sur les lies. *R.F.O.*, 1988, N.113, 35-41.
19. RIBEREAU-GAYON, J.; PEYNAUD, E.; RIBEREAU-GAYON, P.; SUDRAUD, P.: *Sciences et techniques du vin. T.III.* Ed. Dunod, Paris, 1976.
20. WILLIAMS, T.J.; OUGH, C.S.; BERG, H.W.: White wine composition and quality as influenced by method of must clarification. *Am. J. Enol. Vitic.*, 1978, Vol. 29, N.2, 92-96.
21. DIEZ MARTIN, J.; GOMEZ BENITEZ, J.; GARCIA BARROSO, C.: Control analítico de la vinificación del Jerez. *V Jornadas Universitarias de Viticultura y Enología en Jerez.* Jerez de la Frontera, Junio-Julio, 1989.

FIG. 1

CURVA DE FERMENTACION, MODELOS DE FACTOR DE CRECIMIENTO Y DE FACTOR DE SOBREVIVENCIA

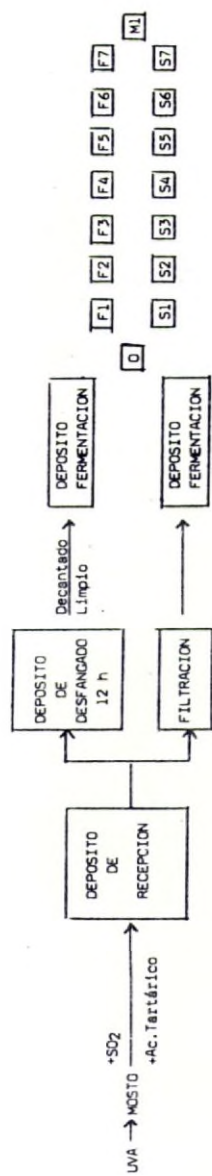
AZUCAR FERMENTADO



g / L

FIG. III

ESQUEMA DEL MUESTREO REALIZADO



0 Muestra inicial antes de la siembra. Fecha 21/9/88

F1 ----> F7 Muestras diarias del depósito en fermentación. Fecha 22/9/88 ----> 28/9/88

S1 ----> S7 Muestras semanales después de fermentación Fecha 3/10/88 ----> 15/11/88

M1 Muestra después de las operaciones de deslío y alcoholización. Fecha 11/4/89

NOTA: Muestras S1 --> S4 Antes de la formación del velo de levaduras. Muestra por arriba

Muestras S5 --> S7 Después de la formación del velo. Muestra por abajo.

La siembra ha sido realizada después de la muestra 0

TABLA 1

MOSTO DESFANGADO

| | 0. | F1 | F2 | F3 | F4 | F5 | F6 | F7 | F7 | S1 | S2 | S3 | S4 | S5 | S6 | S7 | M1 |
|-------------------------|--------------|--------------|------------|----|---------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|--------------|--------------|----|--------------|
| Densidad | 1.0825 | 1.0568 | 1.0181 | | 0.9539 | 0.9840 | 0.9638 | 0.9639 | | | | | | | | | |
| Grado | 11.21 | 2.70 | 5.00 | | 11.20 | 11.10 | 11.10 | 11.10 | | | | | | | | | |
| Glucosa+Fructosa | 229.6 | 167.2 | 78.3 | | 0.25 | 0.24 | 0.27 | 0.27 | | | | | | | | | |
| Glicerina | 1.18 | 4.50 | 7.80 | | 8.40 | 8.30 | 8.30 | 8.40 | 8.50 | 8.59 | 8.65 | 8.73 | 9.04 | 9.04 | 8.60 | | 7.70 |
| Acido Succinico | 0.17 | 0.37 | 0.92 | | 1.11 | 1.12 | 1.13 | 1.12 | 1.16 | 1.18 | 1.19 | 1.23 | 1.25 | 1.25 | 1.34 | | 1.33 |
| Acetaldehido | 130 | 77 | 43 | | 61 | 61 | 61 | 61 | 52 | 48 | 35 | 35 | 64 | 64 | 27 | | 108 |
| Acetato Etilo | 0 | 11 | 20 | | 19 | 19 | 19 | 20 | 20 | 20 | 18 | 22 | 22 | 22 | 20 | | 38 |
| n-Propanol | 19 | 26 | 29 | | 31 | 29 | 27 | 27 | 33 | 30 | 27 | 32 | 27 | 32 | 27 | | 24 |
| i-Butanol | 16 | 35 | 45 | | 47 | 46 | 40 | 40 | 40 | 45 | 44 | 49 | 49 | 49 | 43 | | 35 |
| i-Amilico | 33 | 178 | 253 | | 253 | 259 | 252 | 232 | 252 | 258 | 248 | 285 | 250 | 285 | 250 | | 210 |
| Suma A.A. | 68 | 239 | 327 | | 327 | 337 | 329 | 299 | 326 | 333 | 319 | 366 | 320 | 366 | 320 | | 269 |
| Histidina | 1565 | 44 | 20 | | 13.00 | 6 | 1 | 2 | 7 | 10 | 9 | 8 | 26 | 29 | 41 | | 46 |
| Arginina | 2,182 | 2,260 | 192.7 | | 115.35 | 38 | 13 | 94 | 73 | 66 | 67 | 50 | 32 | 147 | 158 | | 120 |
| Alanina | 300.0 | 437.0 | 20.0 | | 12.60 | 4.6 | 4.4 | 5.6 | 14.0 | 32.0 | 45.0 | 36.0 | 28.0 | 196.0 | 240.0 | | 300.0 |
| Lisina | 51.0 | 11.0 | 8.0 | | 7.95 | 7.9 | 6.4 | 8.4 | 15.0 | 59.0 | 93.0 | 75.0 | 64.0 | 358.0 | 437.0 | | 100.0 |
| Suma Aminoacidos | 3,888 | 3,269 | 303 | | 191.50 | 80 | 57 | 64 | 183 | 355 | 491 | 415 | 342 | 1,767 | 2,248 | | 1,052 |

MOSTO FILTRADO

| | 0 | F1 | F2 | F3 | F4 | F5 | F6 | F7 | F7 | S1 | S2 | S3 | S4 | S5 | S6 | S7 | M1 |
|-------------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|----|----|-----------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|------|----|--------------|
| Densidad | 1.0825 | 1.0744 | 1.0495 | 1.0244 | 1.0146 | | | 0.9962 | 0.9935 | | | | | | | | |
| Grado | 0 | 0.3 | 3.5 | 6.8 | 8.2 | | | 10.8 | 11 | | | | | | | | |
| Glucosa+Fructosa | 229.6 | 206.6 | 140.5 | 73.5 | 53.3 | | | 8.05 | 1.84 | 0.98 | 0.25 | 0.26 | 0.31 | 0.31 | | | 0.72 |
| Glicerina | 1.18 | 1.56 | 4.60 | 6.80 | 5.80 | | | 6.10 | 6.00 | 6.24 | 6.13 | 6.25 | 6.57 | 6.57 | 6.10 | | 5.74 |
| Acido Succinico | 0.17 | 0.17 | 0.41 | 0.59 | 0.61 | | | 0.68 | 0.67 | 0.72 | 0.76 | 0.78 | 0.73 | 0.73 | | | 0.69 |
| Acetaldehido | 0 | 44 | 110 | 104 | 112 | | | 84 | 89 | 66 | 92 | 123 | 131 | 131 | | | 79 |
| Acetato Etilo | 0 | 14 | 14 | 14 | 36 | | | 43 | 47 | 45 | 46 | 37 | 39 | 37 | | | 44 |
| n-Propanol | 0 | 2 | 17 | 21 | 22 | | | 24 | 25 | 24 | 25 | 24 | 30 | 24 | | | 23 |
| i-Butanol | 0 | 0 | 14 | 18 | 19 | | | 21 | 22 | 25 | 21 | 21 | 24 | 21 | | | 22 |
| i-Amilico | 0 | 7 | 55 | 80 | 93 | | | 109 | 114 | 107 | 107 | 106 | 113 | 109 | | | 112 |
| Suma A.A. | 0 | 9 | 86 | 119 | 134 | | | 156 | 163 | 152 | 153 | 151 | 167 | 0 | | | 150 |
| Histidina | 1,565 | 827 | 326 | 130 | 249 | | | 256.00 | 263 | 286 | 292 | 60 | 187 | 158 | | | 105 |
| Arginina | 1,627 | 3,055 | 2,272 | 2,148 | 2,219 | | | 2,174.00 | 2,129 | 2,184 | 2,179 | 2,149 | 2,174 | 2,219 | | | 746 |
| Alanina | 205 | 259 | 138 | 27 | 45 | | | 51.50 | 58 | 73 | 130 | 4 | 90 | 95 | | | 222 |
| Lisina | 64 | 6 | 10 | 10 | 12 | | | 14.50 | 17 | 27 | 69 | 73 | 77 | 79 | | | 234 |
| Suma Aminoacidos | 4,825 | 4,771 | 3,266 | 2,399 | 2,654 | | | 2,641.00 | 2,628 | 2,760 | 2,980 | 2,251 | 2,851 | 3,885 | | | 4,068 |

FIG. IV
DENSIDADES

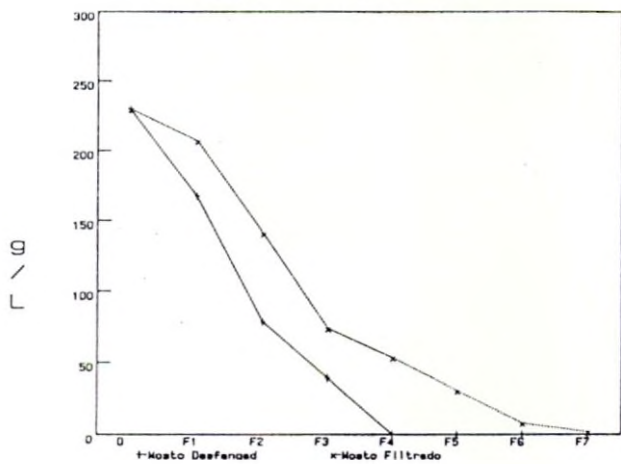
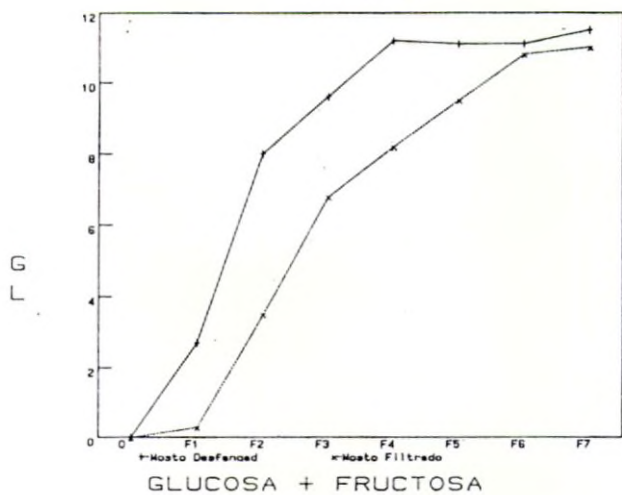
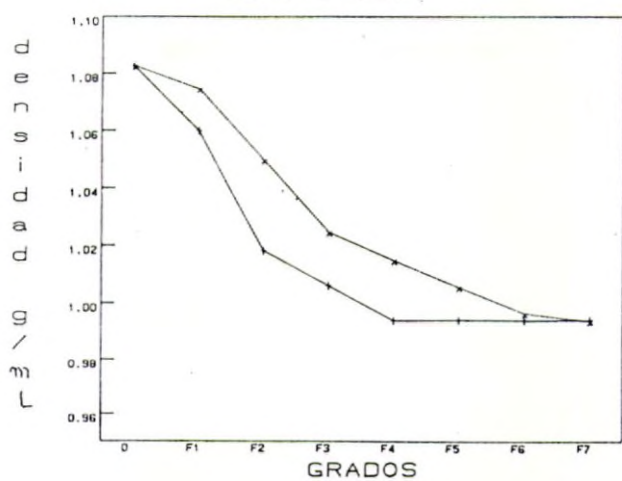
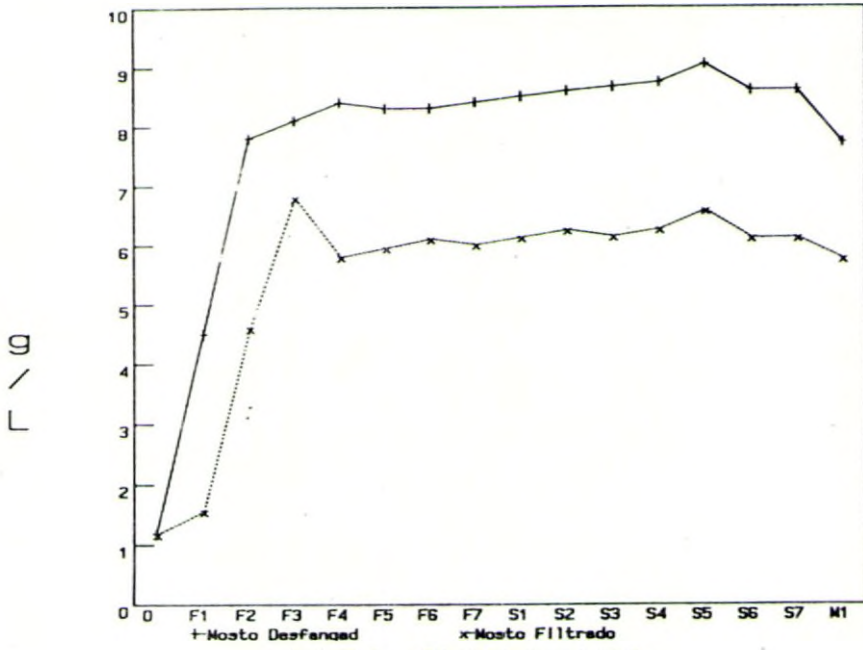


FIG.V

GLICERINA



ACIDO SUCCINICO

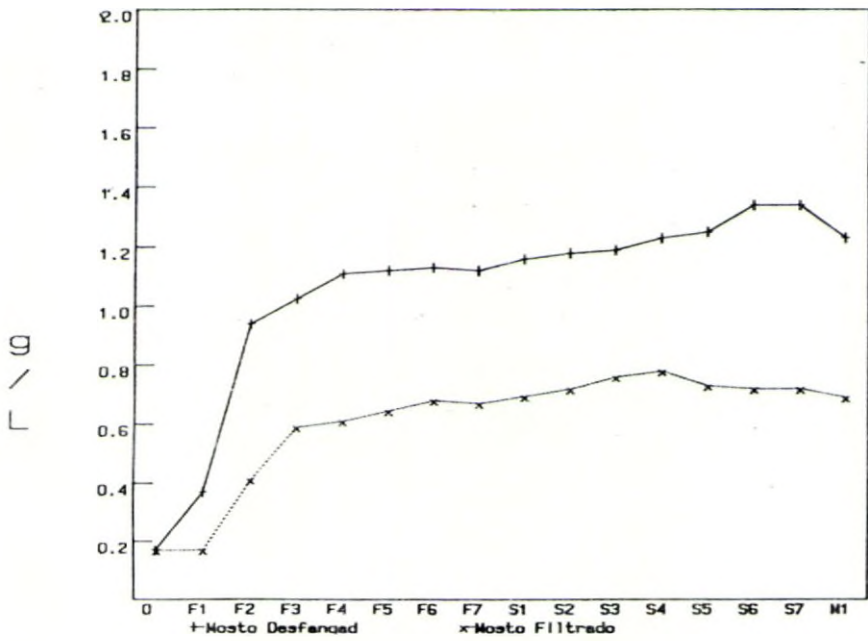


FIG. VII

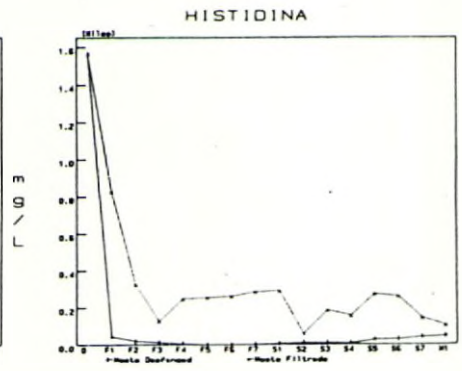
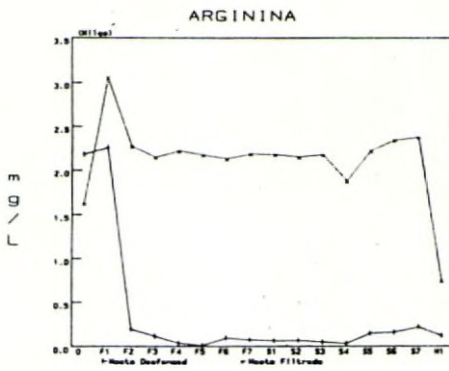
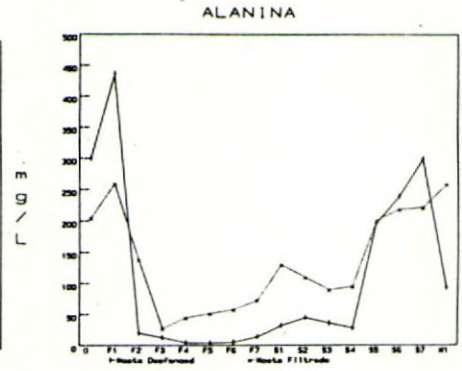
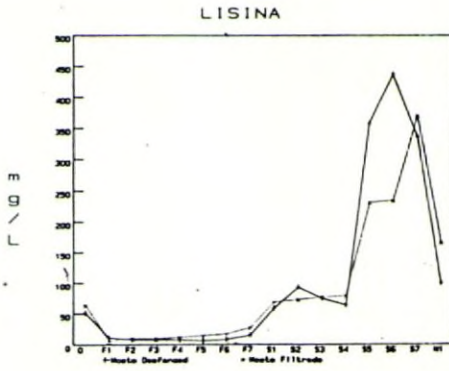
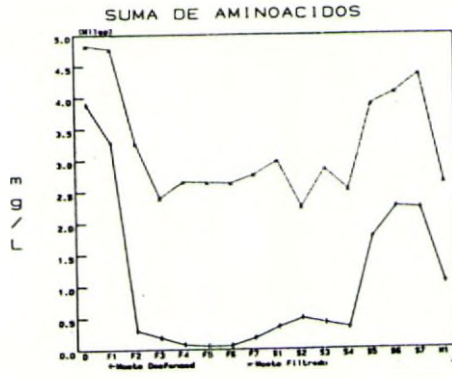
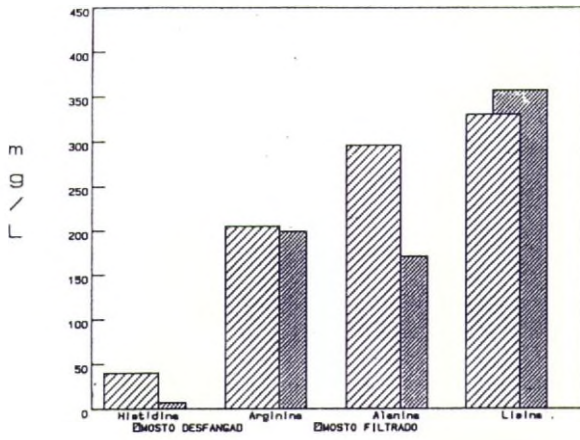
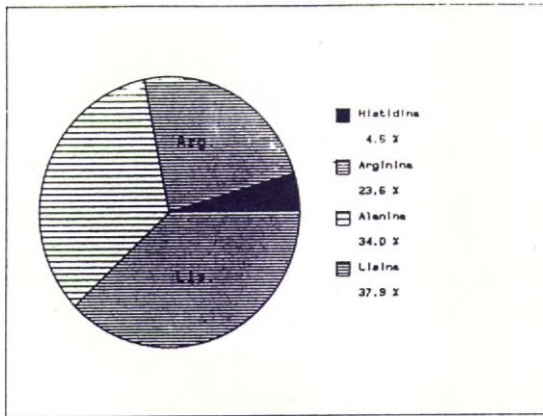


FIG. VIII

EXSORCIÓN AMINOACIDOS

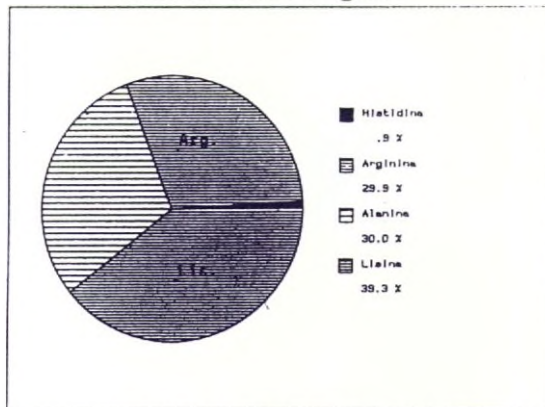


P
o
r
c
e
n
t
a
j
e



Mosto Desfangado

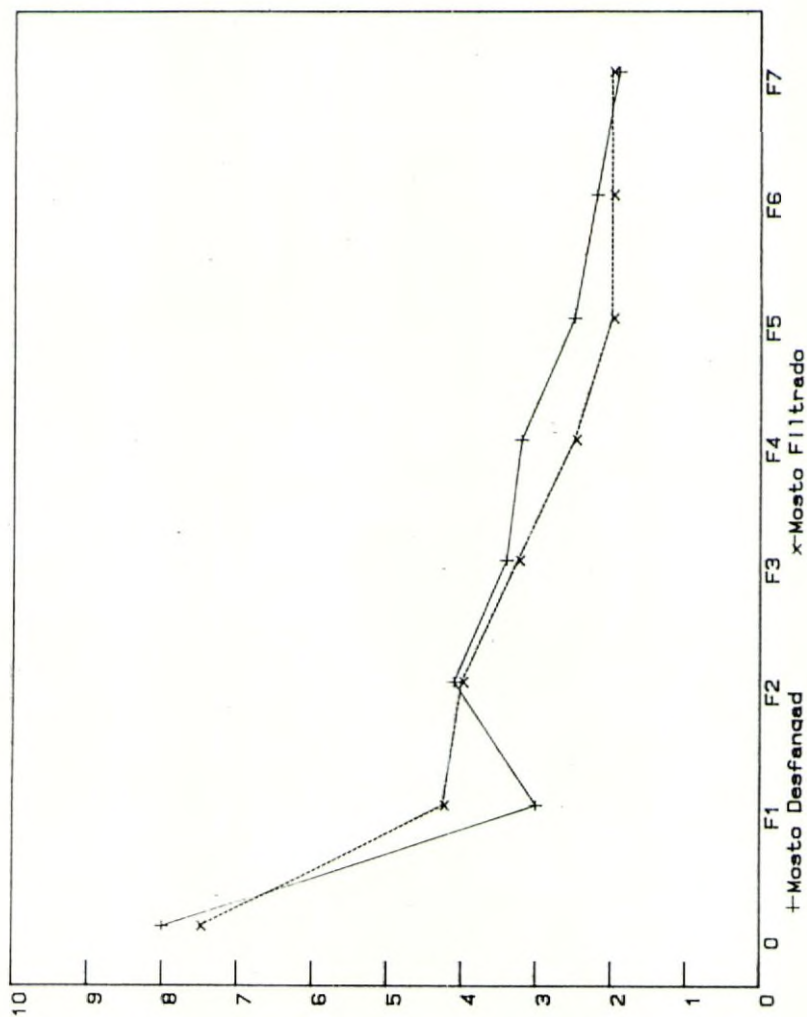
P
o
r
c
e
n
t
a
j
e



Mosto Filtrado

FIG. IX

OXIGENO DISUELTTO



m d \ J

FIG. X
POLIFENOLOS NO FLAVONOIDEOS

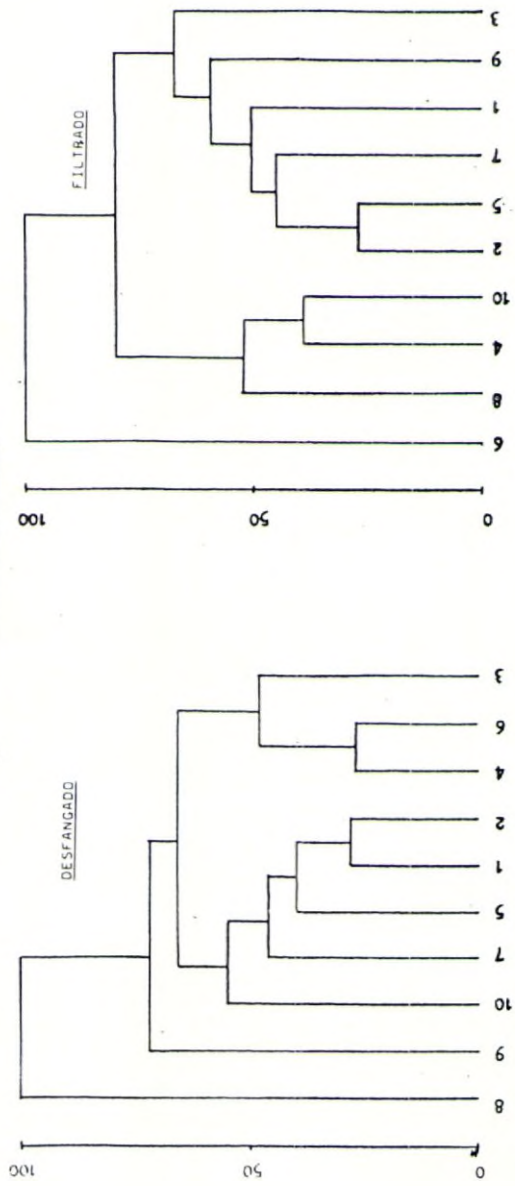
DESFANCADO

FILTRADO



FIG. XI

AGRUPAMIENTOS DE POLIFENÓLES NO FLAVONOIDES



COMPUESTOS

- (1)-gálico
- (2)-Protocatéuico
- (3)-vanílico
- (4)-Caféico
- (5)-siringico
- (6)-p-cumárico
- (7)-ferúlico
- (8)-3,4,5-trimetoxicinámico
- (9)-p-hidroxibenzoico
- (10)-Siringaldehído

AGRUPAMIENTOS

DESANGADO: (8) (9) (10,7,5,1,2) (4,6,3)

FILTRADO: (6) (8,4,10) (2,5,7,1,9) (3)

LIMPIEZA DE LA MUESTRA DE VINO PREVIA AL ANALISIS DE COMPUESTOS POLIFENOLICOS

**D.A. GUILLEN, F. MERELLO, C.G. BARROSO, R. CELA,
J.A. PEREZ-BUSTAMANTE**

Departamento de Química Analítica. Facultad de Ciencias. Universidad de Cádiz

RESUMEN

Se ha estudiado un esquema de fraccionamiento y limpieza previa de la muestra de vino, con vistas a su análisis de polifenoles. Para ello se ha utilizado un fraccionamiento sobre absorbentes sólidos empleando cartuchos pequeños y pequeños volúmenes. Así se ha combinado el uso de cartuchos de C18, con el que se consigue una limpieza y concentración de compuestos polifenólicos y posteriormente el concentrado de polifenoles se hace pasar por un cartucho de intercambio iónico, en el que se consigue un fraccionamiento de ácidos del resto de polifenoles. Los controles de los distintos fraccionamientos obtenidos se han llevado a cabo mediante HPLC, permitiéndose así el análisis individual de los compuestos polifenólicos.

INTRODUCCION

Se encuentra, de modo generalizado, aceptada la importancia de los compuestos polifenólicos en el fenómeno de pardeamiento de los vinos blancos "remontado", de aquí el objetivo de nuestro equipo de poner a punto métodos de análisis de estos compuestos. Y es en esta etapa donde nos encontramos con la gran complejidad de la muestra, determinando, la necesidad de utilizar técnicas analíticas muy potentes (HPLC, EM, IR). Por otro lado las cantidades en que los polifenoles se encuentran en el vino son muy variables oscilando entre decenas de mg/l hasta centésimas de mg/l.

Es por estos dos motivos por lo que se hace necesario una etapa previa al fraccionamiento por HPLC, que por una parte permita una separación de las especies bajo estudio

en grupos o familias, quedando posteriormente cromatogramas más simples, permitiendo una mejor cuantización de los picos. Por otra, esta etapa debe de ser un proceso de preconcentración que nos asegure la obtención de señales analíticas fácilmente mensurables.

En base a estos dos puntos, los métodos propuestos por la bibliografía son diversos, entre los que se encuentran la cromatografía en papel, TLC, GPC así como métodos de extracción líquido-líquido, demixión y precipitación.

En nuestro equipo nos planteamos como objetivo la búsqueda de un método que a la vez de cumplir los dos puntos anteriormente indicados, sea rápido, reproducible y económico ya que en las propuestas bibliográficas nos encontramos esquemas de fraccionamientos enormemente tediosos (tales como llevar a sequedad 50 l. de vino) (1), así como poco reproducibles.

En este sentido hemos realizado un estudio de un método de extracción líquido-líquido (extracción diferencial) (2) que presenta resultados más reproducibles que la extracción convencional en embudos de decantación. No obstante haber conseguido una mayor reproducibilidad y un buen factor de concentración este método presenta diversos inconvenientes tales como el tiempo de análisis (unas 5 horas), y cromatogramas aun bastantes complejos.

Paralelamente a la puesta a punto del método de extracción diferencial se estudió el fraccionamiento de los compuestos polifenólicos mediante cromatografía de permeación de geles (3). Los cromatogramas obtenidos son bastantes más sencillos pero no existe, por ejemplo, el fraccionamiento limpio de ácidos y aldehidos fenólicos. Por otra parte indicar que el tiempo de análisis se dilata enormemente, además de tener la muestra una gran manipulación.

Se intentó conseguir una mejor separación en grupos de las especies presentes en el extracto etereo de un vino, planteándose como objetivo el separar a los ácidos fenólicos del resto mediante la utilización del intercambio iónico (4). El fraccionamiento no fue limpio, encontrándose aldehidos que eran parcialmente retenidos y por tanto salían en ambas fracciones o incluso otros que eran muy retenidos saliendo en la fracción correspondiente a los ácidos. No obstante indicar que los cromatogramas presenta la suficiente nitidez como para identificar los picos. El principal problema en este caso fue la baja reproducibilidad con fines cuantitativos, así como la ya mencionada falta de nitidez en los fraccionamientos.

MATERIAL Y METODOS

1.º- Para el control y fraccionamiento de los compuestos bajo estudio se ha utilizado un cromatógrafo Waters compuesto por dos bombas, inyector, detector multicanal de longitud de onda variable y un ordenador central para el control del sistema, así como para el posterior reprocesamiento de los cromatogramas. Las eluciones se realizaron, según el gradiente puesto a punto por nuestro equipo (5).

2.º- En la extracción sobre un absorbente solido se utilizaron dos marcas de cartuchos, Sep-Pak y Bond-Elut con rellenos SAX y C18. Se diseñó un dispositivo de vacío que nos asegurara el paso a través del absorbente de las distintas fases de elución y lavado.

3.º – La mezcla de especies (patrones) bajo estudio son Fluka calidad P.A., y se preparó una disolución stock que se guardaba congelada, tomándose alíquotas, llevándolas hasta concentración aproximada a la existencia en el vino fino de Jerez con una disolución matrix que contenía ácido tartárico, 3 g/l, y etanol al 15%.

RESULTADOS Y DISCUSION

Los intentos realizados con el fin de separar ácidos y aldehidos fenólicos no han sido del todo satisfactorias. Por tanto se continuó en la búsqueda de técnicas de preparación de muestras alternativas a las ya estudiadas.

I. FORMACION DE PAR IONICO

En dicho sentido se presentan los estudios realizados empleando la técnica de formación de par iónico en fase reversa, observándose las variaciones de los tiempos de retención con el pH de la fase móvil, así como la concentración de una sal de amonio cuaternario como formadora del par iónico.

A.- USO DE CARTUCHOS SEP-PAK

La estrategia inicial se basó en el hecho de que si ajustamos el pH del medio en que se encuentran los ácidos y aldehidos fenólicos de tal forma que el grupo carboxilo de los ácidos se encuentre en forma ionizada y añadimos una sal de amonio cuaternario, se debe de formar un par iónico entre los ácidos y la sal. Si posteriormente pasamos a través de un cartucho de C18, los ácidos deberían quedar muy retenidos, mientras que los aldehidos se deberían comportar normalmente. Por tanto buscando una concentración de MeOH en la fase móvil eluiremos los aldehidos mientras que los ácidos se quedarían retenidos.

Se realizaron una serie de experiencias previas utilizando sólo un par de ácidos y uno de aldehidos y de las conclusiones obtenidas se planificó un estudio sistemático de la influencia del pH y la concentración de la sal sobre la elución de los ácidos y aldehidos fenólicos, variando el pH desde 3 a 8 y la concentración de la sal de 0,00005 M a 0,05 M. A la vista de los datos obtenidos en las primeras experiencias se pudo concluir que el ácido gálico no formaba par iónico a los pH estudiados si la concentración de la sal se mantenía en 0.005.

Por otra parte también se concluyó que este estudio era insuficiente para llevar a cabo los objetivos planteados por tanto se decidió la estrategia del trabajo.

B.- USO DE COLUMNA ANALITICA

La nueva metodología consistió en utilizar una columna analítica u-Bondapak C18 y realizar la elución en el mismo cromatógrafo. Evidentemente utilizando más especies a fin de localizar posibles inversiones en los tiempos de retención cuando se forme el par iónico.

Por otra parte, para realizar el estudio lo más rápido posible se decidió utilizar elución isocrática en la cual los tiempos de retención de las especies no sean superior a 8 min., en previsión de un retraso cuando se forme el par iónico. Seleccionados como fase de elución MeOH al 50%.

Se realizaron experiencias a pH 4, 5 y 6 y concentraciones de sal de 0, 0.025 y 0.05

M. Los datos obtenidos se encuentran representados en las figuras 1,2 y 3. Concluyéndose que mientras los aldehidos se ven poco afectados por la concentración de la sal, los ácidos aumentan su retención con la concentración de sal. En los ácidos se aprecia que el efecto de disminución del tiempo de retención al aumentar el pH, es más fuerte que el aumento de la retención de los mismos con la sal. No consiguiéndose la separación entre ácidos y aldehidos.

II. SUPRESION IONICA

Los resultados descritos anteriormente nos llevaron a reconducir la metodología intentando separar los ácidos de los aldehidos simplemente aumentando el pH de la fase móvil. De tal manera que los ácidos deberían disminuir su retención debido a su ionización, mientras que los aldehidos al no tener el grupo carboxilo no deberían de modificar su retención. Este efecto debería verse potenciado al disminuir la proporción de metanol en la fase móvil.

Para este estudio se fueron inyectando dos disoluciones de ácidos y aldehidos fenólicos (presentes todos en el vino fino de Jerez) y se varió el porcentaje de metanol en la fase móvil, estando esta tamponada a pH=6. También se varió la fuerza iónica del tampón a fin de observar como influye. Los resultados obtenidos, resumidos en la tabla I nos llevan a concluir que hay una aparente buena separación entre el último pico de los ácidos y el primero de los aldehidos. Y con respecto a la fuerza iónica se aprecia que su efecto es practicamente por igual a todas las especies, debido a un efecto salino desplazante.

La segunda parte de este estudio consistió en extrapolar los datos obtenidos en columna a cartuchos preparativos C18. Para ello se ideó, el esquema de la figura 4. Las fracciones colectadas fueron inyectadas en HPLC y de los cromatogramas obtenidos se dedujo que estas condiciones no son válidas ya que no existe fraccionamiento limpio. Basándose en este esquema se fueron variando las condiciones en las que se inyectaban las especies, así como las composiciones de las fases utilizadas. Los mejores resultados obtenidos se encuentran resumidos en la tabla II. Como se puede apreciar en dicha tabla, no se consigue un fraccionamiento limpio.

III. INTERCAMBIO IONICO

Posteriormente y comprobada la imposibilidad de realizar la separación por formación de par iónico se retomó la hipótesis de realizar la separación entre ácidos y aldehidos utilizando el intercambio iónico pero en vez de realizarlo con una resina se ensayó una sílice modificada en la cual además de interacciones iónicas existen interacciones polares y no polares. Para ello se utilizó un cartucho BOND-ELUT SAX (trietilaminopropil) que es un intercambiador aniónico fuerte. Inicialmente se procedió a la optimización con patrones de las distintas etapas del proceso. Al igual que hicimos anteriormente se planteó una metodología (inyección, lavado, elución) y se pasó a realizar los oportunos cambios en cuanto a volumen y composición de cada fase de elución según íbamos obteniendo conclusiones, la metodología se encuentra recogida en la tabla resumen III y los correspondientes resultados en la tabla IV. Como se aprecia los mejores corresponden a la experiencia SAX8.

Una vez obtenidos unos resultados aceptables, se realizó una elución en la cual la con-

centración de las especies se ajustaron a las encontradas en el vino "fino" de Jerez. Esta elución se llevó a cabo según las condiciones establecidas en la experiencia SAX8 pero inyectando 25 ml de una disolución de ácidos que en términos absolutos supone 0,1175 mg. Comprobándose que la recuperación baja muchísimo, esto puede ser debido a que al ir la muestra muy diluida y por tanto inyectar una gran cantidad de la misma, provoca que las especies sean eluidas en su mayor parte en la misma fase de inyección.

IV. LIMPIEZA Y PRECONCENTRACION DE LA MUESTRA PREVIA A LA SEPARACION

Como ya se ha comentado anteriormente, los niveles de las especies bajo estudio, para el caso del vino "fino" de Jerez son muy bajas por tanto se requiere de una etapa de preconcentración previa a su separación por intercambio iónico, puesto que este paso requiere inyectar poca cantidad de muestra. Por otra parte, el vino, presenta una alta concentración de tartratos y bitartratos y este va influir en la retención de los ácidos fenólicos. Estos dos motivos justifican la búsqueda de una etapa previa a la separación que obvie estos problemas. El planteamiento inicial consistió en pasar la muestra a través de un absorbente sólido que retenga las especies polifenólicas y no al tartrato. Como era natural este absorbente fue el C18.

Al igual que en casos anteriores, se planteó un esquema inicial y posteriormente se fueron realizando diversas modificaciones a las distintas etapas para ir mejorando los resultados y eliminando los posibles problemas que iban apareciendo, esta metodología se encuentra resumida en la tabla V.

Como se puede ver en la tabla VI, resumen de los resultados la mejor retención se consigue en la experiencia SP9 siendo estos bastante aceptables.

El siguiente paso consistió en adaptar el esquema de separación obtenido a las muestras reales, figura 5, y la posterior identificación de los picos obtenidos en los correspondientes cromatogramas, fig. 6 y 7, en la cual aún estamos inmerso.

CONCLUSIONES

A la vista de los resultados aquí presentados se puede concluir que es posible la separación de los ácidos fenólicos de otros compuestos fenólicos mediante la combinación de una etapa de limpieza de la muestra con un absorbente sólido (C18) y posterior fraccionamiento sobre un intercambiador aniónico. Resultando esta técnica más rápida que las descritas en la bibliografía.

BIBLIOGRAFIA

1. WEINGES K.; PIRETTI M.V.; Ann. Chimica, **62**, 1 (1972).
2. GUILLEN D.A.; VISERAS C.; BARROSO C.G.; CELA R.; PEREZ-BUSTAMANTE J.A.; Quim. Anal., **5**, 3 (1986).
3. OTERO J.C.; CELA R.; BARROSO C.G.; PEREZ-BUSTAMANTE J.A.; III Jornadas Universitarias sobre el Jerez, Cádiz, Mayo, 1984.
4. BARROSO C.G.; CELA R.; PEREZ-BUSTAMANTE J.A.; Chromatographia, **17**, 5 (1983).

FORMACION DE PAR IONICO

INFLUENCIA DEL pH SOBRE LA RETENCION DE LOS ACIDOS FENOLICOS

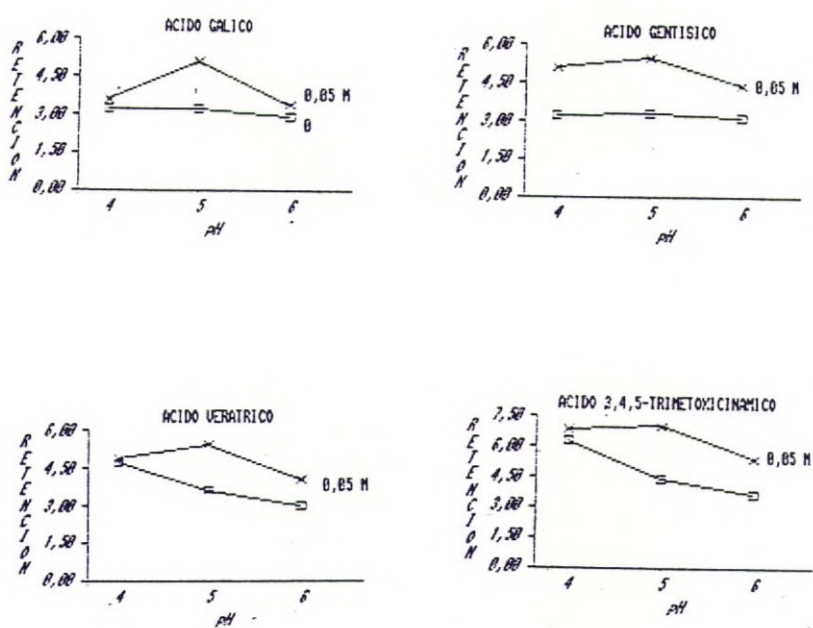


FIGURA 1

FORMACION DE PAR IONICO

INFLUENCIA DEL pH SOBRE LA RETENCION DE LOS ALDEHIDOS FENOLICOS

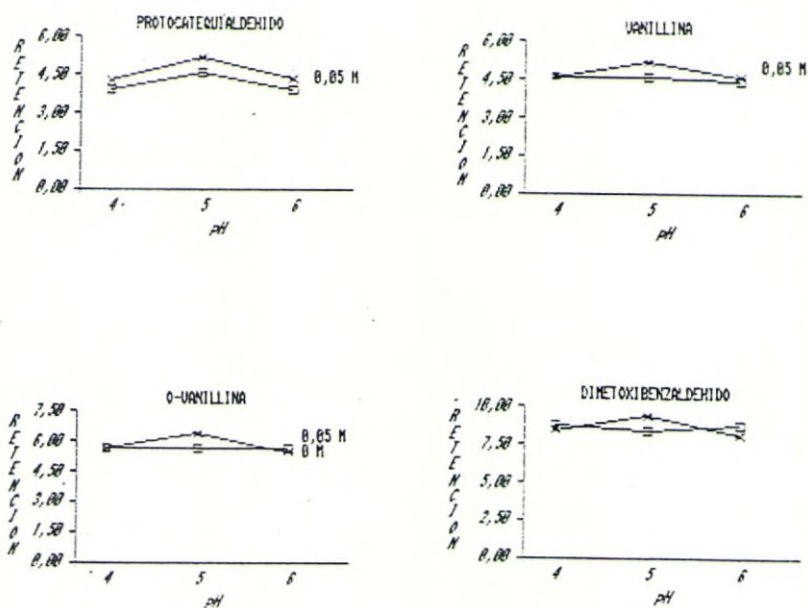


FIGURA 2

FORMACION DE PAR IONICO

INFLUENCIA DE LA CONCENTRACION DE SAL SOBRE LA RETENCION

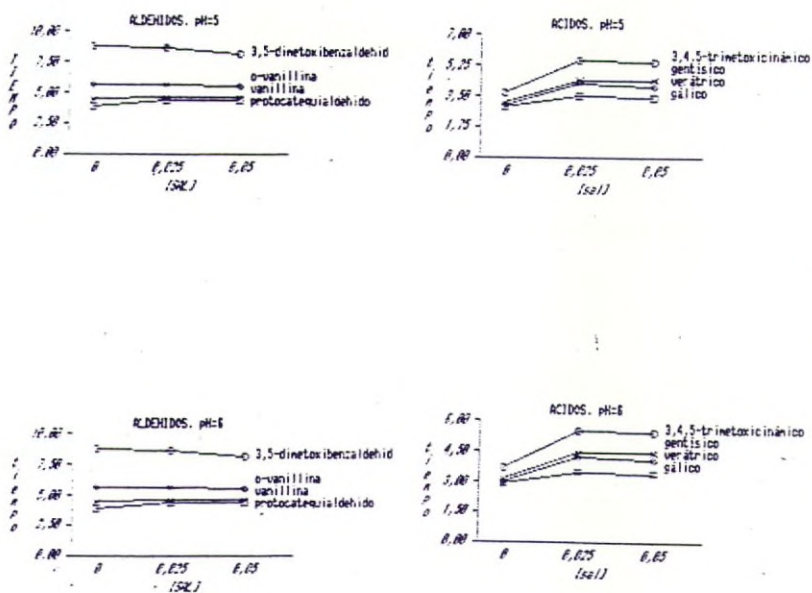


FIGURA 3

TABLA I

SEPARACION MEDIANTE pH

A) FASE MOVIL TAMPONADA A pH= 6 I=0,05M

| % MetOH | TIEMPO DE RETENCION | | | |
|---------|---------------------|--------|------------|--------|
| | ALDEHIDOS | | ACIDOS | |
| | PRIMERO | ULTIMO | PRIMERO | ULTIMO |
| 50 | 4,0 | 7,3 | pico unico | |
| 40 | 4,1 | 12,0 | 3,2 | 5,6 |
| 30 | 6,6 | 25,6 | 3,0 | 6,5 |
| 20 | 10,0 | >53,6 | 3,0 | 14,2 |
| 10 | 21,0 | >53,6 | 3,1 | 14,6 |

B) FASE MOVIL TAMPONADA pH=6 I=0,2 M

| % MetOH | TIEMPO DE RETENCION | | | |
|---------|---------------------|--------|---------|--------|
| | ALDEHIDOS | | ACIDOS | |
| | PRIMERO | ULTIMO | PRIMERO | ULTIMO |
| 50 | 3,8 | 7,2 | 2,8 | 4,4 |
| 40 | 4,8 | 13,4 | 2,8 | 4,8 |
| 20 | 27,4 | > | 3,4 | 18,5 |
| 10 | 34,0 | > | 3,3 | 21,6 |

FRACCIONAMIENTO SOBRE C18
INFLUENCIA DEL pH

INYECCION EN EL CARTUCHO
5ml de la disolucion
de acidos y aldehidos



LAVADO DEL CARTUCHO
10 ml de H₂O



ELUCION
10 ml MetOH 10%
pH=6 I=0.2M



ELUCION
10 ml MetOH 50%
pH=6 I=0.2M



ELUCION
10 ml MetOH

FIGURA 4

TABLA II

FRACCIONAMIENTO MEDIANTE pH

| FRACCION ESPECIE | INY | LAVADO TAMPON | ELUCION DVTE. A 5%MetOH | ELUCION DVTE. B 50%MetOH | ELUCION MetOH |
|-------------------------------|-----|------------------|-------------------------------|--------------------------------|------------------|
| Acid. Gálico | ++ | + | - | - | - |
| Acid. Protocatéquico | ++ | + | - | - | - |
| Acid. Gentiánico | ++ | + | - | - | - |
| Acid. p-Hidroxibenzoico | ++ | + | - | - | - |
| Acid. m-Hidroxibenzoico | ++ | + | - | - | - |
| Acid. Vanílico | ++ | + | - | - | - |
| Acid. Caféico | ++ | ++ | - | - | - |
| Acid. Siringico | ++ | ++ | - | - | - |
| Acid. p-Cumárico | + | ++ | - | - | - |
| Acid. Verátrico | + | ++ | ++ | - | - |
| Acid. Ferúlico | - | ++ | ++ | - | - |
| Acid. Sinápico | - | - | ++ | + | - |
| Acid. o-Cumárico | - | + | ++ | - | - |
| Acid. 3,4,5-Trimetoxicinámico | - | - | - | ++ | - |
| Protocatequialdehido | - | + | ++ | + | - |
| p-Hidroxibenzaldehido | - | - | ++ | + | - |
| Vanillina | - | - | + | ++ | - |
| Siringialdehido | - | - | - | ++ | - |
| o-Vanillina | - | - | - | ++ | - |
| 3,5-Dimetoxibenzaldehido | - | - | - | ++ | - |

(-) No se eluye
 (+) Se eluye algo
 (++) Elución alta

TABLA III

INTERCAMBIO IONICO

- METODOLOGIA GENERAL -

| EXPERIENCIA | ACONDICIONADO CARTUCHO | MEDIO MUESTRA | LAVADO CARTUCHO | ELUCION |
|-------------|----------------------------------|--|------------------------------------|--------------------|
| SAX1 | 2 ml Agua | Tampon Fosfato (pH=6 | 2 ml Tampon Fosfato I=0,05M) | 1 + 1 ml HCl 1N |
| SAX3 | 20 ml NaOH 0,1M + 5ml Agua | Muestra diluida 1:4 respecto SAX1 | idem. | idem. |
| SAX4 | 2 ml Agua | idem. | 2 ml Agua | idem. |
| SAX5 | idem. | Tampon Fosfato pH=6,5 I=0,05M dil 1:4 | idem. | idem. |
| SAX6 | idem. | idem | Tampon fosfato pH=6,5 I=0,05M | idem. |
| SAX7 | idem. | idem. | Tampon fosfato pH=6,5 I=0,005M | idem. |
| SAX8 | idem. | idem. | Agua pH=6,5 | idem. |

TABLA IV

INTERCAMBIO IONICO

| EXPERIENCIAS ESPECIE | % EXCLUSION | | | | |
|----------------------------|-------------|-------|-------|-------|-------|
| | SAX4 | SAX5 | SAX6 | SAX7 | SAX8 |
| Acid. Gálico | 15.23 | 4.74 | 0.00 | 3.01 | 7.11 |
| Acid. Protocatéquico | 25.57 | 4.11 | 9.21 | 2.66 | 0.00 |
| Acid. Gentísico | 0.00 | 0.00 | 39.18 | 0.00 | 0.00 |
| Acid. p-Hidroxibenzoico | 46.35 | 23.65 | 58.28 | 22.80 | 14.56 |
| Acid. m-Hidroxibenzoico | 15.60 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| Acid. Vanílico | 39.64 | 20.47 | 50.51 | 23.51 | 17.92 |
| Acid. Caféico | 10.40 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| Acid. Siringico | 33.09 | 29.97 | 60.03 | 32.45 | 20.55 |
| Acid. p-Cumárico | 30.20 | 0.00 | 0.00 | 7.57 | 0.00 |
| Acid. Verátrico | 53.11 | 39.32 | 59.67 | 28.87 | 21.95 |
| Acid. Ferúlico | 53.11 | 39.32 | 59.67 | 28.87 | 21.95 |
| Acid. Sinápico | 29.41 | 0.00 | 36.38 | 0.00 | 0.00 |
| Acid. o-Cumárico | 52.68 | 34.65 | 53.18 | 12.10 | 20.69 |
| Acid. 3,4,5-Trimetoxicinã. | 59.45 | 69.64 | 65.69 | 73.80 | 53.62 |
| Protocatequialdehido | | | | | 90.61 |
| p-Hidroxibenzaldehido | | | | | 92.40 |
| Vanillina | | | | | 88.23 |
| Siringialdehido | | | | | 86.79 |
| o-Vanillina | | | | | 90.84 |
| 3,5-Dimetoxibenzaldehido | | | | | 84.00 |

TABLA V

PRECONCENTRACION Y LIMPIEZA

- METODOLOGIA GENERAL -

| EXPERIENCIA | ACONDICIONADO CARTUCHO | MEDIO MUESTRA | LAVADO CARTUCHO | ELUCION |
|-------------|---------------------------|---|-------------------------|------------------|
| SP1 | Agua | Matrix pH=2,5 | 1 + 1 ml Agua | 1ml MeOH 50 % |
| SP2 | Idem. | Matrix pH=1,5 | Matrix pH=1,5 | 1ml MeOH 90 % |
| (*)SP3 | Idem. | Matrix 1:2 pH=1,5 | Matrix 1:2 pH=1,5 | Idem. |
| SP5 | HCl 0,01M | Idem | Agua | Idem. |
| SP6 | Idem. | Matrix 1:5 5 ml | Idem. | Idem. |
| SP8 | HCl 0,01M NaCl 25% | Matrix 1:5 en HCl 0,01M NaCl 25% 5 ml | HCl 0,01M NaCl 25% | Idem. |
| SP9 | Idem | Idem | 1.-Idem 2.-Agua | Idem |

Muestra inicial: Dilución 1:100 Stock

Matrix : EtOH 16%, Tartarico 3 g/l en agua

(*) La muestra fue diluida 1:2 respecto SP1 e inyectado 2ml

TABLA VI

LIMPIEZA Y PRECONCENTRACION

| EXPERIENCIAS ESPECIE | % RETENCION | | | | |
|---------------------------|-------------|-------|--------|--------|--------|
| | SP3 | SP5 | SP6 | SP8 | SP9 |
| Acid. Gálico | 15.36 | 22.07 | 24.54 | 29.02 | 28.94 |
| Acid. Protocatequico | 43.20 | 63.82 | 57.22 | 69.59 | 87.28 |
| Acid. Gentísico | 45.69 | 65.21 | 50.10 | 64.75 | 78.87 |
| Acid. p-Hidroxibenzoico | 82.20 | 79.39 | 74.12 | 100.26 | 97.41 |
| Acid. m-Hidroxibenzoico | 82.20 | 79.94 | 92.780 | 89.58 | 105.22 |
| Acid. Vanílico | 70.11 | 80.88 | 79.32 | 83.96 | 91.97 |
| Acid. Caféico | 62.56 | 85.47 | 76.84 | 76.14 | 88.45 |
| Acid. Siríngico | 90.26 | 84.92 | 84.18 | 91.65 | 100.47 |
| Acid. p-Cumárico | 73.44 | 87.44 | 78.36 | 69.41 | 75.63 |
| Acid. Verátrico | 50.02 | 75.12 | 69.97 | 77.08 | 86.99 |
| Acid. Ferúlico | 50.02 | 75.12 | 59.67 | 77.08 | 86.99 |
| Acid. Sinápico | 66.14 | 75.17 | 63.24 | 68.86 | 89.57 |
| Acid. o-Cumárico | 50.82 | 87.99 | 89.48 | 78.19 | 89.57 |
| Acid. 3,4,5-Trimetoxicinã | 58.66 | | 68.93 | 87.46 | 101.71 |

PRECONCENTRACION Y LIMPIEZA DE LA MUESTRA

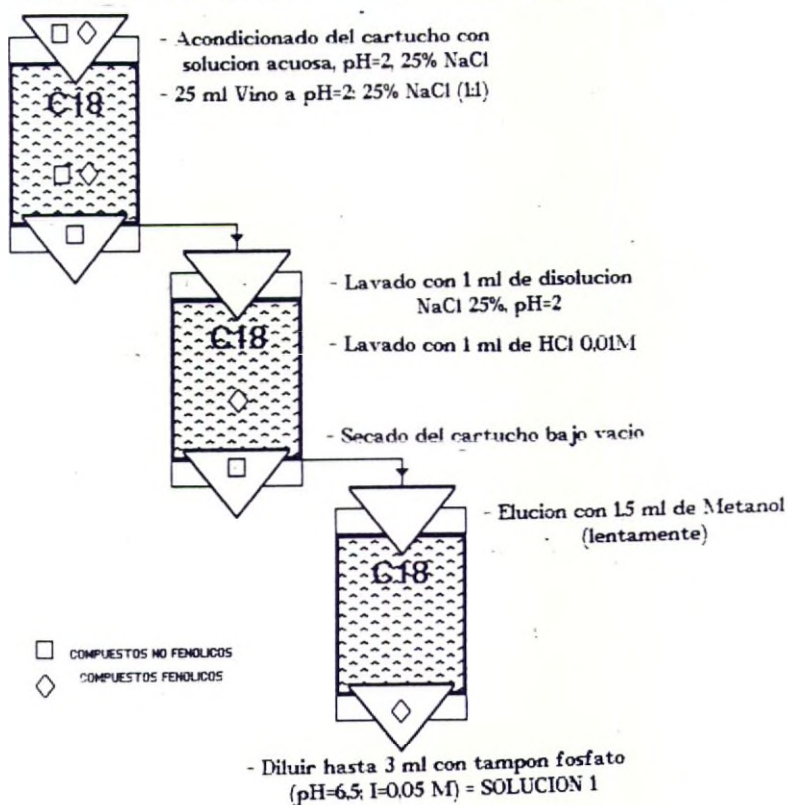


FIGURA 5 (a)

SEPARACION DE COMPUESTOS FENOLICOS

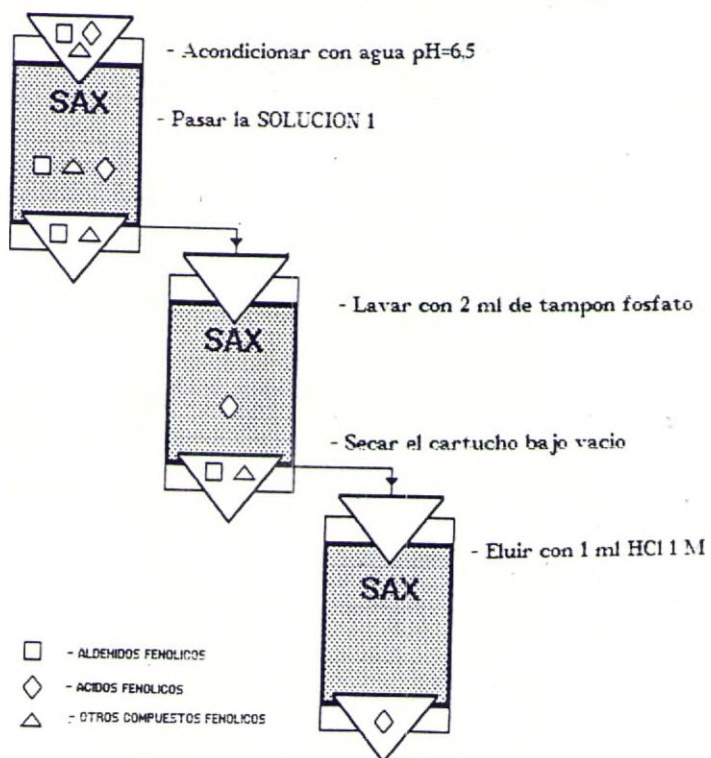


FIGURA 5 (b)

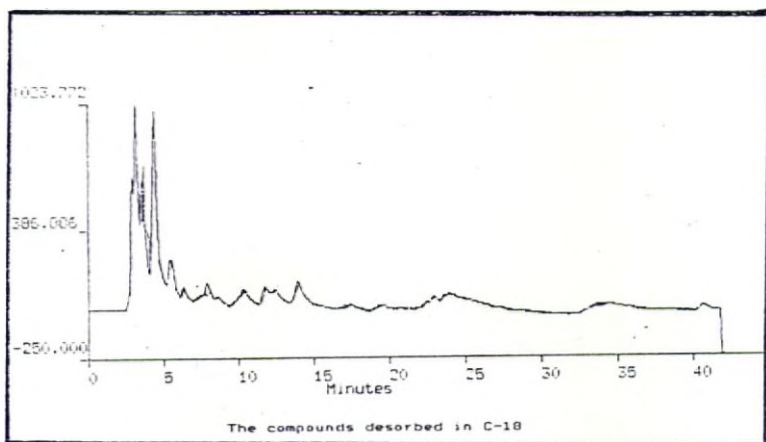


FIGURA 6 (a)

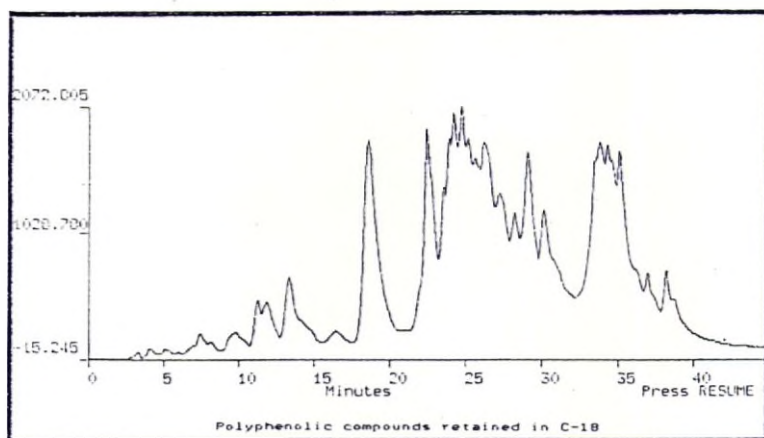


FIGURA 6 (b)

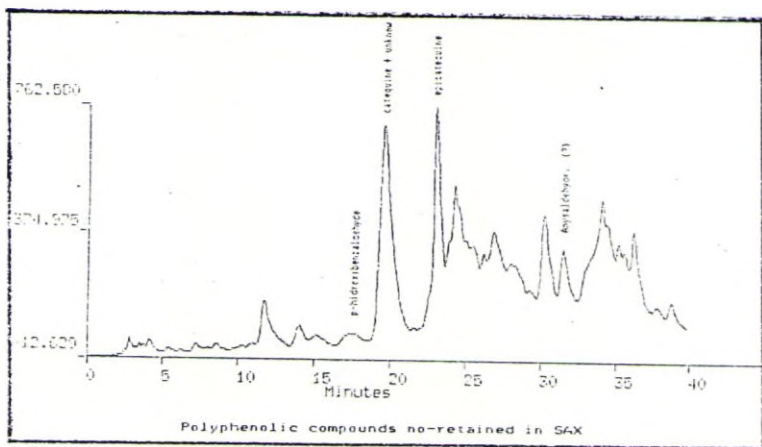


FIGURA 7 (a)

SOME IDENTIFIED POLYPHENOLIC COMPOUNDS

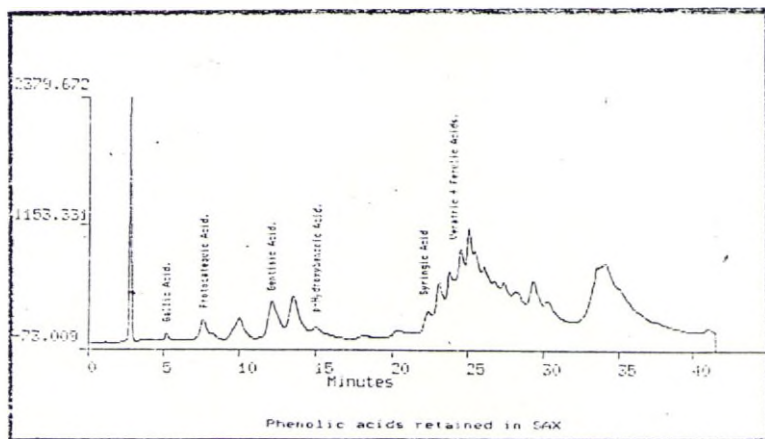


FIGURA 7 (b)

UTILIZACION DE FILTROS ANAEROBIOS EN LA DEPURACION DE VERTIDOS DE DESTILERIAS DE ALCOHOL VINICO

ENRIQUE NEBOT SANZ; DIEGO SALES MARQUEZ;
LUIS ROMERO GARCIA; LUIS RAMIREZ VICENTE
Departamento Ingeniería Química. Universidad de Cádiz

En los últimos años las investigaciones en torno a la digestión anaerobia como proceso depurativo de vertidos de alta carga orgánica han crecido espectacularmente. Este hecho ha potenciado el desarrollo de nuevos diseños de reactores¹⁻⁵, los cuales tienen en común la capacidad de retener la biomasa responsable del proceso anaerobio, logrando altos tiempos de Retención de Sólidos (TRS) compatibles con altas velocidades de carga y elevadas eficiencias depurativas.

Entre estos nuevos diseños de reactor, es especialmente útil a nivel industrial el **Filtro Anaerobio** caracterizado por poseer un lecho fijo al que se adhiere la biomasa. Frente a otros bioreactores como los de lecho fluidizado presenta la ventaja de un reducido costo de operación así como una gran estabilidad frente a los diversos cambios en las condiciones de entorno a que se puede ver sometida una planta de este tipo (cambios de concentración o caudal del vertido, etc.).

Tiene la limitación de la posible obturación o colmatación del filtro cuando se trabaja con vertidos que poseen grandes niveles de sólidos en suspensión.

Estas características hacen que el Filtro Anaerobio sea el bioreactor adecuado para el tratamiento de los vertidos de destilerías –comunmente denominados –vinazas– que cumplen el requisito de apenas contener sólidos en suspensión así como el de presentar elevada carga orgánica^{6,7}.

En el presente trabajo se realiza un estudio de optimización del proceso de digestión anaerobia termofílica de unos vertidos generados por una destilería vinica, de concentración media de 33 gDQO/L. Para ello se utiliza un reactor tipo filtro anaerobio a

escala laboratorio, dotado de relleno de alta relación superficie/volumen, dispuesto de modo no orientado, a través del cual circula en sentido descendente el fluido a depurar. Este tipo de reactores es utilizado actualmente en plantas industriales de depuración de vinazas⁸.

Los objetivos de esta optimización se centran en la determinación de la carga orgánica óptima a suministrar compatible con una eficacia depurativa aceptable y la correspondiente producción de metano. Asimismo se estudiará la influencia de dicha carga orgánica suministrada en los parámetros que caracterizan tanto el efluente líquido (pH, DQO, Sólidos, alcalinidad, etc.) como el efluente gaseoso (composición y caudal del biogás).

Finalmente se llevará a cabo un estudio de la biomasa adherida al filtro y de los parámetros que la caracterizan: concentración, espesor de biocapa, densidad, etc.

MATERIAL Y METODOS

Digestor: La figura 1 muestra el diseño de reactor así como del relleno utilizado:

Digestor: La figura 1 muestra el diseño de reactor así como del relleno utilizado:

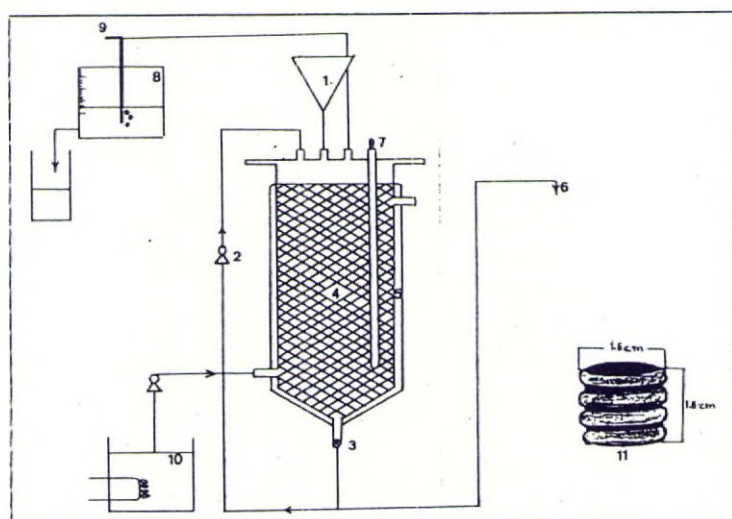


Figura 1. Esquema del equipo utilizado.

- | | |
|--|---|
| 1. Embudo alimentación | 7. Termómetro |
| 2. Bomba peristáltica de recirculación | 8. Gasómetro por desplazamiento de agua |
| 3. Válvula salida | 9. Toma de muestra gaseosa |
| 4. Relleno para soporte de la biomasa | 10. Baño termostático |
| 5. Encamisado para termostatización | 11. Unidad de relleno |
| 6. Salida efluente | |

Se trabaja por duplicado con dos reactores de vidrio de forma cilíndrica, de 12 cms. de diámetro interno y 25 cms. de altura, con un volumen útil de 2,2 L. La temperatura se mantuvo a 55°C mediante el encamisado del reactor y el biogas se recogió en sendos gasómetros por desplazamiento de agua. La alimentación se proporcionó de forma semi-continua (1 vez al día) y la recirculación se activaba durante dos horas al día.

En la tabla 1 se recogen las características físicas del relleno utilizado, entre las que destaca la elevada relación superficie/volumen ($450\text{m}^2/\text{m}^3$) comparado con los soportes utilizados por otros autores^{9,10} 3 ó 4 veces inferior.

Tabla I: Características del relleno utilizado.

| | | |
|--|--------|------|
| -Densidad real (g/l)..... | 1.01 | 10-3 |
| -Densidad aparente (g/l)..... | 63.5 | |
| -Porosidad | 0.9371 | |
| -N.º de unidades por digestor | 600 | |
| -Relación superficie/volumen* (m^2/m^3)..... | 450 | |

* Sin contar superficie lateral del reactor.

Vinazas: En la tabla 2 se muestran los parámetros medios que caracterizan el vertido utilizado.

Tabla II: Caracterización inicial de las vinazas.

| | |
|--------------------|--|
| DQO | 33.954 gO ₂ /L |
| pH | 3.65 |
| Nitrógeno Total | 423.4 mgN/L |
| Fósforo Total | 107.0 mgP ₂ O ₅ /L |
| DQO/N/P | 100:1.2:0.3 |
| Polifenoles | 914 mg ácido gálico/L |
| Sólidos totales | 28.263 g/L |
| Sólidos volátiles | 19.380 g/L |
| Sólidos Minerales | 8.883 g/L |
| Sólidos Suspensión | 4.30 g/L |

A la vista de estos parámetros se decidió someter a un pretratamiento a las vinazas antes de su adición al digestor. Este pretratamiento consiste en:

- Neutralización mediante NaOH 7 N.
- Dilución 1:1 con agua destilada.

Plan experimental: Los reactores fueron arrancados utilizando el efluente procedente de reactores de mezcla completa aclimatados a 55°C y alimentados con el mismo tipo de vertido. Después del arranque, ambos reactores se sometieron a cargas orgánicas crecientes al disminuir progresivamente el TRH utilizado (se ensayaron los siguientes TRH: 10, 8, 6, 4, 3.5, 3, 2.5, 2 y 1.5 a los que corresponden cargas orgánicas comprendidas entre 1.6 y 10 gDQO/L). Cada TRH fue mantenido hasta la consecución del estado estacionario, punto en el que la producción de biogas y el nivel de depuración se mantie-

nen constantes, en ese momento se aprovecha para realizar la toma de muestra durante tres días consecutivos.

Técnicas analíticas: A los efluentes líquidos se hicieron los siguientes análisis: Sólidos Totales (ST), Sólidos Disueltos (SD), Alcalinidad y Acidez Volátil, todos estos parámetros según el Standard Methods¹¹. La Demanda Química de Oxígeno (DQO) se midió por dicromatometría¹²; el índice de Polifenoles mediante el método de Folling-Cicalteau.

La composición del Biogas se midió por CG utilizando una columna de acero inoxidable Carbosieve SII, 2m de longitud, 1/8 de pulgada de diámetro. El volumen de muestra inyectado es de 1 cm³, Temperatura: 7'a 55°C, 27°C/min hasta 225°C y 5'a 225°C. T. detector 225°C, T. Inyector 100°C. Detector TCD, portador He, 30 ml/min. Para la calibración del método se utilizó un gas patrón: 4.65% H₂, 5.33% N₂, 69.92 CH₄ y 20.10 CO₂.

La biomasa suspendida se determinó por filtración del efluente mediante filtro MILLIPORE APA00705, secado a 110°C hasta peso constante.

RESULTADOS Y DISCUSION

1. Arranque de los digestores.

Se siguió la siguiente sistemática:

– Adición de 200 ml. de inóculo procedente del efluente de otros reactores (concentración aproximada 3 g/L) y completar hasta los 2.2. L con vinazas. Se mantuvieron estas condiciones durante una semana con el objeto de aclimatar la flora al nuevo medio.

– A partir de la segunda semana se procedió a la alimentación diaria de cada digestor con un TRH de 10 días, registrando cada día la evolución de los parámetros considerados clave en esta etapa: La relación CH₄/CO_{2g} y el volumen de metano producido por día. Otros autores toman como parámetro de control la concentración de ácidos volátiles en el efluente. En las figuras 2 y 3 se registra la evolución de dichos parámetros y se observa cómo en el plazo de 30 días prácticamente alcanza los valores calculados para ese TRH, pudiéndose dar por finalizada dicha etapa inicial a partir de la cual es posible aumentar la carga orgánica suministrada.

Habida cuenta de que el metano es el principal producto de la anaerobiosis, es interesante estudiar el **rendimiento** del proceso en cuanto a la producción de metano se refiere. A tal efecto se define la **velocidad de producción de metano**, como el volumen de metano, en C.N. de P y T, producidos por litro de digestor y día.

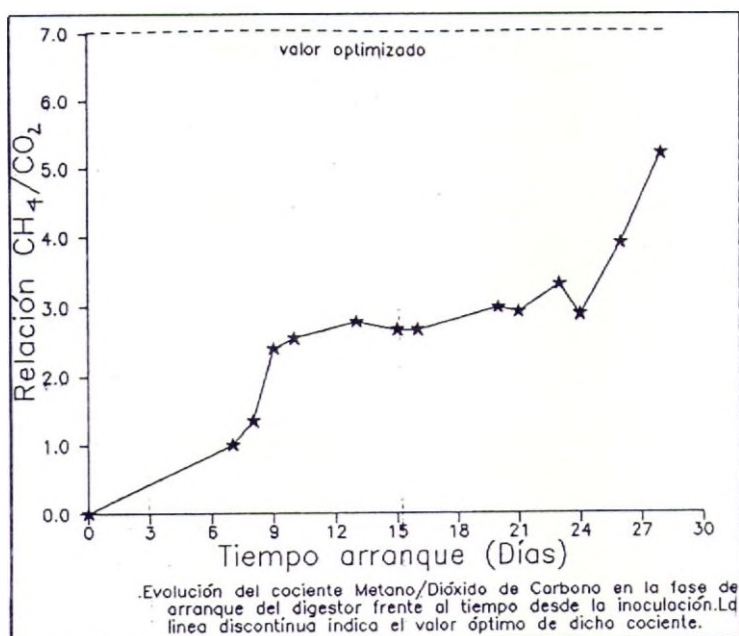


Figura 2

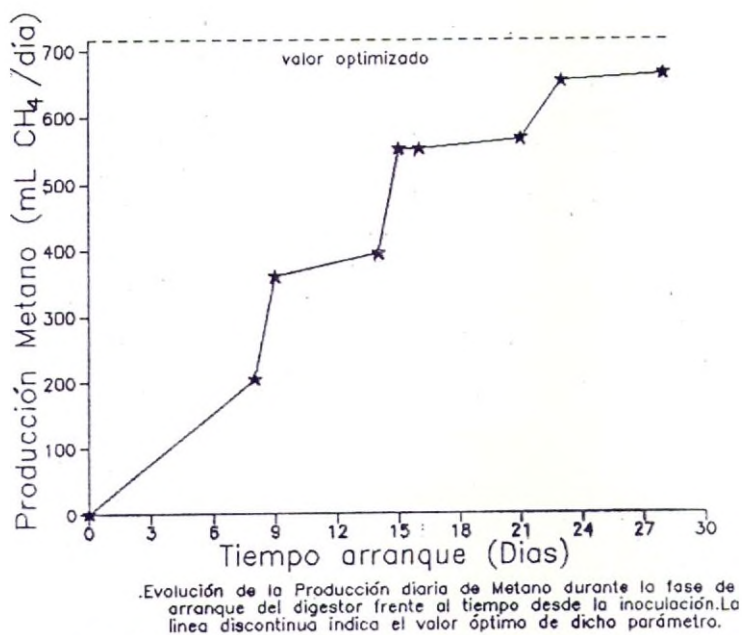


Figura 3.

Comparando estos resultados por los obtenidos por otros autores¹³ con el mismo sustrato pero con reactores de mezcla completa, se observa una gran ventaja para los reactores de tipo Filtro anaerobio.

2. Etapa de optimización

Este proceso biológico está constituido por un sistema heterogéneo de 3 fases en el que interacciona el *líquido* contenido en el reactor con la biomasa fijada al lecho (*sólido*) y tiene lugar el desprendimiento de un *gas*: el biogas.

A. Estudio de los parámetros que caracterizan el efluente líquido.

En la tabla 3 se muestran los resultados obtenidos del análisis de los efluentes líquidos correspondientes a cada TRH ensayado una vez alcanzado el estado estacionario.

Tabla III

CARACTERIZACIÓN DE LOS EFLUENTES LÍQUIDOS.

| PARAMETRO | TRH (días) | | | | | | | | |
|--|------------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| | 10 | 8 | 6 | 4 | 3 | 2 | 3.5 | 2.5 | 1.5 |
| pH | 7.5 | 7.6 | 7.7 | 7.8 | 8.0 | 7.8 | 7.9 | 7.9 | 8.0 |
| DQO _T (gO ₂ /L) | 1.85 | 1.14 | 1.86 | 1.82 | 1.36 | 1.93 | 1.01 | 1.21 | 3.05 |
| DQO _S (gO ₂ /L) | 0.85 | 0.80 | 1.65 | 1.85 | 1.14 | 1.61 | 1.00 | 1.02 | 2.18 |
| ST (g/L) | 5.70 | 5.58 | 6.00 | 6.21 | 6.08 | 6.12 | 5.58 | 5.78 | 6.75 |
| SV (g/L) | 0.90 | 1.43 | 1.56 | 1.85 | 2.23 | 2.23 | 2.09 | 2.32 | 3.27 |
| SD (g/L) | 5.51 | 5.49 | 5.97 | 5.86 | 5.45 | 5.77 | 5.23 | 5.38 | 6.06 |
| SVD(g/L) | 0.78 | 1.31 | 1.38 | 1.46 | 1.81 | 1.82 | 1.83 | 1.97 | 2.58 |
| SS (g/L) | 0.18 | 0.22 | 0.15 | 0.39 | 0.56 | 0.55 | 0.34 | 0.37 | 0.72 |
| ALC (g CO ₃ Ca/L) | 3.93 | 4.03 | 3.49 | 3.90 | 4.21 | 3.75 | 3.92 | 4.02 | 4.40 |
| AV (g acético/L) | 0.33 | 0.58 | 1.26 | 0.72 | 1.00 | 1.19 | 0.30 | 0.33 | 1.54 |
| Polifenoles (g ac. gálico/L) | 0.06 | 0.13 | 0.18 | 0.19 | 0.19 | 0.20 | 0.20 | 0.23 | 0.28 |

DQO: La evolución de los parámetros DQO total y DQO soluble sigue una tendencia muy similar para ambos. Al aumentar la carga orgánica se produce un ligero aumento de la concentración sólo algo más significativo para los TRH de 2 y 1.5 días. En la figura 4 se representan las eficacias depurativas. En la figura 4 se representan las eficacias depurativas como % DQO eliminada. Se observa como dicha eficacia se mantiene por encima del 90% hasta el TRH de 2 días, bajando al 85% para el TRH de 1.5 días.

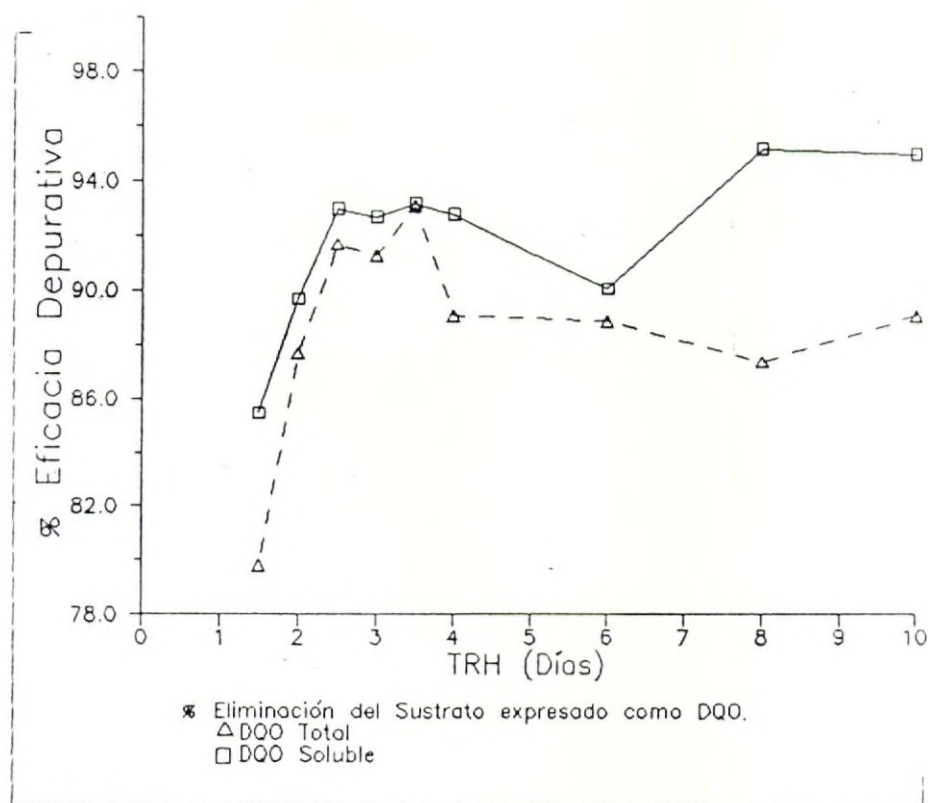


Figura 4

Sólidos: La concentración del efluente expresada en Sólidos Volátiles (Totales y Disueltos) sigue una tendencia muy similar a la de la DQO: aumenta ligeramente al aumentar la carga. La eficacia depurativa expresada como % de eliminación de sólidos volátiles es algo menor a la reflejada por la DQO, pues oscila entre el 91% (TRH 10 días) y 74% (TRH 1.5 días).

Acidez volátil, pH y alcalinidad. La acidez volátil es un parámetro muy importante de cara al control de la estabilidad de la anaerobiosis. Una acidez volátil elevada (superior a 1.5 g ácido acético por litro) expresa un desajuste entre la etapa acidogénica (donde se producen los ácidos volátiles) y la metanogénica (Transformadora de dichos ácidos a metano y dióxido de carbono). Como se observa en la tabla III, tan solo para el TRH de 1.5 días el valor de la acidez se aproxima a los límites de estabilidad, como consecuencia del **choque** que experimenta la biomasa al recibir de golpe todo el volumen de alimentación correspondiente a un día. Es de suponer que la misma carga orgánica suministrada de forma continua a lo largo de las 24 horas del día, provocase una desestabilización mucho menor.

La alcalinidad permanece prácticamente constante para toda la experiencia, así como el pH que se mantiene dentro del rango 7.7 y 7.9. Ambos hechos se explican por el efecto tampón del medio que contrarresta las variaciones de ácidos del medio.

Índice de polifenoles: Estos compuestos según muchos autores¹⁴ pueden causar inhibición en el proceso de digestión anaerobia. Sin embargo en las bajas concentraciones en que se encuentran en las vinazas (0.5 g/l de ácido gálico) no parece presentar problemas. En efecto para el TRH de 10 días son depurados en un 90%. Dicho porcentaje de eliminación disminuye progresivamente con una pendiente más acusada que la correspondiente a la eficacia total de depuración, lo que manifiesta esa mayor dificultad para ser biodegradado.

Sólidos en suspensión: Este parámetro representa la biomasa suspendida. Al disminuir el TRH se espera un aumento de biomasa total y como consecuencia del desprendimiento de parte de la biomasa fijada al relleno, es predecible un incremento proporcional de la biomasa suspendida. Esta tendencia, aunque con algunas distorsiones, se aprecia en los datos recogidos en la tabla III.

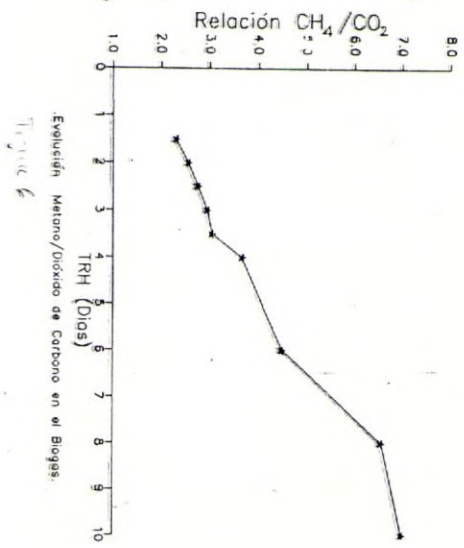
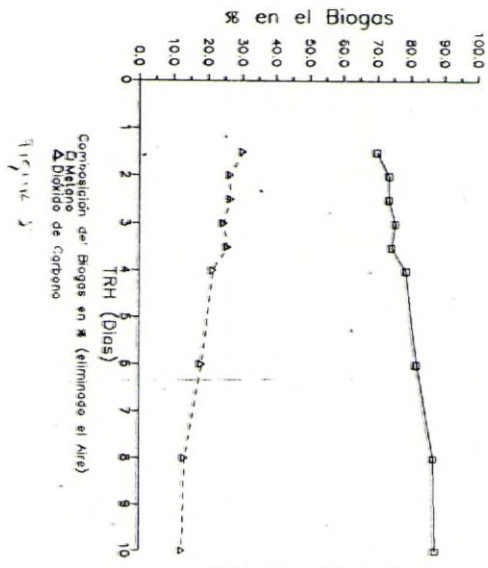
B. Estudio de los parámetros que caracterizan el efluente gaseoso.

TABLA IV

| TRH | CH ₄ | CO ₂ | N ₂ | O ₂ | CH ₄ | CO ₂ | CH ₄ /CO ₂ |
|-----|-----------------|-----------------|----------------|----------------|-----------------|-----------------|----------------------------------|
| 10 | 67.7 | 9.6 | 15.8 | 5.2 | 7.5 | 12.5 | 7.0 |
| 8 | 72.7 | 11.0 | 11.8 | 4.7 | 86.8 | 13.2 | 6.57 |
| 6 | 71.3 | 15.9 | 9.5 | 3.3 | 81.8 | 18.2 | 4.50 |
| 4 | 69.9 | 19.0 | 8.5 | 2.6 | 78.6 | 21.4 | 3.67 |
| 3 | 69.3 | 22.6 | 5.7 | 1.9 | 75.4 | 24.6 | 2.95 |
| 2 | 68.8 | 24.8 | 4.1 | 1.6 | 73.5 | 26.5 | 2.56 |
| 3.5 | 67.7 | 23.4 | 6.1 | 2.0 | 74.3 | 25.7 | 3.05 |
| 2.5 | 68.3 | 24.7 | 4.9 | 1.8 | 73.4 | 26.6 | 2.76 |
| 1.5 | 65.7 | 28.9 | 4.1 | 1.3 | 69.8 | 30.2 | 2.31 |

En la tabla 4 se recogen los datos de composición y volumen del biogas producido. Aparte de metano y dióxido de carbono aparecen en menor proporción nitrógeno y oxígeno como consecuencia de la existencia de pequeñas fugas en los reactores.

En la figura 5 se representa la evolución de los porcentajes de metano y dióxido de carbono (excluido el aire) en función de los TRH y en la figura 6 se representa el cociente metano/dióxido de carbono, que como se aprecia va disminuyendo conforme se incrementa la carga orgánica. Este hecho denota un alejamiento de las condiciones de operación correspondientes a la flora metanogénica. Estas bacterias por su lento metabolismo requieren elevados TRH para poder transformar todo el sustrato orgánico en metano. Por ello al aumentar la carga diaria de influente, se ven perjudicadas frente a la flora acidogénica —de metabolismo más rápido— lo que se manifiesta por el aumento de CO₂ en el biogas.



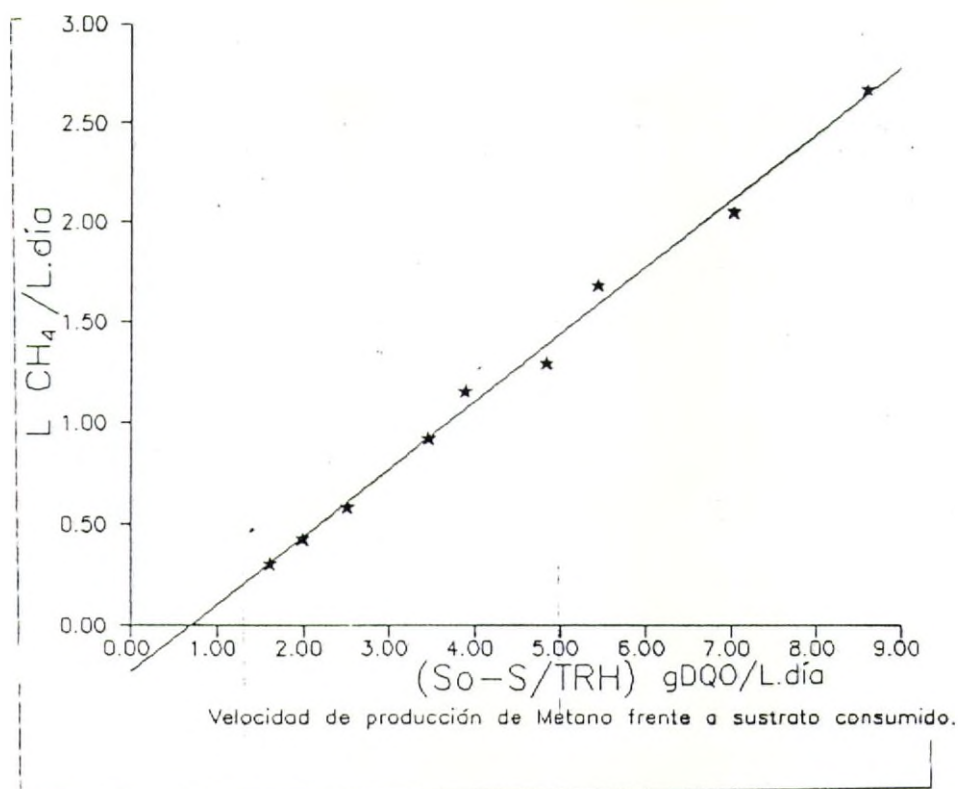


Figura 7

El rendimiento puede expresarse en términos de litros de metano por gramo de DQO consumida. Si se representa la velocidad de producción de metano frente a los gramos de DQO consumida por litro y día $(S_0 - S/TRH)_{DQO}$ se obtienen una serie de puntos que se ajustan a una línea recta, como se recoge en la figura 7.

La pendiente de dicha recta tiene dimensiones de litros de metano/g DQO y un valor obtenido por regresión lineal de 0.34, prácticamente idéntico al teórico (0.35). Este hecho muestra que el proceso, en el rango de cargas estudiado, no se aparta del intervalo de estabilidad óptima, y que en todo momento el sistema es sustrato limitante, es decir que la biomasa siempre se encuentra en exceso frente a la cantidad de sustrato suministrada.

C. Determinación de la biomasa total.

Es un parámetro difícil de evaluar pues al quedar la biomasa fijada al soporte, no es posible su determinación sin abrir el digestor con la consiguiente distorsión del sistema. Otros autores han diseñado un filtro de laboratorio del que fácilmente se puede extraer una porción sin graves alteraciones. En nuestro caso este estudio se realizó en uno de los digestores una vez finalizadas las experiencias. Primeramente se vació el líquido del reactor, obteniéndose un volumen de 1,7 l. De este dato se desprende que la biomasa adherida al soporte ha desplazado un volumen de 0,5 l (por diferencia con el volumen de carga inicial).

A continuación se seleccionaron 20 unidades del relleno a cuatro alturas equidistantes, obteniendo las muestras H1, H2, H3 y H4, según se desciende en el filtro. Asimismo se tomó otra muestra, Hm, representativa de todo el largo del filtro.

Concentración de biomasa: Las muestras H1-4 fueron limpiadas con agua destilada y fuerte agitación. Las cuatro disoluciones resultantes se sometieron a análisis de DQO, ST, SM, SV, cuyos resultados se recogen en la tabla 5.

Tabla V: Distribución de la biomasa en el filtro.

| ALTURA | DQO (g/L) | SV (g/L) | ST (g/L) | SM (g/L) |
|--------|-----------|----------|----------|----------|
| B1 | 26.244 | 14.318 | 16.193 | 1.875 |
| B2 | 30.376 | 21.239 | 24.068 | 2.829 |
| B3 | 36.128 | 27.000 | 30.954 | 3.954 |
| B4 | 37.588 | 29.182 | 35.489 | 6.307 |
| MEDIA | 32.584 | 22.935 | 26.676 | 3.741 |

Se observa una mayor acumulación de SV en la parte inferior del reactor ya que debido al sentido descendente del flujo y a la gravedad se produce un arrastre de biomasa. La acumulación de SM también en la parte inferior manifiesta la retención y sedimentación de sales inorgánicas.

Con estos datos deducimos los siguientes valores de concentración de biomasa:

–**Concentración volumétrica:** 22.935 kg SV/m³ digestor

–**Concentración superficial:** 0.047 kg SV/m² digestor

Comparando estos valores con los conseguidos por otros autores¹⁵ para reactores con relleno orientado: 8.3 kg SV/m³ y 0.11 kg SV/m², se pueden ver las óptimas condiciones del lecho utilizado para la retención de la biomasa, puesto que permite altas concentraciones volumétricas, con una película de biomasa muy fina, como corresponde a la concentración superficial tan reducida.

Densidad y espesor de biocapa: La muestra Hm se secó a 35°C y se procedió a la medida del volumen de la biocapa por desplazamiento del agua contenida en una probeta. Previamente había sido pesada. Con estos datos se obtiene el siguiente valor para la densidad: 2,55 g/cm³.

Para el cálculo del espesor de biocapa, utilizaremos el volumen desplazado por la biomasa en su estado natural (húmedo), que es de 0.5 litros para todo el reactor. Conociendo la superficie total del soporte se estima el espesor *medio* de la película, resultando ser de 0.045 cm., aproximadamente 0.5 mm. Lógicamente se trata de un valor medio pues en la parte superior del digestor la concentración de biomasa es inferior y por tanto también lo será la biocapa. De todas formas el espesor de 0.5 mm. es lo suficientemente pequeño como para que no se produzcan problemas de difusión de sustrato en el interior de la biopelícula.

CONCLUSIONES

Se evalúa la tecnología del Filtro Anaerobio para la depuración de vertidos de desti-

lería. Dicho filtro está constituido por un relleno de elevada relación superficie/volumen, está dispuesto de modo no orientado y se somete a flujo descendente. Las experiencias de laboratorio confirman que este tipo de reactor proporciona una adecuada reducción de la DQO así como la correspondiente producción de metano. Además, pueden ser deducidas las siguientes conclusiones:

—El arranque y la adaptación de la flora metanogénica al Filtro se puede realizar en el plazo de un mes. Como parámetros de control son válidos la relación CH_4/CO_2 , así como la producción de metano por litro y día de digestor.

—Del estudio de optimización se concluye que el punto óptimo de operación se sitúa próximo al TRH de 1.5 días y Carga Orgánica de 10 gDQO/L. día, pues en ese punto el rendimiento depurativo y la producción de metano son aceptables y los niveles de acidez volátil y % de CO_2 alcanzan valores cercanos a los considerados como límites de estabilidad para la fermentación anaerobia.

BIBLIOGRAFIA

1. YOUNG J. AND McCARTY P.L. "The anaerobic filter for waste treatment" Proc. 22nd Ind. Waste Conf. Purdue Univ. 559-574 (1967).
2. LETTINGA ET ALTER. "Use of the upflow sludge blanket (USB) reactor concept for biological wastewater treatment, especially for anaerobic treatment". Biotech. Bioeng. 22, 699-734. (1980).
3. SWITZENBAUM M.S. AND JEWEL W.J. "Anaerobic attached film expanded reactor (AAFEB) treatment" JWPCF 52, 1953 (1980).
4. KENNEDY K.J. AND DROSTE R.C. "Anaerobic Fixed-Film treating carbohydrate waste water". Water Research, 20, 685-695, (1986).
5. HOWERTON D.E., YOUNG J.C. "Two cyclic operation of anaerobic filter". JWPCF. 59, 788-794, (1987).
6. BORIES, A. "Methane Fermentation of residues from alcohol production". Tribune Cebedeau, 456, 34, 475-483 (1981).
7. LO, K. V.; LIAO, P.H. "Methane production from fermentation of winery wastewater". Biomass, 9, 19-27 (1986).
8. GARCIA PASCUAL, F. "Planta de metanización de la destilería del carrion (S.G.A.E.)" 4.º Seminario Depuración Anaerobia Aguas Residuales. Valladolid, 1988.
9. KENNEDY, K.J., DROSTE R.L. "Start up Anaerobic Downflow Stationary Fixed Film (DSFF) Reactor". Biotech. and Bioeng. 27, 1152-1165, (1985).
10. SONG, KI-HO; YOUNG, J.C. "Media Design Factors for Fixed-bed Filters". JWPCF, 58, 2, 115-121 (1988).
11. STANDARD METHODS FOR THE EXAMINATION OF WATER AND WASTEWATER. 15th Edition, APHA-AWWA-WPCF, (1980).
12. HATCH COMPANY.

13. SALES Y COLS. "Anaerobic Digestion Kinetics of winw-distilleries wastewatwers". J. Chem. Tech. Biotech. 45, 147-162, (1989).
14. SIERRA, R; FIELD, J, LETTINGA, G. "Toxicidad metanogénica de compuestos fenólicos y lipídicos". 4.º DAAR, Valladolid, 1988.
15. HAMODA, M.F.; KENNEDY K.J. "Biomass Retention and Performance of Anaerobic Fixed-Film Reactor treating Acetic acid wastewater". Biotech. Bioeng, 30, 272-281, (1987).

DEPURACION ANAEROBIA TERMOFILICA DE VINAZAS DE VINO EN FASES SEPARADAS

RAMIREZ VICENTE, L.; NEBOT SANZ, E.; SALES MARQUEZ, D.;
ROMERO GARCIA, L.I.
Departamento Ingeniería Química. Universidad de Cádiz

1. INTRODUCCION

Los vertidos procedentes de las destilerías de alcohol vínico presentan un elevado contenido en materia orgánica, lo que aconseja procedimientos biológicos para su depuración.

De entre los tratamientos biológicos la fermentación anaerobia se muestra como un proceso eficaz de depuración ya que además de reducir ampliamente la carga orgánica del vertido (más de un 90% de degradación), se obtiene como producto final un biogas muy rico en metano, que permite reducir los costos energéticos de la planta.

La degradación anaerobia puede llevarse a cabo en un único reactor en el que conviven los distintos tipos de microorganismos en asociación simbiótica, o en dos reactores en serie teniendo lugar la **hidrólisis, acidogénesis y acetogénesis** en el primer reactor y la **metanogénesis** en el segundo.

El concepto de separación de fases fue propuesto entre otros por Pohland y Gosh en 1971. La separación de fases se puede lograr de dos formas distintas: llevando a cabo el llamado *control cinético*, seleccionando Tiempos de Retención Hidráulicos (TRH) pequeños que produzcan el lavado de la flora metanogénica; o mediante el *control de pH*, pues la flora acidogénica es activa en un rango de de pH mucho más amplio que la metanógena.

La ventaja del sistema de dos fases radica en el hecho de proporcionar los ambientes adecuados a los distintos tipos de microorganismos, por lo que se logra una mayor estabilidad y eficacia del proceso anaerobio.

La primera fase conduce a la formación de ácidos volátiles, hidrógeno, amoníaco y dióxido de carbono. El reactor ácido cumple la misión de amortiguar las posibles variaciones de la alimentación, proporcionado el reactor metanogénico (más sensible a cualquier tipo de cambios) un influente con alto contenido en dichos ácidos, precursores inmediatos del metano.

En el presente trabajo se estudiará la aplicación de separación de fases en la depuración anaerobia de vinazas, en el rango termofílico (55°C).

2. MATERIAL Y METODOS

Equipo utilizado: Las experiencias de laboratorio se llevaron a cabo por duplicado en reactores de vidrio tipo mezcla completa sin recirculación de sólidos. Cada reactor tiene una capacidad de 2 litros, se encuentra sumergido en un baño termostático a 55°C y está provisto de agitación magnética, entrada y salida de líquidos y una salida para el biogas que se almacena en un gasómetro por desplazamiento de agua.

Vinazas: En la tabla I se muestran los parámetros medios que caracterizan el vertido utilizado.

Tabla I. Caracterización influente etapa de optimación.

| | |
|--------------------------------|-------|
| pH | 3,5 |
| DQO (mg/L)..... | 15000 |
| SD (g/L)..... | 9,05 |
| SVD (g/L)..... | 7,20 |
| SMD (g/L)..... | 1,85 |
| Nitrogeno (g N/L)..... | 0,242 |
| Fosfatos (g P O /L)..... | 0,050 |
| Polifenoles (g gálico/L) | 0,26 |
| Amonio (mg/L)..... | 3,6 |

A la vista de estos parámetros se decidió no someter a ningún pretratamiento a las vinazas antes de su adición al digestor.

Se siguió un régimen de alimentación en semicontínuo: diariamente se proporciona el volumen de influente correspondiente al primer reactor y con el efluente de éste -previamente neutralizado- se alimenta el segundo.

Técnicas analíticas: A los efluentes líquidos se hicieron los siguientes análisis: Sólidos Totales (ST), Sólidos Disueltos (SD), Amonio, Alcalinidad y Acidez Volátil, todos estos parámetros según el Standard Methods. La Demanda Química de Oxígeno (DQO) se midió por dicromatometría; el índice de Polifenoles mediante el método de Folling-Cicalteau. También se determinaron los ácidos volátiles individualmente por CG mediante una columna de vidrio, 3m de longitud, 4mm. de diámetro interno, WAW 100/120, 25 DEGA y 3% H₃PO₄. Temperatura del horno 150°C, Detector FID a 200°C, portador Nitrogeno: 20ml/min. Volumen de muestra 1ul.

La composición del Biogas se midió por CG utilizando una columna de acero inoxidable Carbosieve SII, 2m. de longitud, 1/8 pulgada de diámetro. El volumen de muestra

inyectado es de 1 cm³, Temperatura: 7'a 55°C, 27°C/min. hasta 225°C y 5'a 225°C. T. detector 225°C, T. Inyector 100°C. Detector TCD, portador He, 30 ml/min. Para la calibración del método se utilizó un gas patrón: 4.65% H₂, 5.33% N₂, 69.92 CH₄ y 20.10 CO₂.

La biomasa suspendida se determinó por peso seco del precipitado resultante de la centrifugación del efluente.

Plan experimental: Se pueden distinguir dos etapas:

A. Creación de la flora acidogénica a partir de la flora anaerobia procedente de reactores anaerobios monoetapa.

B. Optimización de los digestores ácido y metanogénico, con el objeto de obtener una serie de parámetros que permitan la extrapolación de los datos obtenidos a procesos de planta piloto o de nivel industrial.

La metodología aplicada consiste en mantener los digestores a un mismo TRH hasta alcanzar el estado estacionario, momento en el que se realiza la toma de muestra durante tres días consecutivos; una vez efectuada ésta se procede al incremento de la carga orgánica ensayando un TRH menor.

4. RESULTADOS Y DISCUSION

A. Arranque de los digestores y creación de la flora acidogénica.

Dado que las vinazas carecen de los microorganismos necesarios para la fermentación anaerobia, se utilizó un inóculo procedente de otros reactores anaerobios mantenidos activos en el laboratorio.

La flora acidogénica se seleccionó partiendo de dicho inóculo. A cada digestor ácido se adicionó 500 ml. de inóculo completándose hasta 2 l con vinazas. El pH se situó en 5 mediante la adición de ácido acético, efectuando por tanto un control de pH que inhibe a las bacterias matanógenas y potencia el desarrollo de las acidogénicas. Pasado un tiempo de adaptación, se suministró un volumen diario correspondiente a un TRH de 10 días. La composición del biogas producido es indicativo del proceso predominante, y cuando desapareció el metano del mismo y se estabilizó la producción de ácidos volátiles se dio por terminada esta etapa de arranque.

Se siguió el mismo procedimiento con cada reactor metanogénico, pero situando el pH entorno a 7 mediante la adición de NaOH concentrada. En este caso el fin de la etapa de arranque viene señalada por la estabilidad en la producción de metano, así como en el consumo de la Demanda Química de Oxígeno (DQO).

B. Optimización de los digestores.

En un sistema de depuración a escala industrial es indispensable operar en condiciones óptimas, es decir conjugar la máxima depuración compatible con la máxima carga orgánica admisible.

Este estudio de optimización se lleva a cabo ensayando TRH decrecientes hasta la desestabilización del sistema. Se ensayaron los siguientes TRH: 10, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1.5 para ambas fases; 1.8 para la metanogénica y 1.3 para el reactor ácido.

En las tablas II y III aparecen los valores de los parámetros más relevantes de los efluentes obtenidos en cada uno de los TRH practicados.

a) Reactor acidogénico:

El parámetro que caracteriza esta fase es la producción de ácidos volátiles. En la Tabla IV se recogen las distintas cantidades de cada uno de ellos. Se observa como el ácido predominante es el butírico, que constituye cerca del 75% de la producción total de ácidos, y es el que presenta una evolución más significativa, pues los otros ácidos se mantienen prácticamente constantes con pequeñas oscilaciones.

Entre los TRH de 10 y 2 días se produce una disminución suave y progresiva de los ácidos volátiles totales (de 4363 mg pasa a 3000 mg por litro), produciéndose un descenso brusco para el TRH de 1.5 días llegando a 829 mg/L. Por lo que en cuanto a la producción de ácidos se refiere el valor óptimo corresponde a la zona de elevados TRH (7 días), donde se produce la máxima concentración de ácidos. Sin embargo si se tiene en cuenta la depuración del efluente –que es el parámetro que nos interesa optimizar– se observa (figura 1) que la concentración del mismo expresado en g DQO/L disminuye al descender el TRH estabilizándose en 10.5 g/l para el TRH de 2 días. Esto se debe a la DQO eliminada en forma de Hidrógeno en el biogas, ya que el volumen de este aumenta al descender el TRH.

TABLA II CARACTERIZACION DE LOS EFLUENTES LIQUIDOS Y GASEOSOS
 RESULTANTES EN LA ETAPA DE OPTIMACION DE LA ETAPA
 ACIDOGENICA

| PARAMETRO | 10 | 8 | 7 | 6 | 5 | 4 | 3 | 2 | 1,5 | 1,3 |
|-----------------------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| pH | 5,2 | 5,2 | 5,2 | 5,2 | 5,2 | 5,2 | 5,2 | 5,2 | 5,2 | 5,2 |
| DQOt (g/L) | 14,3 | 13,3 | 13,3 | 13,9 | 13,5 | 13,0 | 11,3 | 12,5 | 12,1 | 11,2 |
| DQOs (g/L) | 12,8 | 12,5 | 11,8 | 12,6 | 12,2 | 11,6 | 10,1 | 10,5 | 10,6 | 10,6 |
| SD (g/L) | 7,3 | 7,7 | 8,0 | 8,9 | 7,7 | 7,5 | 8,0 | 8,1 | 9,0 | 8,1 |
| SVD (g/L) | 5,5 | 5,3 | 5,2 | 5,3 | 5,5 | 5,3 | 5,3 | 5,7 | 5,8 | 5,9 |
| SMD (g/L) | 1,8 | 2,4 | 2,8 | 3,6 | 2,2 | 2,2 | 2,6 | 2,4 | 3,2 | 2,2 |
| Amonio (mg/L) | 10 | 4 | 10 | 10 | 76 | 100 | 118 | 87 | 73 | 69 |
| Polifenoles (mg/L) | 21 | 21 | 22 | 24 | 17 | 14 | 13 | 15 | 19 | 17 |
| AGV (g/L) | 4,4 | 2,1 | 4,5 | 4,0 | 3,7 | 3,3 | 3,0 | 3,0 | 0,8 | 0,6 |
| % H ₂ | 47,4 | 47,3 | 36,8 | 59,7 | 31,0 | 50,5 | 44,0 | 50,3 | 52,8 | 45,7 |
| % CO ₂ | 40,4 | 25,0 | 47,4 | 15,6 | 47,3 | 23,0 | 46,1 | 30,0 | 30,4 | 44,0 |
| % N ₂ | 13,5 | 27,2 | 11,9 | 10,0 | 18,4 | 22,0 | 8,4 | 14,0 | 13,2 | 6,7 |
| % O ₂ | 0,5 | 0,5 | 0,9 | 2,5 | 0,6 | 0,4 | 0,2 | 0,5 | 0,6 | 0,3 |
| % CH ₄ | - | - | 1,9 | - | 2,5 | 4,3 | 1,3 | 4,6 | 2,4 | 2,4 |
| %H ₂ /%CO ₂ | 1,2 | 1,9 | 0,8 | 5,1 | 0,6 | 2,2 | 0,9 | 1,7 | 1,7 | 1,0 |
| VOL GAS (L) | 0,2 | 0,3 | 0,3 | 0,2 | 0,3 | 0,4 | 0,6 | 0,5 | 1,0 | 1,5 |

TABLA III CARACTERIZACION DE LOS EFLUENTES LIQUIDOS Y GASEOSOS
 RESULTANTES EN LA ETAPA DE OPTIMACION DE LA ETAPA
 METANOGENICA

| PARAMETRO | 10 | 8 | 7 | 6 | 5 | 4 | 3 | 2 | 1,8 | 1,5 |
|--------------------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------|------|
| pH | 7,2 | 7,3 | 7,2 | 7,4 | 7,2 | 7,1 | 7,0 | 7,2 | 7,1 | 7,2 |
| DQOt (g/L) | 4,4 | 1,7 | 3,1 | 3,8 | 3,6 | 3,4 | 3,9 | 3,9 | 10,6 | 10,6 |
| DQOs (g/L) | 1,7 | 0,8 | 1,4 | 1,5 | 1,9 | 1,4 | 1,7 | 1,9 | 8,4 | 9,6 |
| SD (g/L) | 4,5 | 3,9 | 4,1 | 3,6 | 3,5 | 3,8 | 4,4 | 4,7 | 6,8 | 7,9 |
| SVD (g/L) | 1,9 | 1,1 | 2,1 | 1,6 | 1,9 | 1,8 | 2,5 | 3,2 | 4,7 | 5,4 |
| SMD (g/L) | 2,6 | 2,8 | 2,0 | 2,0 | 1,6 | 2,1 | 1,9 | 2,4 | 2,1 | 2,5 |
| Amonio (mg/L) | 75 | 74 | 67 | 73 | 218 | 275 | 270 | 140 | 167 | 86 |
| Polifenoles (mg/L) | 4 | 4 | 8 | 5 | 8 | 6 | 8 | 8 | 20 | 19 |
| AGV (g/L) | - | - | - | - | - | - | - | - | 0,9 | 0,9 |
| % CH ₄ | 73 | 74 | 73 | 74 | 76 | 77 | 76 | 75 | 60 | 4 |
| % CO ₂ | 10 | 12 | 11 | 16 | 14 | 17 | 16 | 18 | 30 | 28 |
| % N ₂ | 14 | 13 | 11 | 8 | 9 | 5 | 8 | 6 | 10 | 14 |
| % O ₂ | 0,5 | 1,0 | 1,0 | 1,0 | 2,0 | 0,4 | 1,0 | 0,2 | 0,5 | 0,5 |
| % CH ₄ /% CO ₂ | 7,3 | 6,2 | 6,6 | 4,6 | 5,4 | 4,5 | 4,8 | 4,2 | 2,0 | 0,1 |
| VOL GAS (L) | 0,6 | 0,9 | 1,1 | 1,2 | 2,0 | 2,6 | 3,5 | 4,2 | 2,6 | 0,2 |

Tabla IV RESULTADOS DE LOS ACIDOS GRASOS VOLATILES
PARA LOS THR ENSAYADOS EN LA FASE ACIDOGENICA

| ACIDO (mg/L) | THR | | | | | | | | | |
|---------------|------|------|------|------|------|------|------|------|-----|-----|
| | 10 | 8 | 7 | 6 | 5 | 4 | 3 | 2 | 1,5 | 1,3 |
| Acético | 245 | 64 | 691 | 164 | 200 | 365 | 255 | 395 | 435 | 165 |
| Propiónico | 248 | 82 | 214 | 173 | 225 | 284 | 105 | 175 | 108 | 23 |
| Butírico | 3205 | 1689 | 3008 | 3068 | 2950 | 2391 | 2220 | 2035 | 265 | 350 |
| Isobutírico | 168 | - | 164 | - | - | - | 43 | - | 21 | 30 |
| Isopentanóico | - | - | - | - | - | 23 | - | - | - | - |
| Pentanóico | 172 | 210 | 197 | 82 | 70 | 63 | 210 | 142 | - | - |
| Isohexanóico | - | 74 | 119 | 442 | 100 | 75 | - | 210 | - | - |
| Hexanóico | 325 | - | 142 | 297 | 115 | 86 | 141 | 129 | - | - |
| Heptanóico | - | - | 334 | - | - | - | - | - | - | - |
| Total | 4363 | 2120 | 4535 | 4010 | 3660 | 3297 | 2974 | 2977 | 829 | 568 |

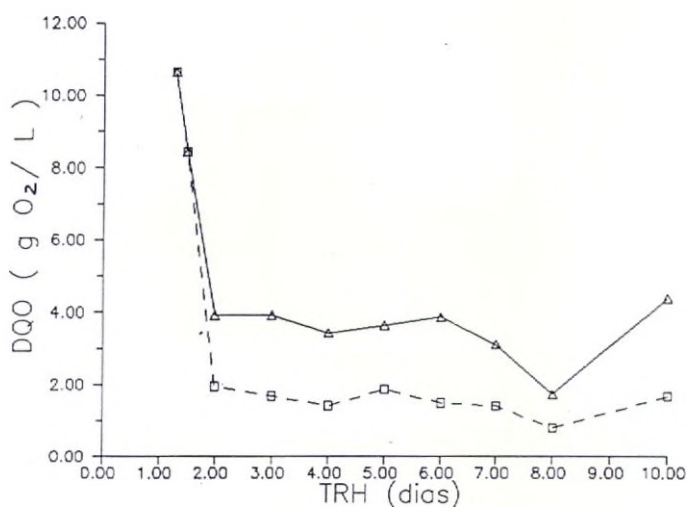


Figura 1 Evolucion de la DQO metagenico frente al tiempo de retencion hidraulico
DQO total
DQO soluble

b) Reactor metanogénico:

La concentración del efluente en DQO se estabiliza entre los TRH de 10 y 2 días en torno a 1.7 g/L. Para el TRH de 2 días sufre un brusco aumento pasando a 8.4 g/L, lo que es señal clara de desestabilización del sistema debido al lavado de la flora metanógena. Esta misma tendencia la manifiestan los demás parámetros. Así la producción de metano aumenta progresivamente hasta que en el mismo punto decrece bruscamente. La acidez volátil se mantiene despreciable en toda la experiencia y sólo empieza a aparecer en el TRH de 2 días, señal de que el digestor a empezado a acidificarse como consecuencia del lavado de los microorganismos metanogénicos.

A la vista de estos resultados, el TRH de 2 días aparece como el óptimo ya que conlleva un alto porcentaje de eliminación en torno al 90% para la DQO (figura 3) con una elevada producción de metano por gramo de DQO añadida ($0.30l$ de $CH_4/gDQO_5$).

5. CONCLUSIONES

Sobre la base de la discusión anterior y para un sistema en fase separadas se pueden deducir las siguientes conclusiones:

1. El rango termofílico, y en especial la separación de fases, se presenta muy adecuado para la depuración de vertidos de destilerías de alcohol de vino.

2. La flora acidogénica puede obtenerse a partir de la flora metanogénica combinando los controles cinéticos y de pH.

3. Los porcentajes óptimos de depuración son del 32% de la DQO en el primer reactor y del 81 para el segundo. Se obtiene un promedio del 80% de metano en el biogás, llegando a 2000 ml/l de digestor para el TRH de 2 días.

4. La separación de fases permite controlar la carga orgánica sobre el digestor metanogénico, evitando las posibles sobrecargas o inhibiciones, a la vez que ayuda a la formación del tampón regulador.

5. Del estudio de optimización se deduce que el TRH óptimo depende de las necesidades depurativas y del volumen de biogás deseado. En el sistema de fases separadas, el tiempo de retención de 2 días se muestra óptimo para ambos digestores.

BIBLIOGRAFIA

- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. "Standard Methods of examination of water and wastewater. 15th Ed. (1980).
- BORIES, A. "Fermentation methanique avec separation des phases acidogene appliquee aux traitement des effluents a forte charge polluant (destilleries)". Ann. tech. Agric. **29**, 509-528, (1980).
- BREURE, A.M. "Hydrolysis and acidogenic fermentation of protein and carbohydrates in anaerobic wastewater treatment". Thesis Doct. Lab. Microbiol. Amsterdam Univ. (1986).
- COHEN, A ZOETEMEYER, R.S. "Anaerobic digestion of glucose with separated acid

- production and methane formation" *Water Research*, **13**, 571-580, (1979).
- GOSH, S; KLASS, D.L. "Two phases anaerobic Digestion" *Process Biochem.* April, 1978.
 - GOSH, S; CONRAD, J.D. "Anaerobic Acidogenesis of wastewater sludge". *JWPCF*, **47**, (1975).
 - HANAKI, K. "Evaluation of effectiveness of two phases anaerobic digestion process degrading complex substrate". *Water Sci. Tech.* **19**, (1975).
 - IZA LOPEZ, J. "Control de reactores anaerobios: parámetros y procedimientos". IV Seminario de Degradación de Aguas Residuales, Valladolid, 1988.
 - LOPEZ, F. "Depuración de aguas residuales de destilerías de alcohol viníco". *Ingeniería Química*, **109**, 167-178, (1983).
 - ROMERO GARCIA, L.I. "Thermophilic anaerobic digestion of winery wastes (vinasse): Kinetics and process optimization". *Process Biochem.* Agosto (1988).
 - SALES MARQUEZ, D. "Determinación de la carga contaminante y naturaleza de los vertidos de destilerías de alcohol viníco". *Quim. Ind.* **28**, 234-240, 1982.

LA PODA DE LA VID DESPUES DE UNA GRANIZADA EN LA COMARCA LAGUNERA (MEXICO)

JOSE LUIS REYES CARRILO
M.A. Ingeniero Agrónomo(1)

En la Comarca Lagunera se han presentado granizos de regular a fuerte intensidad, que por su efecto destructor sobre el follaje, la fruta y en casos más graves sobre los sarmiento, son de especial cuidado por las consecuencias que ocasionan en el material productivo del año siguiente.

En la vida la poda de las partes más dañadas, con objeto de conservar la posición y fortaleza productiva de los brotes se contempla como una posibilidad de manejo correcto después de una granizada.

El objetivo de este trabajo fue evaluar los efectos de la poda después de una granizada severa en el mes de mayo (día 29) en los cultivares Bola dulce, Carignan, Salvador y Seibel.

La estimación del daño sufrido en los cultivares se realizó contando las hojas o partes de ellas que permanecieron sobre la parra, longitud de los brotes y subjetivamente el grado de daño.

La estimación del daño sufrido en los cultivares se realizó contando las hojas o partes de ellas que permanecieron sobre la parra, longitud de los brotes y subjetivamente el grado de daño.

En el mismo ciclo productivo, las plantas podadas mostraron una buena brotación en las yemas retenidas en la poda, pero Salvador y Boca dulce no exhibieron racimos, Carignan se recuperó ligeramente en cosecha y Seybel produjo menos al compararse con las plantas no podadas. La fruta maduró correctamente en todos los tratamientos y la producción de sarmiento se redujo en las plantas con poda.

En el año siguiente sólo la variedad Seibel produjo más al haber sido podada el ciclo

anterior, aunque su aumento fue muy ligero. Las restantes variedades redujeron la cantidad de uva cosechada. En los cultivares con aumento en cosecha la evaluación económica de la práctica no representa ventaja alguna.

Bajo las condiciones en que se realizó el presente trabajo y con los resultados obtenidos se concluye que no es conveniente podar después de una granizada de fines de primavera pues se disminuye la cosecha de uva y sarmiento el mismo ciclo, y, la cosecha del año siguiente.

(1) Intituto Nacional de Investigaciones Agrícolas. Campo Agrícolas Experimental La Laguna. Matamoros de la Laguna, Coahuila, México.



AMPELOGRAFIA DESCRIPTIVA DE LAS PRINCIPALES VARIETADES DE VID, CULTIVADAS EN LA DENOMINACION DE ORIGEN MONTILLA-MORILES

M.^a C. DUQUE MARTINEZ; F. PEREZ CAMACHO
Dpto. de Agranomía. Universidad de Córdoba
Avda. Menéndez Pidal, s/n

RESUMEN

Se han caracterizado los principales cultivares de vid de la Denominación de Origen Montilla-Moriles, 27 caracteres recomendados por la OIV, UPOV e IBPGR (1977). Estas variedades son: 'Airén', 'Baladí', 'Montepila' y 'Pedro Ximénez'.

De los 27 caracteres analizados, con dos de ellos, se puede separar en el campo, de "visu", estas cuatro variedades.

1. Introducción

La antigüedad del cultivo de la vid, ha originado numerosas variedades dentro de la especie vinífera. El número de variedades de *Vitis vinifera* L., de origen natural que se han registrado en el mundo es al menos de 5000 (TRUEL et al., 1980). VIALA en su Ampelografía (1905) da cuenta de la gran cantidad de sinónimos existentes, cuantificándolos en una media de más de cuatro por variedad. GALET (1980), incluye descripciones de 229 variedades de vinificación y de 175 de uvas de mesa, detectando más de 1500 sinónimos.

En España el panorama es bastante similar y aunque las principales variedades cultivadas (mencionadas por HIDALGO, 1988), no superan las 70, HIDALGO (1980), nombra 173 denominaciones diferentes, en función de sus características agronómicas.

Por ello, el estudio, descripción e identificación de cada una de ellas, debería ser un tema prioritario de investigación.

En España existen trabajos de ampelografía (descripción de *Vitis*) realizados por HIDALGO, con la colección de variedades del Encin (Madrid) y por GARCIA LUJAN, en Jerez. También se están realizando estudios parciales en diferentes zonas.

En el presente estudio, se describen morfológicamente las variedades 'Airén', 'Baladí', 'Montepila' y 'Pedro Ximénez'. Así mismo también se han seleccionado aquellos caracteres más adecuados para definir las y distinguir las.

2. Material y métodos

Este estudio se ha realizado, en la E.T.S.I.A., de Córdoba, estando el campo experimental ubicado en la Escuela de Capacitación Agraria de Cabra (Córdoba). La localidad de Cabra, pertenece a la Denominación de Origen Montilla-Moriles.

2.1. Material

Las variedades de *Vitis vinifera*, L., sobre las que se centró este estudio de caracterización, fueron: 'Airén', 'Baladí', 'Montepila' y 'Pedro Ximénez'. Las cepas se plantaron en 1980 y se injertaron en 1982. El injerto efectuado ha sido de púa por hendidura y el patrón utilizado 41-B. Las cepas se podaron en cabeza a la ciega.

2.2. Diseño experimental

La descripción y caracterización de éstas variedades se realizó en función de los caracteres recomendados por la OIV, UPOV e IBPGR (1977), todos ellos organismos internacionales implicados en la descripción de *Vitis*.

De todos los caracteres analizados, se seleccionaron los más adecuados para describirlas, según los criterios de objetividad, no fluctuación y estabilidad, y para distinguir las, también se incluyó el criterio de discriminación.

El diseño experimental fue de parcelas al azar, con 10 repeticiones en foliación y floración, 20 en la época entre el cuajado y el envero y 14 en la maduración. Los datos se tomaron durante dos años consecutivos, 1987 y 1988.

2.3. Toma de datos

Los caracteres muestreados se agrupan según si se tomaron en estas cuatro épocas:

–foliación, sobre pámpanos o brotes jóvenes de 10 a 15 cm. de longitud.

–floración, cuando se caen los capuchones florales.

–entre el cuajado y el envero, en esta etapa el ovario fecundado ha comenzado a aumentar de tamaño y las bayas empiezan a colorearse en el caso de las tintas y en las blancas el color pasa a ser transparente.

–maduración, coincidiendo con la plena maduración, esto es, unos días antes de la vendimia.

Se estudiaron un total de 27 caracteres, que se distribuyen de la siguiente forma:

–4 en foliación, sobre la extremidad de brotes jóvenes.

–6 en floración, 4 sobre el pámpano, 1 en los zarcillos y 1 en la inflorescencia.

–11 entre el cuajado y envero, todos ellos se muestrearon en hojas adultas.

–6 caracteres en maduración, 1 sobre racimos maduros y 5 en bayas maduras.

3. Resultados y discusión

3.1. Foliación

Los caracteres estudiados en estas variedades fueron:

–forma de la extremidad.

- densidad de pelos tumbados en la extremidad de brotes jóvenes.
- distribución de la pigmentación antociánica en los brotes.
- intensidad de la pigmentación en la extremidad.

En todas ellas la forma de la extremidad fue abierta.

La var. 'Baladí, presentó una extremidad vellosa y de pigmentación color carmesí y ribeteada, en cambio en 'Pedro Ximénez' no se observó pelosidad, ni coloración carmesí en la extremidad.

3.2. Floración

Los caracteres analizados fueron:

- porte del pámpano.
- color de los entrenudos del pámpano.
- densidad de los pelos erguidos de los nudos.
- densidad de los pelos erguidos de los entrenudos.

La variedad 'Airén', mostró porte horizontal mientras que en las otras tres fue semierguido.

El color de los entrenudos del pámpano fue verde con rayas rojas longitudinales en todas ellas, salvo en la variedad 'Baladí', que se mostró enteramente verde (sin rayas).

La densidad de los pelos erguidos, tanto en los nudos como en los entrenudos, fue nula o muy débil.

Los zarcillos se distribuyeron de forma discontinua y las inflorescencia fueron hermafroditas.

3.3. Entre el cuajado y el envero

Los caracteres muestreados fueron:

- forma del limbo.
- pigmentación antociánica de los nervios principales del haz.
- densidad de los pelos tumbados sobre los nervios principales de la hoja adulta.
- densidad de los pelos tumbados entre los nervios principales de la hoja adulta.
- densidad de los pelos erguidos sobre los nervios principales de la hoja adulta.
- densidad de los pelos erguidos entre los nervios principales de la hoja adulta.
- densidad de los pelos tumbados en el peciolo.
- dientes más frecuentes en las hojas adultas.
- hinchazón del haz en hojas adultas.
- forma de la base del seno peciolar.
- particularidades del seno peciolar de hojas adultas.

En general, la forma del limbo fue pentagonal y los nervios principales del haz, no pigmentados.

En estas variedades, se puede observar una gradación en cuanto a la pelosidad del envés de las hojas adultas. Así 'Pedro Ximénez', presentó hojas lampiñas, 'Montepila', con pelos erguidos sobre los nervios y las variedades 'Baladí' y 'Airén', presentaron una mayor densidad de pelos tumbados (Clave 1). Esta falta de pelosidad de la var. 'Pedro Ximénez', coincide con los resultados obtenidos por MARCILLA (1954). En todas ellas, el peciolo fue practicamente lampiño.

En el haz de las hojas adultas de la variedad 'Baladí', se observó una mayor frecuencia de dientes rectilíneos, en cambio en 'Montepila' los más frecuentes fueron los de lados convexos.

Las hojas de 'Pedro Ximénez', se mostraron planas, en cambio en las restantes variedades el haz presentó un hinchazón medio.

En todas ellas, la forma de la base del seno peciolar fue en "uve".

Las hojas de la variedad 'Baladí', presentaron con bastante frecuencia un diente sobre el borde del seno peciolar (Clave 1).

3.4. Maduración

Los caracteres estudiados fueron:

- forma de la baya.
- color de la epidermis de la baya.
- color de la pulpa.
- presencia de pepitas.
- pepitas con estrías transversales.

La var. 'Montepila', presentó unos racimos más compactos que las restantes.

La forma de la baya fue esférica en general, salvo en la var. 'Montepila', que se mostró aplastada.

En las cuatro el color del hollejo y de la pulpa fue verde (variedades blancas).

La pulpa en todas ellas presentó pepitas bien desarrolladas, que además tenían estrías transversales.

4. Conclusiones

A la vista de los resultados obtenidos se puede concluir que de los 27 caracteres estudiados, con dos se pudieron separar en el campo estas variedades. Estos caracteres fueron:

- pelosidad del envés de la hoja adulta.
- particularidades del seno peciolar en la hoja adulta.

Así las hojas de enveses lampiños pertenecían a la variedad 'Pedro Ximénez', enveses acerdados a 'Montepila', y pelosas, según si tenían un diente sobre el borde del seno peciolar era 'Baladí', o en el caso contrario eran hojas de 'Airén'.

CLAVES PARA LA DIFERENCIACION DE LAS VARIEDADES DE VID AIREN, BALADI, MONTEPILA Y PEDRO XIMENEZ

HOJAS DE ENVESES:

- lampiños..... Pedro Ximénez
- acerdados Montepila
- lanosos
- * con diente sobre el borde del seno peciolar..... Baladí
- * de borde liso (sin diente)..... Airén

REFERENCIAS

- GALET, P. 1980. A practical ampelography. Grapevine identification. Cornell University Press Ltd. London. 248 pp.
- HIDALGO, L. 1980. Segunda comunicación sobre caracterización agronómica de var. de *Vitis vinifera* L. An. INIA/Ser. Prod. Veg/N 12. Madrid. 192-267 pp.
- HIDALGO, L. 1988. Enciclopedia del vino, cata y enología. Cuadernos de ampelografía. Ediciones Orbis. Barcelona. 5 Vols.
- MARCILLA ARRAZOLA, J. 1954. Tratado práctico de viticultura y enología españolas. Editorial S.A.E.T.A. Madrid. Tomo I. 375 pp.
- OIV, UPOV e IBPGR. 1977. Code des caractères descriptifs des variétés et espèces de *Vitis*. Office International de la Vigne et du Vin. Paris. 140 pp.
- TRUEL, P., C. RENNES y P. DOMERGUE. 1980. Identifications in collections of grapevines. Proceedings of the third international symposium on grape breeding. Department of Viticulture and Enology University of California. Davis. 78-86 pp.
- VIALA, P. y V. VERMOREL. 1905. Amélographie. Masson. Paris. 7 vols.

**PROYECTO DE RECONVERSION VARIETAL EN VID PARA EL
DEPARTAMENTO DE TINOGASTA. PROVINCIA DE CATAMARCA.**

**PROYECTO DE RECONVERSION VARIETAL EN VID PARA EL
DEPARTAMENTO DE TINOGASTA. PROVINCIA DE CATAMARCA.
REPUBLICA DE ARGENTINA.**

**CAPACITACION EN LA TECNICA DEL INJERTO EN "T" LEÑOSO
COMO UN MEDIO PARA CAMBIAR LA VARIEDAD**

CASAS, JORGE AUGUSTO

Agencia de Extensión Rural. 25 de Mayo, 4 C.O. n.º 23
5340 Tinogasta, Catamarca (Argentina)

DURACION

2 años, desde Agosto de 1988 hasta Agosto de 1990.

SITUACION INICIAL

- 900 productores viñateros cultivan vid en superficies de 0'25 a 5 Ha. y representan el 93% del total de las Unidades productivas con viñedos.
- El 100% tiene cepas de uva cereza con rendimientos promedios de 8.000 kg/Ha.
- No tienen experiencia de organización para la defensa de sus intereses en la comercialización y adquisición de mínimos a mejores precios.
- Proceso de abandono de la viña, buscan refugio en el empleo público o emigran fuera del Departamento.
- El precio de la uva cereza (consumo en fresco y pasas) es inferior tres veces, como mínimo, al precio de las nuevas variedades propuestas, según precios de la vendimia de Marzo de 1988.

SITUACION FINAL

- Mejorar la situación socio-económica del pequeño productor viñatero del Departa-

mento Tinogasta.

- Al cabo de dos años 184 pequeños productores cambiaron parte de su viñedo por las nuevas variedades propuestas.
- 60 Ha. injertadas en "T" leñoso con variedades selectas para consumo en fresco y pasas.
- Rendimiento promedio de 14.000 Kg/Ha en la superficie injertada.
- Precio del nuevo producto como mínimo tres veces superior al de la uva cereza.
- Capacitación de los beneficiarios en el injerto, como un medio para cambiar la variedad.
- 4 grupos de pequeños productores minifundistas organizados para comercializar el nuevo producto y adquirir insumos y bienes de equipamiento a menores precios.

**PROYECTO DE RECONVERSION VARIETAL EN "T" leñoso como
PEQUEÑOS PRODUCTORES VIÑATEROS MINIFUNDISTAS DEL
DEPARTAMENTO TINOGASTA. PROVINCIA DE CATAMARCA.
REPUBLICA ARGENTINA**

**Capacitación en la técnica del injerto en "T" leñoso como
un medio para cambiar la variedad.**

Casas Jorge A.; Mamani Ramón E.; Prativiera Antonio G.; De Dios Ruben; Beltramo Sergio; Saker José; Zaffanella Marino; Matias Cesar A.; Chiesa Saúl R.; Cuello Luis A.; Moreno Carlos; Galvan; Murad José.

Instituciones participantes - Gubernamentales:

Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria; Ministerio de Salud y Acción Social de la Nación; Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura y Subsecretaría de Asuntos Rurales Catamarca.

No Gubernamentales:

Instituto de Cultura Popular; Instituto de Desarrollo Social y Promoción Humana y Fundación para el Desarrollo en Justicia y Paz.

Unidad Ejecutora:

Servicio Coordinado de Extensión Rural (A.E.R. - I.N.T.A. - Tinogasta y Agronomías de Zonas Tinogasta y Fiambalá).

Dirección:

Agencia de Extensión Rural - I.N.T.A.-
Sarmiento esquina Copiapó
5340 - Tinogasta - (Catamarca)
ARGENTINA

Duración:

Inicia Agosto de 1988. Finaliza Agosto 1990.

1.- RESUMEN

En esta comunicación se presenta el trabajo de extensión agraria en el tema reconversión de viñedos en el Departamento Tinogasta, mediante injertos en "T" leñoso, llevado a cabo por el Servicio Coordinado de Extensión Rural (I.N.T.A. - Provincia de Catamarca - ARGENTINA). Consiste en una introducción en la zona de una colección de 18 híbridos apirénicos de la Creación Cargiulo de múltiples propósitos (consumo en fresco, pasas y vinos finos). Difusión de este material (estacas) mediante injertos en "T" leñoso sobre pie de cereza en fincas de productores y en todas las localidades viñateras del Departamento, transformándose en parcelas demostrativas de observación. Evaluación por parte de técnicos y productores de la adaptación y comportamiento en la zona del nuevo material introducido como así también la práctica y viabilidad de la técnica del injerto para adoptarlo el productor como posible y emprender la reconversión de su viñedo de la variedad cereza por otras de mejores perspectivas de mercado.

2.- INTRODUCCION

La injertación tiene múltiples aplicaciones en viticultura: implantación de viñedos sobre portainjertos resistentes a filoxera, a nematodos, a distintos tipos de suelos y climas, intercalación de polinizadoras, multiplicación acelerada de material escaso, cambio de cultivares, etc.

Si bien todas estas prácticas son utilizadas para solucionar problemas de nuestra viticultura, el cambio de cepajes adquiere entre nosotros singular importancia. En los últimos años se han difundido principalmente variedades como las criollas y cerezas, que se destacan por su productividad pero por sus características enológicas dan vinos de inferior calidad.

La producción vitícola en Argentina se desarrolla en clima cálido - árido bajo riego, totalizando una superficie implantada con viñedos alrededor de las 275.000 hectáreas. Se obtienen promedios de 32 a 34 millones de quintales de uva, de los cuales se elaboran entre 24 a 26 millones de hectólitros anuales de vino.

El 98% de la producción de uvas del país se destina a la vinificación y de este porcentaje un 90% corresponde a vinos comunes de consumo corriente, por lo tanto la diversificación del uso de la uva en momentos como los actuales, surgen con una importancia manifiesta. El cambio de cepajes, mediante injertos en "T" leñoso, por nuevos cultivares que se adapten a las particulares condiciones ecológicas de cada zona y al mismo tiempo a los requerimientos del mercado, constituye el lógico camino a seguir para la racionalización de la viticultura nacional. Canalizar parte de la producción a consumo en fresco y desecado para elaboración de pasas, sólo puede lograrse con variedades de calidad adecuada sin semilla y de un rendimiento tal que lo hagan económico, no solo en cuanto al consumo interno sino también para exportar con precios que pueden competir ventajosamente con los otros países vitícolas.

La superficie implantada con viñedos en la Provincia de Catamarca es alrededor de las 3.500 Has., siendo uno de los cultivos permanentes en el área irrigada más importante por su extensión. De este total el Departamento Tinogasta cuenta con 2.500 hectáreas

siendo zona de monocultivo de la vid. Goza de condiciones ecológicas favorables para la evolución del cultivo (frío invernal, baja humedad relativa ambiente, alta luminosidad, escasas precipitaciones y marcada amplitud térmica).

Los aspectos más destacados de la *Situación Inicial* que conducen a la *acción* mediante el proyecto son los siguientes:

- Zona marginal, en julio de 1987 el Poder Ejecutivo Nacional declaró por Ley al Departamento Tinogasta *Area de Frontera*.
- Exodo de los Cuadros jóvenes en edad activa. El 50% de la población potencial emigró del Departamento.
- Subdivisión de la propiedad debido a un proceso de atomización inter-generacional de las parcelas, reduciendo a un verdadero minifundio los predios con derecho a riego existentes.
- 970 productores abocados al rubro vid. De este total 900 cultivan vid en superficies de 0'25 a 5 Has. Este estrato bien caracterizado corresponde a los pequeños productores viñateros minifundistas.
- El 100% tienen cepas de uva cereza con lo cual obtienen un producto de baja calidad y un rendimiento promedio de 8.000 Kg/Ha.
- El precio de la uva cereza (consumo en fresco y pasas), es inferior tres veces, como mínimo, al precio de las nuevas variedades ya probadas y propuestas para el cambio mediante injertos, según precios de la vendimia de marzo en 1988.
- Se propone el cambio dentro de las estructuras fijas existentes (espaldera y parral).
- Estos pequeños productores no tienen experiencia para la defensa de sus intereses en la comercialización y adquisición de insumos a mejores precios. Se encuentran atomizados.
- De persistir esta situación abandonarían el viñedo, buscando refugio en el empleo público o emigrarían del Departamento.

3.- MATERIAL Y METODOS (Técnica de la Injertación)

3.1.- Conservación de estacas

En los meses de julio y agosto, con la poda de la vid se cortan las estacas de la variedad elegida para injertar, se sumergen en un recipiente con una solución de mezclas de fungicidas (Bayleton + Captan + Ronilan), durante 15 minutos y se estratifican en cajones en camadas con arena (medidas internas 55 cm. x 27 cm. x 20 cm.). De igual manera se pueden conservar yemas para disminuir las necesidades de capacidad frigorífica. Otra alternativa es estratificar las estacas en cajón de madera con aserrín húmedo, bañándose previamente en la solución con mezclas de fungicidas y tapando finalmente el cajón con maderas para que no se dishidraten las estacas. En el primer caso se agrega en el cajón arena seca para que no queden sectores sin rellenar y luego se riegan humedeciéndolas bien a las estacas. El exceso de agua escurre por el pequeño espacio entre las maderas de la base del cajón. La capacidad de cada cajón es, aproximadamente, de 100 estacas gruesas, 120 medianas y 150 finas, lo que equivale a unas 500 a 750 yemas. En un cajón de las medidas antes descritas, pueden conservarse 3.000 yemas previamente extraídas. Los cajones con estacas o yemas se mantienen en cámara frigorífica a una temperatura alrede-

dor de 2 °C para que no broten hasta el momento de la injertación en nuestra zona mes octubre.

3.2.- Injertación

Si bien el prendimiento es prácticamente total cuando se injerta en noviembre y diciembre, lo aconsejable es realizar esta práctica lo más temprano posible para permitir una mejor maduración de los sarmientos. El momento más adecuado para comenzar es cuando se puede desprender la corteza del patrón con facilidad, lo que sucede durante la floración de aquel o un poco antes de este período. En Tinogasta mes octubre. Esta operación es sencilla: saca el escudete leñoso mediante dos cortes: el primero en sentido contrario a la dirección de la yema, comenzando a unos 2'5 cm. sobre la misma y terminándolo a 2'5 cm. de ella. El segundo se hace en el mismo sentido que el primero, comenzando a 1 cm. debajo de la yema y profundizando oblicuamente hasta encontrar el primer corte, separándose así el escudete leñoso (figs. 1, 2, 3 y 4). Luego se realizan en el patrón las dos incisiones en forma de "T"; se levanta la corteza (fig. 5) y se introduce el escudete leñoso debajo de la misma (fig. 6). La herramienta utilizada es la navaja de injertar con espátula de metal. La atadura se hace con una cinta de material plástico, comenzando desde la parte inferior de la "T" (fig. 7) y terminando en la superior (fig. 8). Es importante realizar el nudo encima de la yema, luego de haber dado dos o más vueltas en ese lugar. Si se produce un callo de cicatrización muy voluminoso (fig. 9), puede resultar insuficiente la elasticidad de la banda de plástico y provocar así estrangulaciones e inclusive incrustarse. Procediendo con la atadura del modo antes indicado, puede cortarse el plástico en la zona inferior a la yema, manteniéndose sujeto el injerto con la atadura que se halla sobre la misma, la que no cederá debido a la ubicación del nudo.

La ubicación de los injertos depende de la formación que se desee dar a la planta. Esta es otra ventaja, ya que podemos ubicar los futuros cargadores y pitones en el lugar deseado y, como consecuencia, los brazos de la planta se formarán también a la altura que se prefiera. Este injerto puede realizarse con el mismo éxito en madera de un año, o en troncos de muchos años y gran diámetro, pero deben preferirse, de ser posible, las plantas o los brazos de diámetros no muy grandes, por los inconvenientes que pueden traer en el futuro los cortes de mayores dimensiones, con sus zonas necrosadas por deficiencias circulatorias.

Inmediatamente después de realizados los injertos (2, 4 ó 6 por planta, de acuerdo con su vigor y desarrollo), se elimina la parte superior del patrón que se halla por encima del injerto más alto y todos los brotes que existan sobre las planta. Cuando se injerta sobre madera de un año, el corte se realiza un nudo más arriba del injerto eliminándose la yema de dicho nudo. Cuando se injerta sobre brazos de más edad o sobre el tronco, se cortan éstos unos 10 cm. por encima del injerto más alto en forma oblicua.

A los pocos días de esta operación, comenzarán a brotar las yemas injertadas y también las yemas latentes del patrón que dan origen a chupones. Estos últimos deben ser eliminados a medida que aparecen, pues de lo contrario competirán con los injertos disminuyendo su desarrollo o aún inhibiendo su brotación. La yema brota con la humedad que encuentra bajo la corteza del pie y una vez que el brote tiene cierta longitud, comienza a formar un callo cicatrizal en su base, produciéndose la soldadura del injerto.



Fig. 1: Extracción del escudete leñoso.
Primer corte.



Fig. 2: Extracción del escudete leñoso.
Segundo corte.



Fig. 3: Vista de la
cara superior
del escudete
leñoso.



Fig. 4: Vista lateral
de la cara
inferior del
escudete leñoso.



Fig. 5: Desprendimiento de la corteza luego de efectuar las dos incisiones en forma de "T".



Fig. 6: Colocación del escudete leñoso debajo de la corteza del "patrón".



Fig. 7: Atadura. Comienzo desde la parte inferior de la incisión.



Fig. 8: Finalización de la atadura. Último nudo realizado sobre la yema.



Fig. 9:

3.3.- Relación de variedades probadas y aceptadas para la reconversión varietal.

Debido al trabajo previo comentado anteriormente desde el año 1972, se define en el año 1987 el grupo de variedades recomendadas para llevar adelante la reconversión de la variedad cereza mediante injertos, siendo según destinos las siguientes:

CONSUMO EN FRESCO

- C.G. 90412 - Alba - Cruzamiento de Molinera Gorda × Cardinal - (con semillas) - color de baya blanco-amarillento - primicia. Cosecha desde el 15/12 al 15/01.
- C.G. 89878 - PERLON - Cruzamiento de Emperador × Perlette - (sin semillas) - color de la baya rosado intenso - primicia. Cosecha desde el 15/12 al 15/01.
- Cardinal - (con semillas) - color de baya rosado intenso - primicia. Cosecha desde 15/12 al 15/01.
- C.G. 102011 - Cruzamiento de C.G. 2200 × C.G. 4320 - (sin semillas) - C.G. 2200 (Moscatel Rosado × Atómica) - C.G. 4320 (Cardinal × Sultanina) - color de baya rosado - estación - Cosecha febrero-marzo.
- Dattier de Beyrouth - (con semilla) - color de baya blanca-verdoso - estación - Cosecha febrero-marzo.
- C.G. 28467 - EMPERATRIZ - Cruzamiento de Emperador × Sultanina - (sin semillas) - color de baya rosado intenso - tardía - Cosecha mes abril.

PASAS

- C.G. 351 - ARIZUL - Cruzamiento de Gibi × Sultanina - (sin semilla) - color de baya amarillo-dorada. Cosecha marzo.
- C.G. 102011 - Cosecha marzo.
- C.G. 33716 - NEVADO - Cruzamiento de Dattier de Beyrouth × Sultanina - (sin semilla) - color de baya amarillo oro intenso. Cosecha marzo.
- Sultanina - (sin semillas) - Cosecha marzo.

VINOS FINOS

- C.G. 38049 - RIESLINA - Cruzamiento de Riesling Renano × C.G. 377 (Gibi × Sultanina) - (sin semillas) - color de baya amarillo-dorada - destino vinos blancos. Cosecha marzo.
- Torrontés Riojano - (con semillas) - color de baya amarillo dorada - destino vinos blancos. Cosecha febrero - marzo.
- C.G. 14892 - CABERINTA - Cruzamiento de Gibi × Rubi Cabernet - (con semillas) - color de baya negra - destino vinos tintos. Cosecha marzo.

4.- CONSIDERACIONES FINALES

Lo que se pretende con el desarrollo de este proyecto es lo siguiente:

- Mejorar la situación socio-económica del pequeño productor viñatero del Departamento Tinogasta a través de un incremento en su nivel de ingresos y elevación del nivel de vida.
- Capacitación de los productores en la técnica del injerto en "T" leñoso, como un medio para cambiar la variedad.
- Cuatro grupos de pequeños productores minifundistas organizados para comercializar el nuevo producto y adquirir insumos y bienes de equipamiento a menores precios.

Manejo racional de los recursos e insumos.

- Al cabo de dos años 184 pequeños productores cambiaron parte de su viñedo por las nuevas variedades propuestas.
- Precio del nuevo producto obtenido, como mínimo tres veces superior al de la uva cereza.
- 60 hectáreas injertadas en "T" leñoso con variedades selectas para consumo en fresco y pasas, sobre pie de cereza.
- Se eleva el rendimiento promedio a 14.000 Kg/Ha. en la superficie injertada.

5.- LOGROS OBTENIDOS

- Desde los años 72 al 87 se cambió la variedad en una superficie de 16 hectáreas en todo el Departamento, definiendo el panorama varietal para reconvertir la cereza. En el primer año de ejecución del proyecto - (año 88) - se cambiaron 22 hectáreas de cereza por nuevas variedades beneficiando en forma directa a 70 familias de pequeños productores minifundistas. Productores medianos y grandes cambiaron la variedad en una superficie de 40 hectáreas fuera de proyecto. Total superficie cambio varietal año 88 en todo el Departamento -62 hectáreas-.
- Debido a la capacitación permanente en la práctica del injerto en "T" leñoso, se incrementó de injertadores en la zona en estos últimos tres años (86/87/88) de 8 a 30. De esta manera se cuenta con recursos humanos locales para llevar adelante en forma agresiva la reconversión de los viñedos.
- Se integraron cuatro grupos de pequeños productores en las localidades de: Anillaco, Fiambalá, Saujil y Medanitos, generando un rico trabajo grupal, con el objeto que a los dos años cuando entren en producción las viñas injertadas, los grupos estén organizados para integrar los volúmenes individuales, elaborar las pasas sin semillas en la zona dándole valor agregado, comercializar mejor el nuevo producto y adquirir insumos y bienes de equipamiento a precios más favorables.

6.- BIBLIOGRAFIA

- GARGIULO ANGEL A. "Cartilla del Injerto en "T" Leñoso". E.E.A. - Rama Caída - I.N.T.A. - San Rafael - Mendoza - Argentina. (1976).
- Boletín Informativo Oficial del Instituto Nacional de Vitivinicultura. Tema: Variedades de uvas Argentinas. (1982).

7.- AGRADECIMIENTOS

- Al Ingeniero Agrónomo Gargiulo Angel A., por haber proporcionado el material de su creación (plantas y estacas) para la reconversión varietal.
- A los productores viñateros del Departamento Tinogasta - Catamarca - Argentina - por colaborar con sus viñedos en todas las experiencias que se ejecutaron.

LA ENOLOGIA EN BRASIL, PRESENTE Y FUTURO

Lcdo. LUCINDO COPAT
Director Técnico Vinhos Soltos, S.A.
B. González. Brasil

1. Pequeño resumen histórico de la Viticultura en Brasil

Aunque se tengan noticias de viñas traídas por nuestros descubridores portugueses en 1500, la viticultura brasileña nace en realidad con la llegada de los primeros emigrantes, principalmente de origen italiano, a finales del siglo XIX.

De una viticultura casera y de una enología artesanal de pura subsistencia, estos italianos profesionalizaron el monocultivo de la vid, siguiendo lo que tenían como herencia de sus orígenes y en su constitución genética acostumbrada al hábito de consumir vino.

Los emigrantes italianos, fueron y siguen siendo, los que más difundieron el cultivo de la vid. Provenientes casi exclusivamente del norte de Italia (Véneto, Piamonte, Tirol, etc.) se localizaron parte en el sur de Brasil, en la provincia de Río Grande del Sur, y es allí donde se concentra la mayor extensión de viñedos.

Brasil está dividido en estados federativos (Provincias) y la viticultura se hace presente en algunos de ellos (Figura 1).

Brasil posee aproximadamente sesenta y cinco mil hectáreas de viñedo, estando en la actualidad en el puesto 16.º del ranking mundial en la producción de vinos. En la tabla 1.1. se recoge la distribución de la viticultura por provincias:

Tabla 1.1. Distribución de la viticultura

| | |
|--------------------------|------------|
| Río Grande del Sur | 33.000 Ha. |
| Santa Catarina | 6.000 Ha. |
| Paraná | 2.000 Ha. |

| | |
|--------------------|------------|
| Sao Paulo..... | 10.000 Ha. |
| Minas Gerais | 800 Ha. |
| Pernambuco..... | 1.200 Ha. |
| Otros | 12.000 Ha. |
| | 65.000 Ha. |

Estas hectáreas de viñedo son constantemente modificadas debido a la implantación de nuevas áreas en diversos puntos de la gran extensión territorial del país dotado de diversidad de climas y microlimas. En realidad, los nuevos viñedos que surgen son casi en su totalidad de uvas de mesa, para consumo in natura consumida internamente o exportada.

En Río Grande del Sur la cosecha de 1989 fue de 378.554.655 kg (23% menos que en 1988), siendo que el 85% de la uva cosechada se destina a la elaboración de vinos constituyendo el 90.2% del vino elaborado en Brasil.

En las restantes provincias el porcentaje de uva vinificada cae enormemente ya que la viticultura está orientada precisamente para la producción de uvas de mesa.

Como podemos ver, la vitivinicultura en Brasil está concentrada en el Sur, donde podemos distinguir dos principales polos, uno en la Encuesta Superior del Nordeste, localizada a 29°15' de latitud Sur y 51°31' de longitud Oeste, en área de altitud media de 670 m. Los suelos son levemente ácidos con saturación de base alta, de fósforo bajo y de potasio elevado. El relieve está accidentado, lo que torna los suelos sensibles a la erosión y difíciles de mecanizar.

La temperatura media anual de la región vitícola es de 17°C, la temperatura máxima absoluta está entre 32 y 37°C y ocurre en los meses de diciembre, enero y febrero (época de cosecha). La temperatura mínima absoluta es de 7°C y ocurre en los meses de julio y agosto. La precipitación pluviométrica media es de 1655 mm con frecuencia media de 120 días por año. La humedad media del aire es del 77% y la insolación media de 2.200 horas.

La otra región vitícola que se destaca en Río Grande del Sur, es la región fronteriza con Uruguay, localizada en el paralelo 31 de latitud sur. Es de relieve poco accidentado, ondulado con posibilidad de mecanización. Suelos drenados con material originario arenítico con posibilidad de erosión incluso eólica.

Temperatura máxima absoluta de 36°C y la mínima de 2.7°C. Humedad relativa media del 62%. Precipitaciones escasas en los meses de enero y febrero (meses de la cosecha) y elevada en los meses de julio a septiembre.

2. Características y variedades de las uvas más cultivadas

En Río Grande del Sur la propiedad media es de 16.85 Ha, cultivando cada productor una media 1.82 Ha de viñedo con tipo de producción familiar. En Brasil se dedican a esta actividad unas 230 mil personas.

Río Grande del Sur posee 480 industrias vinícolas, siendo éstas: cooperativas (que elaboran el 40% de la producción), grandes empresas multinacionales, Sociedades anónimas y empresas familiares.

Son explotadas 50 variedades de uva con fines económicos, predominando las híbridas y americanas (Isabel, Herbemont, Bordô, Niágara, Concord, Seibel, etc.) son aproxi-

madamente el 75% sobre el total de uva utilizada.

Entre las uvas blancas vinificadas están: Saint Emilion, Moscatel, Riesling Itálico, Riesling Renano, Chardonnay, Gewurztraminer, Silvaner, etc.).

Entre las variedades tintas viníferas: Carbenet Franc, Carbenet Sauvignon, Merlot, Barberas, Pinot Noir, etc.

3. Filosofía del trabajo enológico y equipamientos de bodega

Debido a la deficiencia de la materia prima, las bodegas se adaptan con equipamientos lo más tecnológico posible intentando extraer lo máximo de la potencialidad de la uva, obteniendo vinos que no sólo tengan color, sabor y aroma de vinos de calidad sino también tengan la máxima durabilidad en el tiempo.

Para el caso de los vinos blancos, la tecnología de elaboración utilizada es la de la **reducción** o sea que el mosto-vino desde el recibimiento de la uva hasta la botella se procura tenga la mínima incorporación de oxígeno posible, para ello se conserva el gas carbónico de la fermentación. Muchas veces someten los vinos blancos a insuflación de nitrógeno y gas carbónico para reducir la cantidad de oxígeno incorporado por defecto en el tratamiento.

Aunque las bodegas poseen gran cantidad de toneles de madera (Pinos Brasiliensis) con capacidad de hasta 130 mil litros, estos apenas son utilizados para la conservación de los vinos comunes (elaborados de uvas híbridas y americanas). Para los vinos finos son utilizados masivamente los toneles de acero inoxidable; desde la fermentación hasta la conservación a baja temperatura.

4. Elaboración de vinos blancos.

Los equipos para la elaboración de vinos blancos son los más variados, dependiendo de la tecnología de cada bodega, pero se utilizan molidoras descobajadoras con rodillos de goma, escurridores con tornillos sinfín de gran diámetro, prensas horizontales de platos móviles, prensas de membranas y escurridores verticales tipo surafricano. Las uvas son cosechadas y transportadas a la bodega en cajas plásticas con capacidad de 18-20 kg cada una.

4.1. Desfangado

Es realizado siempre, y lo podemos dividir en:

Dinámicos: Centrífugas y decantadores Filtración.

Estáticos: Frío, Enzimas, Bentonita, PVPP, Dióxido de Silicio y Gelatina.

Conjugados

Se tiene muy en cuenta, que el mosto que va a fermentar está limpio con baja cantidad de sólidos insolubles lo que es importante para nuestras condiciones de variedad, higiene y madurez y para la obtención de aromas de fermentación.

4.2. Anhídrido Sulfuroso

Debido a la gran facilidad de limpieza de los equipos y tanques de acero, el frío de las bodegas y al bajo pH del mosto (entre 2.8 y 3.0) no es indispensable la utilización de anhídrido sulfuroso en la fermentación, y como mucho se utiliza 50 mg/L. Naturalmente para la fermentación existe la relación directa para la aplicación de fermentos seleccionados: secos activos o en forma de pie de cuba en cantidad de hasta el 10% del volumen total y en una proporción aproximada de 100 millones de células por mililitro.

El técnico tendrá muy en cuenta el que la formación de acetaldehído, que está relacionada con la cantidad de sulfuroso añadido y con la cepa de levadura utilizada, sea mínima.

Es sabido de todos, los problemas de combinación que conlleva el anhídrido sulfuroso cuando estamos fermentando sobre todo a bajas temperaturas.

Terminada la fermentación a temperaturas que no sobrepasan los 20°C estos vinos son conservados limpio a bajas temperaturas.

4.3. Objetivo final

Estos vinos blancos, vinificados con esta tecnología se presentan con baja cantidad de extracto seco, o sea que son vinos leves muy afrutados, que se tornan maduros para la venta poco tiempo después de terminada la fermentación y normalmente son consumidos antes del término del año.

4.4. Características químicas

| | |
|--|-----------------|
| Alcohol | 10 - 12.5° GL |
| Acidez Total..... | 68 - 90 meq. |
| Acidez Volátil | 3 - 8 meq. |
| pH | 2.8 - 3.2 |
| Extracto Seco | 16 - 18 g/L |
| Alcohol/Extracto Seco reducido | 6.0 - 6.7 |
| Anhídrido Sulfuroso (en botella)..... | 100 - 200 mg/L |
| Anhídrido Carbónico (en botella) | 400 - 1000 mg/L |

5. Elaboración de vinos Tintos

Con algunas excepciones, donde se intenta elaborar vinos dirigidos al envejecimiento en toneles de roble (americano y europeo) los vinos tintos son vinificados a fin de ser comercializados antes de los dos años, o sea que son vinos de primicia; y podemos dar las razones de este hecho:

- Condiciones de la uva y variedad.
- Falta de toneles de calidad.
- Altos costos y mercado consumidor.

Podemos distinguir dos métodos de elaboración especialmente utilizados:

A. Elaboración clásica.

B. Termomaceración:

- Baja temperatura.
- Alta temperatura.

En la fermentación clásica la vendimia encubada recibe movimiento suave durante la maceración a fin de que la extracción de taninos sea mínima, y el descube se realiza por curva colorimétrica detectando el momento en el que el color alcanza su máximo. Se trabaja a 28° C y dicho máximo tiene lugar a los dos o tres días.

La termomaceración a alta temperatura consiste en elevar la masa de vendimia a 75 - 80° C para eliminar la lacasa y tirosinas, bajándola luego a 45 - 50° C y manteniéndola ahí durante 3 ó 4 horas.

La termomaceración a baja temperatura consiste en la elevación de la vendimia descobajada y molida directamente a 45 - 50° C.

Muchas veces es necesario la aplicación de enzimas pectolíticas y proteolíticas durante la maceración. Después de este tratamiento se separa la parte líquida de la sólida, dosificando la adición de fermentos seleccionados. A continuación la fermentación se conduce a baja temperatura como si fuera un vino blanco.

Estos vinos tienen un color muy vivo (color cereza o rubí) y son muy atrayentes.

5.1. Características químicas

| | |
|--|----------------|
| Alcohol | 10 - 12.5° GL |
| Acidez Total..... | 68 - 70 meq. |
| Acidez Volátil | 5 - 10 meq. |
| pH | 3.2 - 3.4 |
| Extracto Seco | 18 - 23 g/L |
| Alcohol/Extracto Seco reducido | 4.8 - 5.2 |
| Anhidrido Sulforoso (en botella) | 80 - 100 mg/L |
| Anhidrido Carbónico (en botella) | 200 - 400 mg/L |
| Índice de permanganato | 50 |

6. Futuro de la vitivinicultura en Brasil. Conclusiones.

El vino brasileño ha mejorado enormemente en los últimos años y hoy es reconocido ya internacionalmente e inclusive exportado. El consumo de vino en provincias de colonización europea (como Río Grande de Sur con sus ocho millones de habitantes) llega a 6.6 l per cápita y año. Pero la media brasileña para sus 130 millones de habitantes, no supera los 3 l. Esta falta de hábito por el consumo, no se debe sólo al desconocimiento sobre el vino sino también a la agresividad de las ventas de otras bebidas tales como las gaseosas y la cerveza.

El consumo en Brasil hace diez años era de apenas 2 l, por lo que ha mejorado algo en la actualidad, y esto se debe a la calidad del vino y a la publicidad dirigida en este sentido. Debemos suponer que en el futuro se mantenga esta tendencia creciente.

Para la evolución de la calidad del vino, la preocupación de los vinícolas de hoy se centra en el incentivo del campo hacia la plantación de variedades como la Chardonnay, Gewürztraminer, Sauvignon Blanc, Pinot Noir y Cabernet Sauvignon, etc., que posibilitarían la elevación del porcentaje de estas, frente a los híbridos y americanas.

Existen hoy también, los incentivos por parte de las empresas vinícolas a la implantación de nuevos sistemas de conducción y poda, que posibilitarían un mejor aprovechamiento de la luz, con la consecuente elevación del grado de azúcar y sanidad.

Se está también propiciando la implantación de nuevos viñedos con mudas certificadas libres de virus así como limitando la carga de uva por planta.

De esta forma acreditamos que para los próximos años tendremos una nueva y sensible mejora de calidad del vino en BRASIL.



LA VITICULTURA TROPICAL EN COLOMBIA

RUBEN DARIO GARCIA ORDOÑEZ

Director Técnico de la Sociedad Vinícola del Bosque Ltda.

Apartado aéreo 76.418 ZP2

Bogotá. Colombia.

RESUMEN

Colombia, país tropical localizado entre las latitudes 4 S y 12 N, cuenta con una climatología dependiente de la latitud, sin estaciones definidas. Las zonas de cultivo de la vid cubren una extensión estimada de 4.000 Ha., orientadas fundamentalmente hacia uva de mesa. Los cultivos se desarrollan en altitudes de 1.000 a 1.300 m., con precipitaciones medias de 1.000 mm. Las temperaturas oscilan entre 16 y 24 °C, la luminosidad media es de 1.900 h/año y la humedad relativa de 70 a 75%. Los suelos son franco-arcillosos con 2,5% de materia orgánica, pH de 6,8 y se utiliza riego por goteo.

Las variedades cultivadas son en un 70% para uva de mesa. El sistema de conducción es parronal y son frecuentes la Pizutello blanca, Tokay, Italia, Rivier, Moscatel de Hamburgo y Queen. La uva para vinificación es básicamente el híbrido Isabella pero crece el número de plantas cultivadas de variedades como Pinot noir, Riesling, Chardonnay y Cabernet Sauvignon, con resultados promisorios.

La característica principal del viñedo en Colombia es el ciclo vegetativo de 120 a 135 días, hecho que permite obtener de 2 a 3 cosechas durante todo el año. Los problemas criptogámicos son similares a los presentados en otras zonas vitícolas del mundo. Las perspectivas futuras son de franca expansión por las múltiples posibilidades de encontrar microclimas y suelos que permitan obtener uvas de calidad.

DEVUELVA este libro antes de la última fecha anotada

12-mayo

13-mayo

30-9

12-4

6-4

