

TESIS DOCTORAL



CARACTERIZACIÓN ANALÍTICA Y ANTIOXIDANTE DE UVAS PEDRO XIMÉNEZ Y TEMPRANILLO DURANTE SU PASIFICACIÓN. POTENCIAL ENOLÓGICO DE LA VARIEDAD TEMPRANILLO PASIFICADA

M^a de las Nieves López de Lerma Extremera

Córdoba, julio 2012

**DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
UNIVERSIDAD**



**AGRÍCOLA Y EDAFOLOGÍA
DE CÓRDOBA**

Ilustración de la portada: La era, el riu-rau y los cañizos para secar la uva

Obra de Juana María Noguera Gavila

Exposición monotemática “La pasa de Denia”, 2011

Colección donada al Ayuntamiento de Denia



DEPARTAMENTO DE QUÍMICA AGRÍCOLA Y EDAFOLOGÍA
UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA

**CARACTERIZACIÓN ANALÍTICA Y ANTIOXIDANTE DE UVAS
PEDRO XIMÉNEZ Y TEMPRANILLO DURANTE SU PASIFICACIÓN.
POTENCIAL ENOLÓGICO DE LA VARIEDAD TEMPRANILLO
PASIFICADA.**

Trabajo presentado para optar al Título de Doctora por la Universidad de
Córdoba.

Córdoba, 21 de junio de 2012.

Fdo.: M^a de las Nieves López de Lerma Extremera

Doctoranda

Dpto. Química Agrícola y Edafología
Universidad de Córdoba

Los Directores:

Fdo.: Dr. Rafael A. Peinado Amores

Prof. Titular de Universidad
Dpto. Química Agrícola y
Edafología
Universidad de Córdoba

Fdo.: Dr. José Peinado Peinado

Prof. Titular de Universidad
Dpto. Bioquímica y Biología
Molecular
Universidad de Córdoba

TITULO: *CARACTERIZACIÓN ANALÍTICA Y ANTIOXIDANTE DE UVAS
PEDRO XIMÉNEZ Y TEMPRANILLO DURANTE SU PASIFICACIÓN.
POTENCIAL ENOLÓGICO DE LA VARIEDAD TEMPRANILLO
PASIFICADA*

AUTOR: *MARÍA DE LAS NIEVES LÓPEZ DE LERMA EXTREMEIRA*

© Edita: UCOPress. 2016
Campus de Rabanales
Ctra. Nacional IV, Km. 396 A
14071 Córdoba

www.uco.es/publicaciones
publicaciones@uco.es



DEPARTAMENTO DE QUÍMICA AGRÍCOLA Y EDAFOLOGÍA
UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA

**CARACTERIZACIÓN ANALÍTICA Y ANTIOXIDANTE
DE UVAS PEDRO XIMÉNEZ Y TEMPRANILLO
DURANTE SU PASIFICACIÓN. POTENCIAL
ENOLÓGICO DE LA VARIEDAD TEMPRANILLO
PASIFICADA**

M^a de las Nieves López de Lerma Extremera



TÍTULO DE LA TESIS: Caracterización analítica y antioxidante de uvas Pedro Ximénez y Tempranillo durante su pasificación. Potencial enológico de la variedad Tempranillo pasificada.

DOCTORANDA: M^a de las Nieves López de Lerma Extremera

INFORME RAZONADO DE LOS DIRECTORES DE LA TESIS

El Dr. Rafael A. Peinado Amores, profesor titular del Departamento de Química Agrícola y Edafología y perteneciente al Programa de Doctorado Biociencias y Ciencias Agroalimentarias, y el Dr. José Peinado Peinado, profesor titular del Departamento de Bioquímica y Biología Celular, ambos de la Universidad de Córdoba,

INFORMAN:

Que el trabajo titulado “Caracterización analítica y antioxidante de uvas Pedro Ximénez y Tempranillo durante su pasificación. Potencial enológico de la variedad Tempranillo pasificada”, realizado por D^a. María de las Nieves López de Lerma Extremera, se ha llevado a cabo bajo su dirección. Dicho trabajo ha cumplido con creces los objetivos propuestos en el Proyecto de Tesis obteniéndose resultados que van más allá de los inicialmente esperados. La calidad de los mismos se demuestra con su publicación en revistas con alto índice de impacto, la mayoría situadas en el primer cuartil del área Food Science and Technology del Journal Citation Reports. Este hecho ha permitido que la Tesis Doctoral pueda presentarse como compendio de publicaciones. Los

resultados también han sido presentados en numerosos congresos nacionales e internacionales y en muchos de ellos de forma oral.

Destacar que la doctoranda es beneficiaria de una beca FPU por lo que ha tenido que compaginar su actividad investigadora con la docente, lo que da idea de su gran capacidad de trabajo y de la formación tan completa que ha adquirido.

Por todo ello, se autoriza la presentación de la Tesis Doctoral.

Córdoba, 21 de Junio de 2012

Firma de los directores

Fdo.: Rafael A. Peinado Amores

Fdo.: José Peinado Peinado

Esta Tesis Doctoral se ha desarrollado gracias a una cascada innumerable de colaboraciones. Para empezar por la contribución inicial tendría que mencionar a **Juan Moreno**, ya que fue quien me brindó la oportunidad de regresar a la Universidad. Aunque esta vuelta fuera más bien por motivos administrativos Juan se preocupó con ahínco de que siempre sacara un rato para las faenas de laboratorio, a pesar de mi escepticismo.

En esta primera incursión científica me guió José Peinado, **Pepe**. Desde luego que ya contaba con todo mi afecto por haberse preocupado por mí en un par de ocasiones, y por ser como es, todo hay que decirlo. He de reconocer que lo admiro mucho porque demuestra auténtica pasión por lo que hace y no para de darle al coco.

Cuando ya parece que la inercia me llevaba irremediamente hacia el Cromatógrafo de Gases, apareció Rafael Peinado, **Rafa**. A él “le tocó” ocuparse de mí, lo cual me inquietaba bastante. Nunca olvidaré aquel día en el que tuve que llamar a su puerta. Ahora nos reímos mucho. Me pongo a pensar en cómo agradecerle a Rafa cuánto ha hecho por mí y todo me parece que se queda corto. Siempre me ha ayudado lo que ha podido y más, haciéndome mil favores y atendiéndome las veinticuatro horas del día. Sé que esto la gente no lo entiende pero es porque no saben hasta dónde pueden llegar el compañerismo y la bondad desinteresada de una persona. Rafa, gracias.

A mis Directores “Los Peinado”, Rafa y Pepe, tengo que agradecerles el que hayan entendido y sobrellevado mi carácter con una paciencia infinita. Dentro del contexto, he hecho lo que he querido, cuando he querido y como he querido. Nunca he sentido presión de ningún tipo, únicamente la que me he impuesto yo misma, que ha sido mucha. Han sido amigos y compañeros, estando siempre ahí para tenderme su mano y apoyarme en todo. Su gran humildad ha hecho que se pongan a mi altura estando siempre conmigo en el laboratorio. Yo misma me daba cuenta del privilegio de mi situación porque ¿un director en el laboratorio ayudando a su doctorando/a? Imagen difícil de fotografiar. En el camino me he encontrado con muchísima gente, buena y mala (y malísima), pero he tenido en ellos unos padrinos incondicionales. Soy muy consciente de mi gran suerte y eso me hace feliz.

Agradezco también al **Grupo de Investigación de Viticultura y Enología** y al **Departamento de Química Agrícola y Edafología** que me hicieran un huequito cuando llegué, a pesar de estar dedicándome a otros menesteres. **Margarita** no tuvo reparo ninguno en dividir su mesa en dos para compartirla conmigo y ese fue el principio de nuestra loca y divertida amistad. Sé que ella ha sufrido muchísimo y yo me he preocupado por ello también muchísimo, por eso hoy mi alegría es doble: ¡POR FIN va a ser Doctora! (aunque su abuela no entienda que no pueda recetar). Quiero mencionar también a **Fali**, una personita que empezó exactamente igual que yo pero que su espíritu aventurero e independiente le ha llevado a seguir sus pasos fuera de la Universidad. Fali, ¿dónde estás? Lo que me he reído con vosotras dos no tiene precio.

Otro agradecimiento importante va para el **Departamento de Bioquímica y Biología Molecular** por su ayuda constante. Siempre dispuestos a cederme su material, sus protocolos, su mano de obra, sus tostadas, ¡todo! Esa Mari Carmen que vale su peso en oro. Yo creo que no se imagina hasta qué punto es imprescindible. Tengo que admitir que me da mucha envidia ver lo unidos que están todos, y lo que más me llama la atención es el hecho de que el que alguien tenga éxito no es motivo de envidia y exclusión sino todo lo contrario, de alegría y celebración. Toda una lección.

En estos agradecimientos no puede faltar mi **familia**, mi hermano, mi padre y en especial mi madre y mi tía Nieves. Las dos se han ido repentinamente en la etapa final de esta Tesis y creo que no se imaginaban lo mucho que yo las iba a echar de menos. Para mi fortuna tengo a mi lado a una persona muy muy especial que me ayuda muchísimo a seguir adelante en todos los aspectos de mi vida. Sin ti no sé qué hubiera sido de mí. Agradezco también al resto de mi extensa familia materna y paterna que se interese tantísimo por mí y que me haga ver constantemente que puedo contar con ella en todo momento. En este apartado dedicado a la familia quiero agradecer de forma especial a mis **amigas** Ana, Auro, Bel, Bel-je, Marta y Yiyi el que siempre siempre estén ahí, ¡os quiero mucho Caris!

Esto no puede acabar, aunque esté mal decirlo, sin agradecerme a **mí misma**. La realización de una Tesis es una de esas proezas que te tienen completamente absorbida sin ser consciente de ello hasta que todo pasa, y te

preguntas cómo has sido capaz de hacer semejante barbaridad. Es sueño acumulado, kilitos ganados, entumecimiento corporal y enclaustramiento extremo, pero todo se ve compensado con unos cuantos segundos de gloria. Esta es la chispa de la ciencia. Esta es la chispa de la vida.

ÍNDICE

Justificación y objetivos	1
Presentación	3
Resumen	5
Introducción	7
Localización geográfica de la D.O.P. Montilla-Moriles	8
Características edafoclimáticas de la D.O.P. Montilla-Moriles	9
Variedades autorizadas en la D.O.P. Montilla-Moriles	12
Pasificación de la uva Pedro Ximénez y cambios metabólicos asociados	18
1. Pardeamiento	20
2. Compuestos volátiles del aroma	22
3. Compuestos fenólicos y actividad antioxidante	24
Elaboración del vino dulce Pedro Ximénez	29
Pasado y presente de la D.O.P. Montilla-Moriles	32
Bibliografía	35
Capítulo 1. Caracterización enológica y volátil de las uvas durante su pasificación	43
Hipótesis	43
Objetivos	43
Artículos de los que deriva el capítulo 1	44
Metodología de trabajo	45
Análisis de resultados	46
Pedro Ximénez	46
1. Parámetros enológicos	46
2. Compuestos volátiles del aroma	46
3. Nariz electrónica	48
4. Análisis organoléptico	49
Tempranillo	49

1. Parámetros enológicos	49
2. Compuestos volátiles del aroma	50
3. Nariz electrónica	52
4. Análisis organoléptico	52
Conclusiones	53
Alcance y contribución del capítulo	53
Perspectivas futuras	54
Bibliografía	54
Anexo I.a: artículos publicados	57
Use of electronic nose, validated by GC-MS, to establish the optimum off-vine dehydration time of wine grapes.	59
Anexo I.b: artículos pendientes de publicación	65
Volatile composition of must from Tempranillo grapes throughout the sun drying process. Relation with E-nose analysis.	67
Capítulo 2. Caracterización fenólica y antioxidante de las uvas durante su pasificación	97
Hipótesis	97
Objetivos	97
Artículos de los que deriva el capítulo 2	98
Metodología de trabajo	99
Análisis de resultados	100
Pedro Ximénez	100
1. Contenido fenólico y actividad antioxidante <i>in vitro</i>	100
a) Muestras sin fraccionar	100
b) Muestras fraccionadas	101
2. Actividad antioxidante <i>in vivo</i>	102
Tempranillo	103
1. Contenido fenólico y actividad antioxidante <i>in vitro</i>	103
a) Muestras sin fraccionar	103
b) Muestras fraccionadas	104
2. Actividad antioxidante <i>in vivo</i>	105

Conclusiones	106
Alcance y contribución del capítulo	106
Perspectivas futuras	107
Bibliografía	107
Anexo II.a: artículos publicados	111
Antioxidant activity of different phenolics fractions isolated in must from Pedro Ximenez grapes at different stages of the off-vine drying process.	113
Synergistic antioxidant interaction between sugars and phenolics from a sweet wine.	119
Anexo II.b: artículos pendientes de publicación	127
Phenolics from dried Pedro Ximénez grapes protect yeast cells against oxidative stress and increase cell survival.	129
Actividad antioxidante in vitro e in vivo de mostos, hollejos y sus fracciones fenólicas de uvas Tempranillo pasificadas.	147
Capítulo 3. Elaboración de vinos dulces de uvas Tempranillo pasificadas	171
Hipótesis	171
Objetivos	171
Artículos de los que deriva el capítulo 3	172
Metodología de trabajo	173
Análisis de resultados	174
1. Parámetros enológicos	174
2. Cinética de fermentación	174
3. Compuestos volátiles del aroma	175
4. Análisis organoléptico	176
Conclusiones	176
Alcance y contribución del capítulo	176
Perspectivas futuras	177
Bibliografía	177
Anexo III.a: artículos publicados	179
Use of two osmoethanol tolerant yeast strain to ferment must from Tempranillo dried grapes.	181

Informe con el factor de impacto y cuartil del Journal Citation Reports en el que se encuentran las publicaciones	189
Anexo IV: otros artículos publicados	191
Effect of a thermal treatment and of the presence of oak chips on the volatile composition of Pedro Ximénez sweet wines.	193
Antioxidant activity, browning and volatile Maillard compounds in Pedro Ximénez sweet wines under accelerated oxidative aging.	199
Discrimination of sweet wines partially fermented by two osmo-ethanol-tolerant yeasts by gas chromatographic analysis and electronic nose.	207
Sweet wines with great aromatic complexity obtained by partial fermentation of must from Tempranillo dried grapes.	213

JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

En la andaluza Denominación de Origen Protegida Montilla-Moriles se elabora vino dulce a partir de mostos de uvas Pedro Ximénez pasificadas. La deshidratación de las uvas al sol dura entre 7 y 10 días y el mosto que se obtiene de su prensado, con un contenido en azúcar en torno a los 450 g/L, se alcoholiza hasta aproximadamente un 8% (v/v) de etanol. El objetivo de este encabezado es impedir la fermentación ya que la elevada concentración de azúcares ocasiona numerosos inconvenientes asociados al estrés osmótico al que se encuentran sometidas las levaduras. Las dificultades más frecuentes son i) problemas en el arranque de la fermentación por la baja velocidad de crecimiento de las levaduras, ii) paradas de fermentación por muerte celular aumentando el riesgo de contaminación microbiana y iii) complicaciones a la hora de detener la fermentación en el momento deseado. Para elaborar el Pedro Ximénez, ya sea de Añada o de Solera, se vuelve a encabezar el vino base o el vino sometido a crianza oxidativa, respectivamente, hasta 15% (v/v) de etanol.

Este proceder tan especial es producto de una gran tradición y está tan arraigado a la zona que nadie ha concebido cambiarlo. Es por ello que en la presente Tesis Doctoral se realiza un estudio de esta particular forma de elaboración con el propósito de plantear posibles mejoras e innovaciones, tanto en las materias primas utilizadas como en las prácticas enológicas empleadas.

Así, en términos generales, se plantean tres objetivos:

1. Caracterizar el proceso de pasificación de la uva Pedro Ximénez, en base a los parámetros enológicos y a los compuestos volátiles del aroma, para poder establecer el tiempo óptimo de secado de la uva.
2. Caracterizar el proceso de pasificación de la uva Pedro Ximénez, en base a los compuestos fenólicos y la actividad antioxidante, para poner de manifiesto el potencial beneficio para la salud que presentan los vinos dulces Pedro Ximénez.
3. Estudiar la viabilidad de elaborar vino dulce con uvas Tempranillo pasificadas por el método tradicional, comenzando por la caracterización de la pasificación a nivel enológico, aromático, fenólico y antioxidante, y terminando por el encabezado del mosto. En este punto se propone además fermentar parcialmente los mostos utilizando levaduras seleccionadas por su resistencia a elevadas concentraciones de azúcar y su gran capacidad de producir etanol, para estudiar el impacto de la fermentación en los compuestos del aroma y en las características organolépticas de los vinos obtenidos.

Se piensa que los resultados derivados de esta investigación pueden ayudar a comprender el comportamiento de Pedro Ximénez durante su pasificación, ofreciendo con ello un conocimiento muy útil a los vitivinicultores de la zona. Es evidente que podrían resolver al fin el problema de la fermentación de estos mostos tan azucarados, aunque lo que aquí se propone es la posibilidad de obtener un nuevo tipo de vino dulce elaborado por fermentación parcial de la variedad Tempranillo pasificada, sin relevar en ningún caso el método de elaboración tradicional.

PRESENTACIÓN

Esta Tesis Doctoral se presenta como compendio de artículos científicos. No obstante, con el objeto de clarificar los contenidos me ha parecido conveniente hacer un breve resumen con los resultados más relevantes de cada publicación.

Para ello he optado por dividir la Tesis en tres capítulos. En el capítulo 1, “Caracterización enológica y volátil de las uvas durante su pasificación”, se ha realizado un seguimiento de la pasificación de la variedad blanca Pedro Ximénez a través de las variables enológicas y los compuestos volátiles del aroma. Estos mismos factores se han estudiado durante la pasificación de la variedad tinta Tempranillo con el objetivo de evaluar su idoneidad para ser pasificada siguiendo el método tradicional de la Denominación de Origen Protegida Montilla-Moriles.

En el capítulo 2, “Caracterización fenólica y antioxidante de las uvas durante su pasificación”, se ha analizado el contenido en compuestos fenólicos y se han realizado diversos ensayos *in vitro* e *in vivo* para evaluar el potencial antioxidante de las uvas pasificadas.

En el capítulo 3, “Elaboración de vinos dulces de uvas Tempranillo pasificadas”, se ha querido valorar la aptitud de la variedad Tempranillo pasificada para obtener vinos dulces tanto por el método tradicional de la D.O.P. Montilla-Moriles, como por la fermentación parcial de los mostos con la flora autóctona o con levaduras seleccionadas.

Cada capítulo se divide en una serie de apartados en los que se indican la hipótesis de partida, los objetivos perseguidos, un esquema con la

metodología básica, los artículos publicados y pendientes de publicación de los que se derivan los resultados expuestos y las conclusiones obtenidas. Además, se describe la contribución de estas últimas a la industria vitivinícola, así como las perspectivas de futuras investigaciones derivadas de esta Tesis Doctoral.

RESUMEN

En esta Tesis Doctoral se estudian la pasificación de las variedades Pedro Ximénez (blanca) y Tempranillo (tinta), y la obtención de vinos dulces de uvas Tempranillo pasificadas.

Durante la pasificación aumentan en ambas variedades el pH, la acidez titulable y la acidez volátil, además del contenido en azúcares. El análisis de los compuestos del aroma pone de manifiesto que a medida que avanza la pasificación disminuye el contenido en compuestos con aroma herbáceo, mientras que aumentan los volátiles con descriptores asociados a la fruta madura. En el caso particular de la variedad Tempranillo, también aumentan los aromas relacionados con la hierba seca y las especias. La composición volátil de los mostos se ha relacionado con la respuesta emitida por la nariz electrónica, revelándose esta última como herramienta de análisis rápida y sencilla para decidir el punto óptimo de pasificación en función del contenido en compuestos del aroma de la uva. El conjunto de los resultados expone que parece existir un óptimo de pasificación que se alcanza cuando el porcentaje de deshidratación de la uva es aproximadamente del 25%.

Por su parte, la composición fenólica y la actividad antioxidante de mostos aumentan en ambas variedades con la pasificación, mientras que disminuyen en los extractos de hollejos. Los valores de estas dos variables son claramente superiores en Tempranillo. El análisis de las fracciones fenólicas de mostos y hollejos indica que en la variedad Tempranillo son los antocianos los que más contribuyen a la actividad antioxidante. En la variedad Pedro Ximénez la fracción más influyente varía durante la pasificación, siendo al final

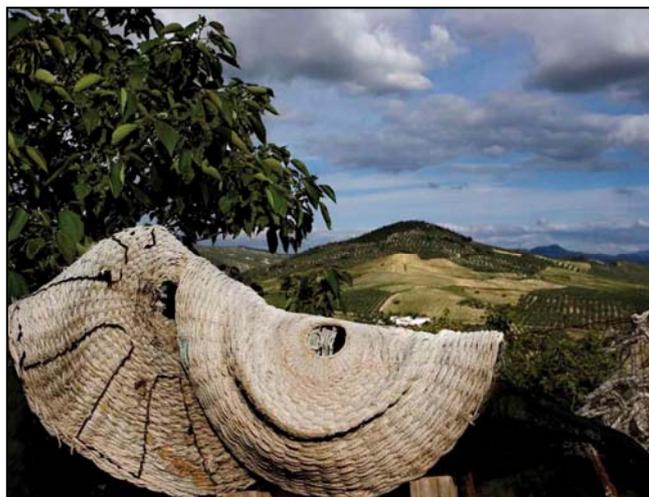
de la misma la correspondiente a las procianidinas poliméricas. Los ensayos *in vitro* con la variedad Pedro Ximénez han demostrado que tanto los mostos como sus extractos fenólicos protegen al ADN, a lípidos, a azúcares y a proteínas de la oxidación provocada por distintos radicales libres. Los ensayos de actividad antioxidante *in vivo* manifiestan que la incubación de las células de levadura con los mostos de uvas Pedro Ximénez y Tempranillo pasificadas, les confiere un claro efecto protector frente al estrés oxidativo. Este efecto aumenta con el grado de pasificación. Los extractos de hollejos de la variedad Tempranillo se han mostrado más efectivos que los mostos en esta protección.

Por último, al evaluar la composición volátil de los vinos obtenidos a partir de mostos de uvas Tempranillo pasificadas por el método tradicional y por fermentación parcial, se observa que el contenido en compuestos volátiles es mayor en estos últimos. Los vinos mejor valorados organolépticamente han sido los fermentados parcialmente con levaduras seleccionadas.

INTRODUCCIÓN

La deshidratación de uvas de vinificación por exposición directa al sol o pasificación, tiene como objetivo aumentar la concentración de azúcar para elaborar vino dulce. Esta pasificación requiere un clima caluroso o semiárido como el que caracteriza a los países del área mediterránea Grecia, Chipre, Italia, Turquía y España (Franco et al., 2004). Este hecho no impide que otras regiones elaboren vinos dulces a partir de otros métodos, todos encaminados a aumentar el contenido en azúcares de los mostos. Así, en Francia y Hungría se benefician el desarrollo en forma noble del hongo *Botrytis cinerea*, en Alemania, Austria y Canadá se aprovechan de la congelación de la uva y en Alsacia y algunas regiones de España practican una vendimia tardía.

Viñedos de la D.O.P.
Montilla-Moriles



En España solamente tres zonas vitivinícolas practican la pasificación, Montilla-Moriles, Málaga y Jerez, siendo la primera de ellas la de mayor

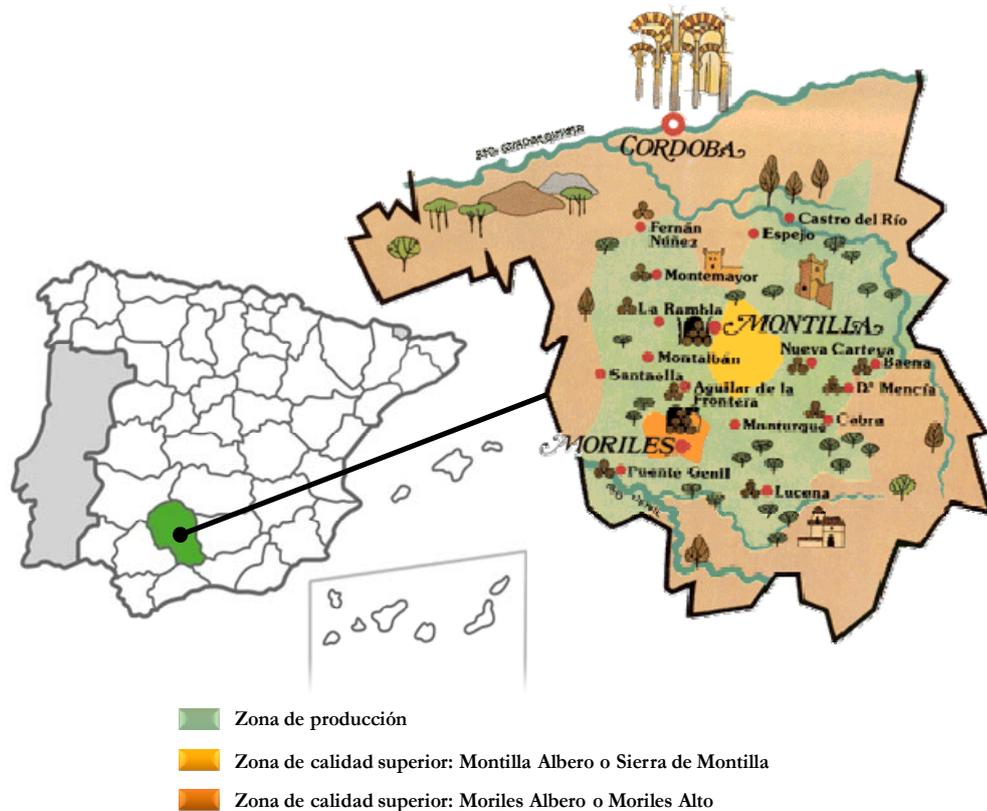
producción de este tipo de vino dulce por sus ideales condiciones tanto para el cultivo de la uva empleada, la variedad blanca Pedro Ximénez, como para su pasificación (López et al., 1992).

LOCALIZACIÓN GEOGRÁFICA DE LA D.O.P. MONTILLA-MORILES

La zona Montilla-Moriles posee la indicación de Denominación de Origen Protegida y se extiende por buena parte del sur de la provincia de Córdoba, entre los paralelos 37°11' y 37°40', a una altitud que varía entre 125 y 600 metros sobre el nivel del mar, en el área de la campiña del Valle del Guadalquivir. Abarca 10.082 hectáreas de superficie de viñedo plantado y 7.520 hectáreas de viñas en producción. Además, cuenta con 170 bodegas productoras. La orografía se caracteriza por terrenos ondulados poco montañosos con pendientes suaves. Los ríos Genil y Guadajoz limitan sus fronteras oriental y occidental, en tanto que el Guadalquivir, al Norte, y las Sierras de la Subbética, al sur, delimitan su contorno.

La zona de producción de los vinos protegidos por la Denominación de Origen Montilla-Moriles está constituida por los terrenos ubicados en los términos municipales de Montilla, Moriles, Doña Mencía, Montalbán, Monturque, Nueva Carteya y Puente Genil en su totalidad, y en parte los de Aguilar de la Frontera, Baena, Cabra, Castro del Río, Espejo, Fernán-Núñez, La Rambla, Lucena, Montemayor y Santaella. Dentro de la zona de producción se distingue la subzona de calidad superior con 2.680 hectáreas, constituida por terrenos delimitados y seleccionados por sus especiales cualidades edafológicas: son los “alberos” de la Sierra de Montilla, formados en el Cretáceo, y de Los Moriles Altos, procedentes del Oligoceno. La zona de elaboración es la misma que la de producción y la zona de crianza incluye la zona de producción y parte de Córdoba capital.

Mapa de la D.O.P. Montilla-Moriles



CARACTERÍSTICAS EDAFOCLIMÁTICAS DE LA D.O.P. MONTILLA-MORILES

Las albarizas son suelos ricos en carbonato cálcico, con suelo y subsuelo formados por margas blandas, pobres en materia orgánica natural, poco fértiles, de composición mineralógica simple, prácticamente caliza y sílice, con estructura hojaldrada o grumosa, con escasa proporción de cloruros y sulfatos y cuyo subsuelo tiene un alto poder retentivo de la humedad que oscila alrededor del 30%. Los alberos de primera calidad son capaces de retener hasta el 33% de su peso en agua, humedad que irán cediendo lentamente a la cepa durante el largo, seco y caluroso verano cordobés. Así, las tierras ideales para obtener vinos de calidad, especialmente los tradicionales finos cordobeses, son aquellas cuyos suelo y subsuelo son calizos. A partir de los setenta centímetros de

profundidad el contenido en carbonato cálcico debe ser, al menos, del 40% e irá en aumento al ahondar, hasta sobrepasar el 50% e, incluso, el 60%. El suelo de color más o menos blanquecino es, por lo expuesto, suelo de primera calidad para la vid. En segundo lugar se sitúan aquellos de tonos más oscuros que cubren subsuelos ricos en carbonato de cal.

Detalle de los
alberos típicos sobre
los que se asientan
los viñedos de la
D.O.P. Montilla-
Moriles



Menos adecuados para la obtención de racimos de primera calidad, aunque muy aptos para la elaboración de otros tipos de vinos, son los denominados Ruedos. La composición de los Ruedos va de calizo arcilloso a arcilloso calizo, en función de la proporción de cada uno de estos dos elementos. La realidad es que dentro de los pagos clasificados como Ruedos, se pueden encontrar desde excelentes alberos a tierras franco-arcillosas.

En el marco de Montilla-Moriles se encuentran también terrenos con alto contenido en sílice en los términos municipales de Montemayor y Puente Genil, en los que se cultiva la variedad Pedro Ximénez. Provoca este mineral una intensa refracción de la luz que adelanta en varios días la madurez de la uva con respecto al resto de la zona, proporcionando mostos, a finales de agosto, con una riqueza en azúcares en torno a los 240-250 gramos por litro.

Estas uvas se dedican, a la pasificación para elaborar después el singular vino dulce denominado Pedro Ximénez.

Es conveniente plantar en ladera y, a ser posible, con orientación sur. La pendiente va a permitir un drenaje natural del agua sobrante, además de aumentar la longevidad del viñedo y mejorar la calidad de la uva. La correcta orientación conseguirá, además, la mejor maduración del fruto.

Vendimiadores en una plantación de viñedo en ladera de la D.O.P. Montilla-Moriles



El clima que encontramos en el área de la D.O.P. Montilla-Moriles se clasifica en general como semi-continental mediterráneo, con veranos cálidos, largos y secos e inviernos cortos y relativamente suaves. En esta zona central de Andalucía se registran las temperaturas más elevadas en los meses de julio y agosto de toda la península ibérica, con máximas históricas que superan los 46 °C. Las horas de sol efectivo se sitúan en torno a las 3.000 por año. La pluviometría anual oscila entre 500 y 1.000 mm, caracterizada por su irregularidad tanto en el reparto anual como interanual.

Desde el punto de vista vitícola el clima de Montilla-Moriles se clasifica entre los más cálidos del mundo, con escasas precipitaciones y una elevada insolación, lo que incide en el desarrollo de la vid y en su ciclo fenológico, en

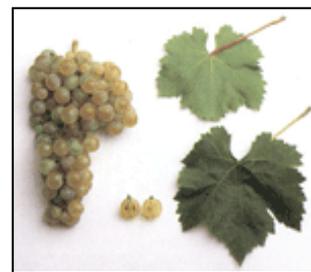
la rápida maduración del fruto que marca su composición y las características de todos los vinos resultantes, e indirectamente en la fermentación y crianza de los vinos.

El efecto directo de esta climatología tan severa durante la maduración, así como su influencia a través de las características de los suelos, es determinante para poder obtener los vinos de la D.O.P. con sus particularidades específicas, marcando tanto el estilo de los vinos blancos jóvenes o con envejecimiento, como de los vinos generosos con su elevada graduación alcohólica natural y de los vinos dulces a partir del asoleo.

VARIETADES AUTORIZADAS EN LA D.O.P. MONTILLA-MORILES

La elaboración de los vinos dulces protegidos por la D.O.P. Montilla-Moriles se realiza principalmente con la variedad Pedro Ximénez. Otras variedades autorizadas procedentes del área de producción son Airén, Baladí, Verdejo, Moscatel de grano menudo, Moscatel de Alejandría, Torrontés, Chardonnay, Sauvignon Blanc y Macabeo.

La variedad Pedro Ximénez es considerada como principal y ocupa prácticamente el 75% de la superficie vitícola de la D.O.P. Es autóctona de la zona y su origen es controvertido. La versión más divulgada es la de Pero Ximén, soldado de los tercios de Flandes que la trajo en su zurrón desde el vitífero valle del Rin, adonde cuentan que había llegado desde las islas Madeira y a éstas desde Grecia. Tres ciudades, al menos, se discuten la cuna del guerrero viticultor: Montilla, Málaga y Villanueva del Ariscal (Sevilla).



FICHA AMPELOGRÁFICA

Sinonimias	Alamís, Alamís de Totana, Pedro o Pero Ximénez, Pedro o Pero Jiménez y Pero Ximén.
Cepa	Porte de la vegetación rastrero y tronco vigoroso.
Hoja	Tamaño entre mediano y grande, forma pentágona, senos laterales profundos, haz verde fuerte con poco brillo y envés acerado.
Racimo	Tamaño mediano, compacidad media, forma cónica larga, alado.
Baya	Tamaño mediano, forma elíptica corta y color amarillo verdoso. Piel fina y pulpa blanda.
Periodo vegetativo	Brotación media y madurez media-temprana.
Rendimiento	3,5 a 4 kg/cepa.
Vulnerabilidad	Sensible a mildiu y Botrytis y medianamente al oídio.
Otros datos	Altamente resistente a la sequía. Fructifica correctamente con podas muy cortas ya que la yema ciega es fértil.

La variedad Airén es la uva blanca más cultivada en España y una de las más antiguas. Como el resto de las variedades autorizadas, se ha utilizado desde antiguo en el Marco para reducir el porcentaje glucométrico de los mostos de Pedro Ximénez que, a



finales de la vendimia, llegan a alcanzar cotas tan altas que hacen difícil el trabajo de las levaduras. Aporta escasos aromas a fruta verde y flores amarillas y su acidez es moderada.

FICHA AMPELOGRÁFICA

Sinonimias	Aidén (Albacete), Lairén (Cordoba), Manchega (Albacete), Valdepeñera y Valdepeña (Ciudad Real).
Cepa	Porte muy rastrero y tronco vigoroso.
Hoja	Tamaño mediano, forma pentagonal, senos laterales inferiores menos marcados que los superiores, haz color verde oscuro sin brillo y superficie lisa, envés arañoso.
Racimo	Tamaño grande, suelto, forma de dos tipos: cilíndrica y conica larga.
Baya	Tamaño mediano, forma esférica y color amarillento. Hollejo de color verde amarillo, con pruina, de consistencia media. Pulpa no coloreada y blanda.
Periodo vegetativo	Brotación temprana.
Rendimiento	4,5 a 6 kg/cepa.
Vulnerabilidad	Sensible al mildiu y Botrytis y medianamente al oídio.
Otros datos	Muy resistente a la sequía. Fructifica correctamente con podas muy cortas ya que la yema ciega es fértil.

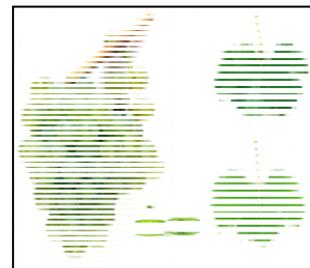
La variedad Baladí admite bien la pasificación, por lo que también se usa para elaborar vinos dulces mezclada con Pedro Ximénez. Sin pasificar se trata de una variedad neutra que proporciona vinos poco aromáticos, por lo que se usa habitualmente para mezcla en finos o blancos jóvenes. Posee buen poder alcohólico, con acidez más bien baja, pero no tiene gran longevidad. Debido a sus racimos grandes y sueltos en ocasiones se usa para uva de mesa.



FICHA AMPELOGRÁFICA

Sinonimias	Amor Blanco, Aujubí, Baboso Blanco, Bastardo Blanco, Calagraño, Jaén, Jaén Blanco y Valadí.
Cepa	Porte rastrero y tronco vigoroso.
Hoja	Tamaño grande, forma pentagonal, poco lobulada, haz color verde oscuro sin brillo y superficie lisa, envés arañoso.
Racimo	Tamaño grande, compacto, forma piramidal.
Baya	Tamaño grande, forma esférica ligeramente alargada y color amarillento. Hollejo de color verde amarillo. Pulpa no coloreada y blanda.
Periodo vegetativo	Brotación y maduración tempranas.
Rendimiento	3 a 5 kg/cepa.
Vulnerabilidad	Sensible al oídio, a los ácaros y al corrimiento.
Otros datos	Necesita mucho sol aunque soporta bien los cambios de temperatura. Prefiere terrenos que drenen bien, sueltos, aireados y arenosos. Admite podas cortas.

Otra de las variedades autorizadas es la Verdejo. Su introducción en España se debió a los mozárabes, que en el siglo XI, reinando Alfonso VI, vinieron a repoblar la cuenca del Duero, junto con cántabros y vascones. Parece ser que los mozárabes

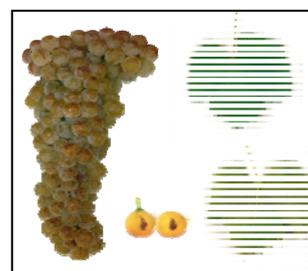


trajeron el Verdejo del norte de África. Proporciona vinos moderadamente alcohólicos, de acidez media-alta, y elevada relación ácido tartárico/ácido málico. Los vinos son estructurados y glicéricos, suaves, sabrosos y retrogusto amargo persistente.

FICHA AMPELOGRÁFICA

Sinonimias	Verdeja, Verdejo/a Blanco/a, Verdéelo, Gouveio.
Cepa	Porte de la vegetación semirrastrero. Tronco vigoroso.
Hoja	Tamaño pequeño, pentagonal y orbicular, poco lobulada, haz verde intenso.
Racimo	Tamaño pequeño, compacto y piramidal. Pedúnculo muy corto y duro.
Baya	Tamaño pequeño-mediano, forma elíptica, color verde intenso plomizo, piel gruesa.
Periodo vegetativo	Brotación media, madurez media-tardía.
Rendimiento	4 a 6 kg/cepa.
Vulnerabilidad	Muy sensible al oídio y sensible a las polillas del racimo.
Otros datos	Mejor fertilidad con podas largas. Tolerancia bien la sequía moderada y se adapta a suelos poco fértiles y pedregosos.

La variedad Moscatel de Grano Menudo es la segunda más cultivada en la D.O.P. Montilla-Moriles seguida por la de Alejandría. Está considerada una de las más antiguas. Los ampelógrafos la han identificado con la uva *Anathelicon moschaton*, que usaron los



griegos. Fue probablemente introducida primero en Francia por los griegos a través del puerto comercial de Marsella, y más tarde se extendió por la región romana de la Narbonense en la conquista de la Galia. Esta variedad se caracteriza por sus aromas típicos a piel de naranja, melocotón, fruta tropical, florales y jengibre.

FICHA AMPELOGRÁFICA

Sinonimias	Moscatel de grano pequeño, común, castellano, fino, morisco, gallego, Muscat de Frontignan, Moscato.
Cepa	Porte de la vegetación semirrastrero.
Hoja	Tamaño medio, pentagonal, seno peciolar en v cerrado, haz verde intenso.
Racimo	Cilíndrico, compacto, a veces deforme.
Baya	Tamaño pequeño-mediano, cilíndrica, de color amarillo caoba con pecas, hollejo fino.
Periodo vegetativo	Brotación y maduración tempranas.
Rendimiento	5 a 6,5 kg/cepa.
Vulnerabilidad	Sensible al entrenudo corto, oidio, mildiu, prodredumbre gris, gusanos y a la sequía.
Otros datos	Vegeta bien en suelos secos y calcáreos. Prefiere podas cortas.

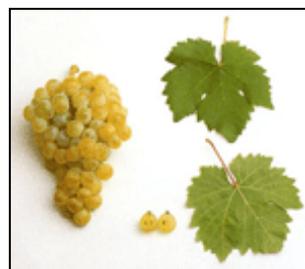
La variedad Moscatel de Alejandría es una de las que quedan sin modificar genéticamente. Tiene su origen en el Norte de África y el nombre deriva de su asociación con los antiguos egipcios que la usaron para hacer vino. En la D.O.P. se emplea en mezcla con Pedro Ximénez para aportar aromas..



FICHA AMPELOGRÁFICA

Sinonimias	Moscatel, Moscatel de grano gordo, de Alejandría, de Málaga, Moscatelón.
Cepa	Porte de la vegetación erguido.
Hoja	Tamaño medio, pentagonal, poco lobulada, haz verde intenso, envés glabro.
Racimo	Tamaño grande, muy largo y suelto.
Baya	Tamaño grande, elíptica, acuminada, amarillo caoba, hollejo muy grueso.
Periodo vegetativo	Brotación y maduración tardías.
Rendimiento	4 a 5kg/cepa.
Vulnerabilidad	Sensible al mildiu, oidio y al corrimiento.
Otros datos	Muy resistente a la sequía, poda larga.

La uva Montepila es de origen incierto aunque se localiza en la provincia de Córdoba. Da vinos poco aromáticos, neutros y de baja graduación por lo que en la D.O.P. se utiliza en mezcla para elaborar vinos blancos jóvenes.



FICHA AMPELOGRÁFICA

Sinonimias	Torrontés, Monastrell blanco y Mantepila.
Cepa	Porte de la vegetación semi erguido.
Hoja	Pentagonal, con abundantes pelos cortos en el envés y débil hinchazón en el haz.
Racimo	Mediano, compacto, pedúnculo muy corto.
Baya	Esférica, longitud media y diámetro grande, epidermis verde-amarilla.
Periodo vegetativo	Brotación y maduración tardías.
Rendimiento	2,5 a 3 kg/cepa.
Vulnerabilidad	Sensible a Botrytis.
Otros datos	Resiste la sequía y caliza activa. Poda corta.

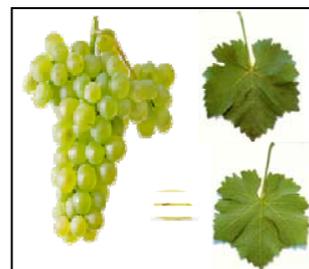
Otra de las variedades recientemente autorizadas en la D.O.P. es la Chardonnay. Presenta amplias posibilidades de vinificación dando vinos muy equilibrados y elegantes, con aromas a manzana, durazno, pera, cítricos, melón y miel.



FICHA AMPELOGRÁFICA

Sinonimias	Chardonnay Blan, Morrión Blan, Beaunois, Auvernat.
Cepa	Tronco vigoroso.
Hoja	Tamaño mediano, pentalobulada, orbicular, haz verde claro.
Racimo	Tamaño mediano-pequeño, cónico.
Baya	Tamaño mediano, esférico, hollejo fino y amarillo-dorado.
Periodo vegetativo	Brotación y maduración tempranas.
Rendimiento	2,5 a 3 kg/cepa.
Vulnerabilidad	Sensible a Oidio, Mildiu, Botrytis, corrimiento y sequía.
Otros datos	Suelos margosos. Podas largas. Resistente a la clorosis.

La variedad Sauvignon Blanc combina muy bien con Verdejo, aunque sola da excelentes vinos blancos secos muy aromáticos. Tiene sus orígenes en Francia, en las regiones de Loira y Bordeaux Burdeos. Se trata de una variedad muy adaptable a nuevos climas, y prueba de ello es su presencia en la D.O.P.



FICHA AMPELOGRÁFICA

Sinonimias	Fume Blanc, Muskat Sylvaner, Sauvignon blanco, Sauvignon petit.
Cepa	Tronco vigoroso.
Hoja	Tamaño mediano, pentalobulada, orbicular, haz verde claro.
Racimo	Tamaño pequeño, cónico o cilíndrico, compacto, pedúnculo corto.
Baya	Tamaño pequeño, ovoide, hollejo de consistencia media amarillo-dorado.
Periodo vegetativo	Brotación y maduración tempranas.
Rendimiento	2 a 3 kg/cepa.
Vulnerabilidad	Muy sensible a Botrytis y sensible a oidio y a la polilla.
Otros datos	Resistente a mildiu, suelos no muy fértiles, sensible a la sequía y a la sobremaduración, poda larga.

Por último, la variedad Macabeo tiene su origen en España. Se cree que procede de la cuenca del Ebro, aunque hay expertos que colocan sus orígenes en la zona de Valencia. Es una de las variedades más extendidas por toda España. Se utiliza



para elaborar vinos blancos secos ligeramente ácidos. Es más bien neutra en aromas por lo que precisa su mezcla con otras variedades de mayor potencial aromático y mayor contenido en extracto. Los aromas tienden a ser vegetales, de heno o hierba (con vinificaciones a altas temperaturas) y también a fruta sobremadura como melocotones o manzana pasada.

FICHA AMPELOGRÁFICA

Sinonimias	Alcañol, Alcañón, Blanca de Daroca, Charas Blanc, Forcalla, Gredelín, Lardot, Macabeu, Perpignan, Viuna y Viura.
Cepa	Porte de la vegetación erguido, tronco vigoroso.
Hoja	Tamaño grande, pentalobulada, ondulada, seno en u cerrada, haz verde brillante.
Racimo	Tamaño grande, compacto, piramidal irregular, pedúnculo corto.
Baya	Tamaño mediano, esférica, hollejo fino amarillo-verdoso.
Periodo vegetativo	Brotación temprana y maduración intermedia.
Rendimiento	5 a 6,5 kg/cepa.
Vulnerabilidad	Muy sensible a Botrytis y polilla del racimo, sensible a heladas.
Otros datos	Funciona bien con podas cortas.

PASIFICACIÓN DE LA UVA PEDRO XIMÉNEZ Y CAMBIOS METABÓLICOS ASOCIADOS

La elaboración del vino dulce Pedro Ximénez comienza recolectando las uvas en su punto ideal de maduración, en torno a los 13-14 °Bé. Estos racimos se almacenan momentáneamente en cajas perforadas de unos 15 kilos, minimizando su rotura por aplastamiento y permitiendo el drenaje del mosto que pueda liberarse. Posteriormente se transportan a las paseras, zonas arenosas de gran extensión orientadas al sur y con una ligera pendiente, donde se

disponen en filas sobre mallas de plástico o esteras de esparto (Franco et al., 2004; Chaves, 2006). Para que la pasificación sea homogénea a los tres días aproximadamente se procede al “volteo” manual de los racimos. Dependiendo de las condiciones climáticas del año el proceso puede durar entre 7 y 10 días, durante los cuales las temperaturas diurnas superan ampliamente los 40 °C.

La pérdida de agua que tiene lugar durante la pasificación afecta al metabolismo primario de las células de la uva, de forma que éstas evolucionan de una respiración aerobia a anaerobia, y también al secundario (Constantini et al., 2006; Chkaiban et al., 2007, Bellincontro et al., 2009).

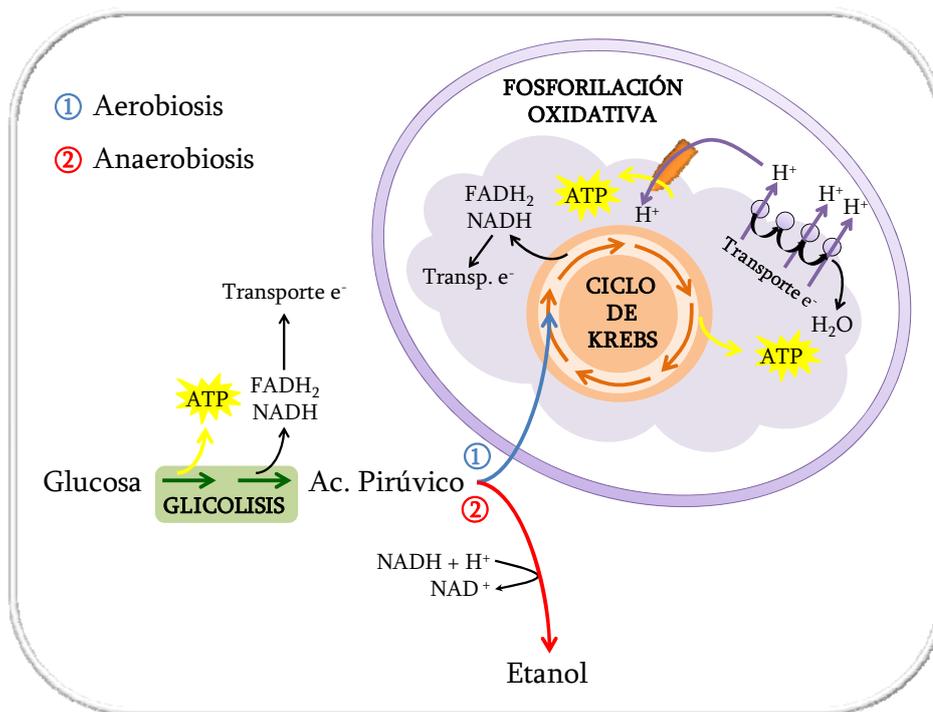
Proceso de pasificación de los racimos de uvas al sol



Con la deshidratación se producen modificaciones profundas en las membranas celulares alterando drásticamente su funcionalidad. Las ATPasas transmembrana, al verse dañadas, no pueden hidrolizar el ATP para obtener energía ni eliminar sustancias dañinas para la célula (Alzamora et al., 2000;

Ramos et al., 2004). Además, se reduce de forma importante la difusión gaseosa (Ben-Yehoshua, 1993; Kays, 1997), impidiendo la fosforilación oxidativa en la mitocondria para regenerar los ATPs y el mantenimiento del gradiente de protones, ocasionando acidosis (Perata y Alpi, 1993). El mecanismo empleado por la célula para mantener el potencial redox es entrar en metabolismo anaerobio, comenzando así una intensa actividad fermentativa. Para ello se activan la piruvato descarboxilasa (Aubert et al., 1996) y la alcohol deshidrogenasa (Flanzy et al., 1974; Sauvage et al., 1991), que transforman el ácido pirúvico en etanol, el cual contribuye a la degradación de las membranas.

Metabolismo de la glucosa

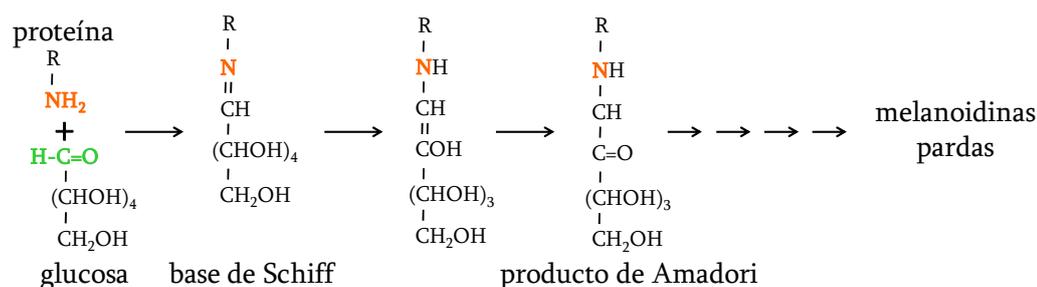
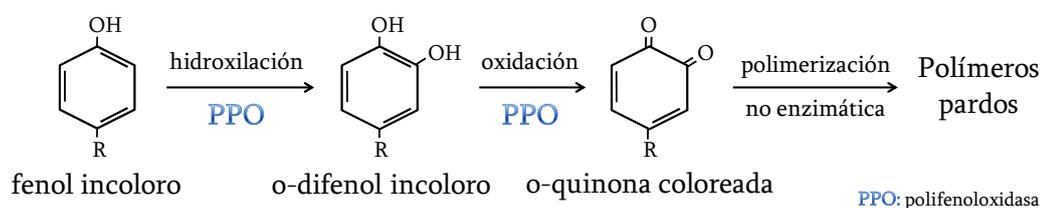


1. PARDEAMIENTO

Uno de los efectos en el metabolismo secundario de las uvas se manifiesta en el pardeamiento, tanto por vía enzimática como no enzimática.

Es difícil evaluar la contribución de cada tipo de vía durante el proceso de pasificación, pero Radler (1964) afirma que en los últimos estadios las uvas presentan elevadas concentraciones de azúcares reductores que podrían inhibir el pardeamiento producido por las polifenoloxidasas. Además, estas enzimas se inactivan por las elevadas temperaturas y la ausencia de oxígeno. El pardeamiento no enzimático o reacciones de Maillard, se produce de forma efectiva a temperaturas mayores de 50 °C y se favorece en un rango de pH entre 4 y 7 (Morales y Jiménez-Pérez, 2001). Tiene lugar entre compuestos con grupos carbonilo (monosacáridos) y aminos libres (aminoácidos). Su eficacia depende de varios factores tales como la proporción y el tipo de aminoácidos y azúcares implicados, así como por la actividad del agua (Lingnert y Hall, 1986). La secuencia de reacciones conduce a la formación de compuestos coloreados, entre los cuales son interesantes sus polímeros de alto peso molecular, las melanoidinas (Rivero-Pérez et al., 2002). Estos compuestos y otros secundarios no sólo afectan al pardeamiento sino que también a las propiedades sensoriales e incluso a las biológicas, ya que poseen actividad antioxidante (Moreno et al., 2007).

Reacciones de pardeamiento enzimático (superior) y no enzimático (inferior)

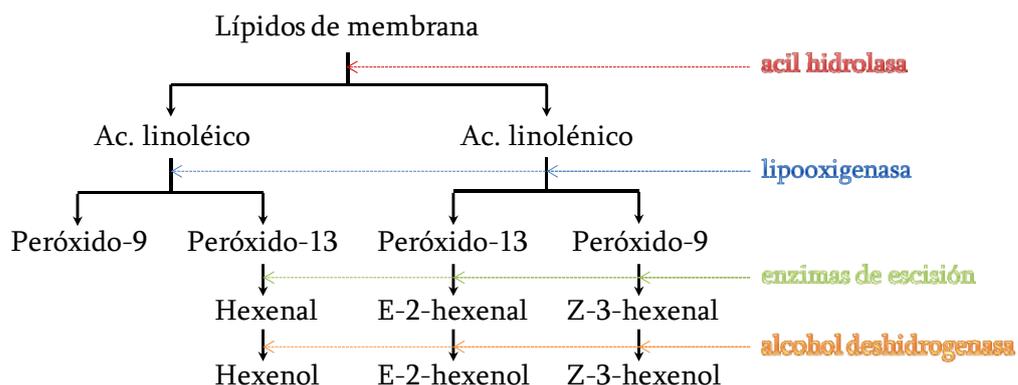


2. COMPUESTOS VOLÁTILES DEL AROMA

La uva Pedro Ximénez en su punto óptimo de maduración posee un contenido en terpenos muy inferior a 1 mg/L, por lo que desde el punto de vista aromático se considera una variedad neutra. Es el proceso de pasificación el responsable de que esta uva alcance gran calidad aromática dentro del contexto de los vinos dulces.

En los primeros días de pasificación se ha descrito una mayor actividad de la enzima lipooxigenasa, que cataliza la oxidación de los ácidos de la membrana linoleico y linolénico a hidroperóxidos, los cuales evolucionan hacia la formación de alcoholes y aldehídos de 6 átomos de carbono con aromas herbáceos. Esta oxidación de los ácidos grasos facilita la progresiva degradación de la membrana celular. La actividad de esta enzima depende del oxígeno por lo que disminuye cuando la uva entra en metabolismo anaerobio (Costantini et al., 2006).

Formación de alcoholes y aldehídos de 6 átomos de carbono



La pared celular también se degrada como consecuencia del proceso de pasificación. Un efecto directo en la composición volátil de esta degradación es la liberación de metanol por la demetoxilación de las pectinas catalizada por las pectinesterasas. El contenido en metanol puede alcanzar valores que incluso

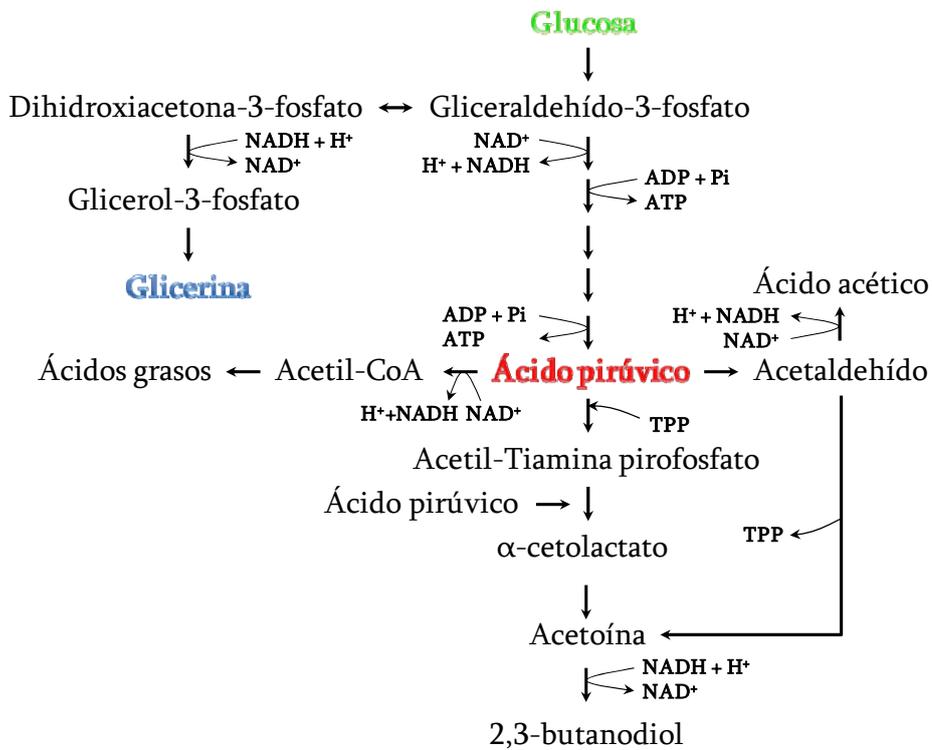
superan los 80 mg/L (Ribéreau-Gayon et al., 2003). La pared celular es una capa rígida que se localiza en el exterior de la membrana plasmática y protege los contenidos de la célula, da rigidez a la estructura celular, otorga soporte a los tejidos y muchas más partes de la célula, funciona como mediadora en todas las relaciones de la célula con el entorno y actúa como compartimiento celular. Es por ello que su degradación va a favorecer la difusión de los compuestos fenólicos y aromáticos del hollejo a la pulpa.

Otra consecuencia del cambio de metabolismo aeróbico a anaeróbico es la producción de etanol, en primer término por la transformación de los azúcares y en segundo término a expensas del ácido málico (Flanzy et al., 1974). Este etanol contribuye a su vez a la degradación celular.

El estrés hídrico sufrido por las células de la uva y la entrada en metabolismo anaerobio provocan la síntesis de glicerol, el cual actúa como osmolito. Esta síntesis requiere NADH por lo que para equilibrar el potencial redox se desvía el ácido pirúvico hacia la formación de ácido acético y otros volátiles como la acetoína, el 2,3-butanodiol, los ácidos carboxílicos, el acetaldehído, etc.

Los compuestos volátiles característicos del metabolismo anaeróbico no difieren cualitativamente de los que pueden producirse durante la fermentación alcohólica. Cuantitativamente, destaca la producción de γ -butirolactona, acetoína y ácido cinámico, asociándose el cinamato de etilo a vinos obtenidos por maceración carbónica. Los alcoholes superiores y los ésteres propios de la fermentación también se han detectado en cantidades anormalmente elevadas en mostos de uvas sometidas a anoxia. Por último, la formación de ácido shikímico durante el metabolismo anaerobio justificaría la presencia de derivados aromáticos como el 2-feniletanol, alcohol bencílico, vinilguaiacol, guaicol y vainillato de etilo (Flanzy et al., 1974).

Fermentación gliceropirúvica y mecanismos de conservación del potencial redox

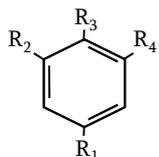
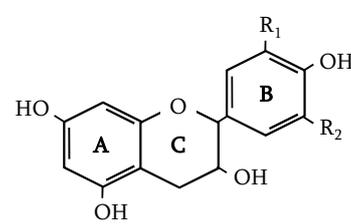
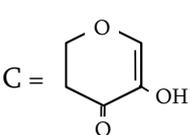
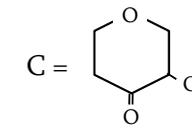
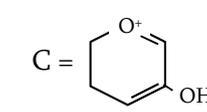
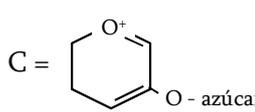


3. COMPUESTOS FENÓLICOS Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

Los compuestos fenólicos son moléculas orgánicas que se sintetizan durante el metabolismo secundario de las plantas. Su estructura básica consiste en un grupo benceno y en un grupo hidroxilo, y pueden ser de tipo no flavonoide o de tipo flavonoide, los más abundantes en los alimentos. Generalmente, se encuentran en las plantas en forma conjugada con uno o más residuos de azúcar siendo solubles en agua y solventes orgánicos (Shahidi et al., 1995). En la uva, estos compuestos se localizan mayormente en el hollejo por lo que su concentración en el vino va a depender del tiempo de maceración. Esta es la razón fundamental de que los vinos tintos posean mayor cantidad de fenoles que los vinos blancos, constituyendo los flavonoides el 85% del

contenido fenólico total (>1000 mg/L) en tintos y menos de un 20% del contenido fenólico total (<50 mg/L) en blancos.

Clasificación de los compuestos fenólicos

<p>No flavonoides</p> 	<p>Ácidos fenólicos R₃ = OH</p> <p>Estilbenos R₁ = CH=CH-fenol R₂ = R₄ = OH R₃ = H</p>	<p>Ácidos benzoicos R₁ = COOH</p> <p>Ácidos cinámicos R₁ = CH=CH-COOH</p>
<p>Flavonoides</p> 	<p>Flavonoles C = </p> <p>Flavononoles C = </p> <p>Antocianos</p> <p>Flavanoles R₁ = OH R₂ = H</p> <p>Otros fenoles poliméricos</p>	<p>Antocianidinas C = </p> <p>Antocianinas C = </p> <p>Catequinas</p> <p>Procianidinas o taninos (polímeros catequina)</p> <p>Bajo PM</p> <p>Alto PM</p>

Se ha visto que durante la pasificación de Pedro Ximénez se incrementa el contenido en estos compuestos fenólicos contribuyendo al aumento del pardeamiento enzimático y de la actividad antioxidante (Moreno et al., 2007). En este sentido Zamboni et al. (2008) han observado una mayor expresión de

los genes relacionados con la síntesis de estilbenos y con la polimerización de los compuestos fenólicos, y en general un aumento de las vías de síntesis de fenoles. Estos hechos han sido también puestos de manifiesto por Versari et al. (2001) al describir un aumento en la síntesis de *trans*-resveratrol en uvas *cv.* Corvina sometidas a un proceso de deshidratación post cosecha.

En el caso especial que nos ocupa, los vinos dulces, podría decirse que el elevado contenido en azúcar puede provocar efectos adversos para la salud humana, como resistencia a la insulina y estrés oxidativo a través de la glicosilación de proteínas. Sin embargo, la presencia de los polifenoles contrarresta considerablemente estos efectos (Al-Awwadi et al., 2005).

Los efectos fisiológicos asociados a los compuestos fenólicos se deben a su estructura, siendo sus principales propiedades la formación de complejos con proteínas, la formación de quelatos con iones metálicos y la capacidad para eliminar radicales libres (capacidad antioxidante), efectos sobre el metabolismo glucídico, lipídico y mineral, efectos sobre la fluidez de la membrana, efecto antiinflamatorio y antihistamínico, efecto cardioprotector y cardiovascular, efecto antivírico, antibacteriano y antifúngico, efecto sobre el tracto gastrointestinal y efecto antimutagénico (García, 2005; Rahman et al., 2006).

Es de sobra conocido que los polifenoles de la dieta son capaces de disminuir los efectos indeseables de los radicales libres sobre ADN, lípidos y proteínas, por sus acciones antioxidantes y complejantes de metales de transición. Estas acciones se basan en estabilizar a los radicales libres al donarles un electrón y en estabilizarse ellos mismos por deslocalización del electrón en sus anillos aromáticos. La principal fuente de radicales libres en el organismo es la respiración mitocondrial. En la formación de ATP el oxígeno se reduce hasta agua, sin embargo, el transporte electrónico mitocondrial es imperfecto y en esta reducción se generan especies reactivas de oxígeno (ERO) como el radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$), el peróxido de hidrogeno (H_2O_2) y el radical

hidroxilo ($\text{HO}\cdot$), que se caracterizan por su reactividad, especialmente el radical hidroxilo (Ardestani y Yazdanparas, 2007). Se estima que entre 1-3% del oxígeno consumido por el organismo no llega a formar agua y acaba generando ERO. El oxígeno también interviene en la formación de otros radicales libres, como por ejemplo al reaccionar con los ácidos grasos poliinsaturados, por medio de la lipooxigenasa, se forman lipoperóxidos (ROOH) que pueden derivar en el radical libre orgánico peroxilo ($\text{ROO}\cdot$) (Zennaro et al., 2007). Otra fuente de radicales libres en el organismo son las células fagocíticas del sistema inmune (neutrófilos, monocitos, macrófagos y eosinófilos) que en su mecanismo de defensa contra la agresión de agentes extraños producen grandes cantidades de radicales libres. Además, existen numerosas fuentes exógenas de radicales libres como las radiaciones ionizantes, la contaminación industrial, el humo del tabaco.

Hay que tener en cuenta que la capacidad antioxidante del mosto o vino no viene dada por la suma de las capacidades antioxidantes de cada uno de sus componentes, sino que depende del microambiente en el cual se encuentra el compuesto. Los compuestos interactúan entre sí, pudiendo producirse efectos sinérgicos o inhibitorios (García, 2005).

En cuanto a las fracciones fenólicas obtenidas de distintos vinos, se ha comprobado que las que contienen compuestos de menor peso molecular tienen mayor capacidad antioxidante que las que poseen compuestos de mayor peso molecular. En vino tinto, la fracción que contiene antocianinas es la más activa, seguida de la que contiene catequinas, procianidinas, flavonoles y ácidos fenólicos (García, 2005). En este sentido, se ha visto que la ingestión de vino tinto como parte de la dieta mediterránea mejora el estatus antioxidante del plasma en humanos (Serafini et al., 1998; Carbonneau y Léger, 1998; Urquiaga, et al., 2010).

Uno de los polifenoles más estudiado por sus efectos sobre la salud es el resveratrol. Este estilbeno muestra una capacidad preventiva contra el cáncer al inhibir los procesos responsables de la formación y dispersión de tumores cancerígenos, y previene o reduce en un 98% el número de tumores de piel en ratones propensos a contraer cáncer (Jang et al., 1997). Además, actúa como antiinflamatorio al inhibir la ciclooxigenasa, como activador de los receptores activados por proliferadores de peroxisomas, que participan en la regulación de la diferenciación celular, el desarrollo y el metabolismo basal, y como inductor de la óxido nítrico sintasa endotelial, que está involucrada en la regulación de la función vascular (Nakata et al., 2012).

Por otro lado, se ha visto que los monómeros de catequina y epicatequina activan el sistema de enzimas antioxidantes en hígado de rata (Arola et al., 1997). También se ha observado que un extracto de procianidinas de la semilla de uva ejerce un efecto protector en hepatomas sometidos a estrés oxidativo, modificando la expresión de las enzimas antioxidantes (Cu,Zn-superóxido dismutasa, glutatión peroxidasa, glutatión reductasa y glutatión S-transferasa), así como un efecto protector de la integridad del DNA (Llópiz et al., 2004).

Existen diversos estudios que demuestran que el vino entraña una protección superior a otras bebidas alcohólicas en materia de enfermedades cardiovasculares. Uno de los mecanismos implicados en este efecto protector de los polifenoles consiste en elevar las lipoproteínas de alta densidad, inhibir la oxidación de la lipoproteínas de baja densidad, inhibir la agregación plaquetaria y en su capacidad antioxidante (Renaud et al., 1998).

Los estudios tienden a mostrar que el riesgo de accidentes vasculares cerebrales disminuye con un consumo de 1 a 2 vasos al día hasta un máximo de 4 a 5 vasos al día de consumo regular. La cantidad de vino que puede beberse

diariamente con el fin de aprovechar el máximo de sus efectos beneficiosos, sin resultar perjudicial para la salud, es la pregunta clave.

ELABORACIÓN DEL VINO DULCE PEDRO XIMÉNEZ

Una vez que las uvas se encuentran en su momento óptimo de pasificación, se someten a un doble prensado para aumentar el rendimiento en mosto. Este mosto se alcoholiza o encabeza hasta el 8% de etanol (v/v) para impedir la fermentación, debido a que la elevada concentración de azúcares ocasiona numerosos inconvenientes asociados al estrés osmótico al que se encuentran sometidas las levaduras. Las dificultades más frecuentes son i) problemas en el arranque de la fermentación por la baja velocidad de crecimiento de las levaduras, ii) paradas de fermentación por muerte celular aumentando el riesgo de contaminación microbiana y iii) complicaciones a la hora de detener la fermentación en el momento deseado (Salmon y Mauricio, 1994; Zuzarregui y del Olmo 2004).

En este punto merece la pena destacar que García-Martínez et al. (2011) han aislado cepas de *S. cerevisiae* de mostos de uvas Pedro Ximénez pasificadas que presentan gran resistencia a elevadas concentraciones de azúcar y alta capacidad de producir etanol. Estas cepas han sido capaces de llevar a cabo fermentaciones parciales de mostos de uvas Pedro Ximénez pasificadas sin los problemas asociados a la fermentación de mostos dulces anteriormente mencionados. Los mecanismos de adaptación de las levaduras al estrés osmótico son similares a los mencionados para el caso de la uva. Por una lado, se produce un aumento de la síntesis de glicerol intracelular (Tofalo et al., 2009), de forma que se ha observado en algunas levaduras *S. cerevisiae* bombas de glicerol activas (Hohmann, 2002). La enzima glicerol-3-fosfatodeshidrogenasa, que cataliza la transformación de dihidroxiacetona-3-fosfato en glicerol-3-fosfato, posee dos isoformas codificadas por los genes GPD1, fuertemente inducido en condiciones de estrés osmótico (Larsson et al.,

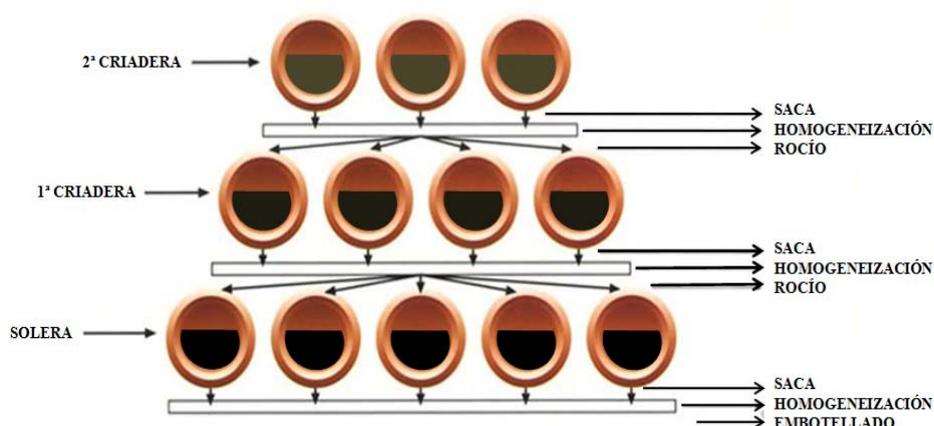
1993), y GPD2, responsable de mantener el equilibrio redox en condiciones anaerobias (Eriksson et al., 1995). Por otro lado, también se ha observado una sobreexpresión de los genes que codifican la enzima piruvato descarboxilasa, que transforma el ácido pirúvico en acetaldehído, y de los que codifican la aldehído deshidrogenasa, que oxida el acetaldehído a ácido acético (Erasmus et al., 2003).

Retomando la elaboración tradicional del vino dulce Pedro Ximénez, el mosto encabezado hasta el 8% (v/v) de etanol se deja reposar y decantar para obtener lo que se conoce como vino base. A partir de éste se puede elaborar el vino dulce de Añada joven si se vuelve a encabezar el vino base hasta un mínimo del 15% y un máximo del 22% (v/v) de etanol, o el vino dulce de Añada con crianza si el encabezado es posterior a la crianza oxidativa del vino base. El tiempo mínimo de crianza es de doce meses salvo que se utilicen barricas de madera nueva, en cuyo caso será de seis meses. El vino joven, es un vino muy fragante, con excelentes aromas primarios tales como la miel, las pasas, higos secos. Las notas que recuerdan a raspón deben de ser uno de los aromas que aparece en un PX de calidad, ya que en la elaboración es fundamental su intervención, tal y como se ha explicado anteriormente. En boca resulta dulce, suave, con retronasal a pasas y miel. El vino con crianza posee además aromas tostados y torrefactos.

Para elaborar el vino dulce de Soleras el vino base debe someterse a un proceso de crianza oxidativa mediante el tradicional sistema de Criaderas y Solera. En este sistema las botas de madera de roble se disponen en filas unas sobre otras de manera que la fila que se sitúa sobre el suelo se denomina solera, la fila de botas que se dispone encima de la solera se denomina 1ª criadera, las botas sobre la 1ª criadera constituyen la 2ª criadera y así sucesivamente. Las botas son de madera muy vieja, ya que no se desea que aporte taninos ni excesivos aromas, sino que actúe de envase por cuyos poros penetre el oxígeno del exterior. Las botas se pueden llenar por completo o bien hasta

aproximadamente en sus 5/6 partes para que quede una superficie libre donde el oxígeno oxide lentamente al vino, modificando así sus características organolépticas. El vino que se va a comercializar se extrae de la solera en la operación denominada “saca del vino”. Este vino se encabeza hasta un mínimo del 15% y un máximo del 22% (v/v) de etanol, según la normativa vigente (Boja número 249 de 22/12/2011). El vacío creado en la solera se repone o “rocía” con vino de la primera criadera, homogeneizado previamente, ésta con el vino de la segunda y así sucesivamente hasta la última criadera, la cual se rocía con el vino del año. Estas operaciones se conocen como “correr la escala” y se hacen entre dos o tres veces al año, teniendo en cuenta que la normativa de la D.O.P. Montilla-Moriles indica que los vinos deben de tener al menos dos años de envejecimiento por este sistema. En este reglamento también se indica que solamente se puede extraer anualmente el volumen de vino correspondiente al 40% de las existencias iniciales declaradas al comienzo de la campaña al 31 de Julio. Como puede deducirse, este sistema de Criaderas y Solera se caracteriza por la mezcla de vinos con distintos grados de crianza, favoreciéndose así la obtención de un vino homogéneo en sus características organolépticas, independientemente de las diferencias entre cosechas.

Crianza oxidativa del vino en el sistema de Criaderas y Solera



Tras largos años de crianza se obtiene un vino de color negro azabache con ribetes yodados, de difícil movimiento en copa debido a la gran concentración en azúcares. Sus aromas son torrefactos y tostados, con notas a pasas, pan de higos y dátiles. En boca es dulce, de textura suave y aterciopelada, y algo amargo.

PASADO Y PRESENTE DE LA D.O.P. MONTILLA-MORILES

Esta forma tan especial de elaboración es producto de una tradición centenaria ya que parece claro que Montilla fue una de las primeras áreas vinícolas de Andalucía (su origen se remonta al siglo VIII a.C.). Hasta la época medieval los vinos se embarcaban para su exportación por el Guadalquivir. Después de que los descubriera Felipe IV, se consumieron también en la corte. La Denominación de Origen, tal cual es hoy, empezó a adquirir notoriedad a partir de 1.891, con motivo de celebrarse el Arreglo de Madrid, revisado en Washington en 1.911 y ratificado en La Haya en 1.925, cuyos principios se incorporaron a la legislación española en el año 1.932. Concretamente fue el Estatuto de la Viña y el Vino de 1.932, que mediante la Ley de 26 de mayo de 1.933, publicada el 4 de junio en la Gaceta de Madrid, adquirió fuerza de Ley, el que otorgó el reconocimiento oficial a sus vinos, protegiendo como denominaciones de origen los nombres geográficos de las localidades de Montilla y Moriles para que pudieran ser usados en exclusiva por los elaboradores y criadores de los pueblos ubicados en su zona de producción y crianza. No en vano uno de los propósitos del Estatuto del Vino era defender las denominaciones de origen universalmente acreditadas, contra toda usurpación de fuera o dentro del país. La Guerra Civil y algunos problemas burocráticos retrasaron la fundación del Consejo Regulador que no se hizo efectiva hasta diciembre de 1.944, aprobándose su primer Reglamento en octubre de 1.945. Desde 1.999 se le ha permitido usar en Europa los términos tradicionales utilizados por los viticultores. Así pues, los términos fino, oloroso,

e incluso amontillado, que estaban reservados a los vinos de Jerez, han aparecido en las botellas de esta Denominación de Origen por primera vez desde los años sesenta.

Tinajas antiguas de arcilla roja para la fermentación de los mostos entre los anchos y fuertes muros de lo que fue una bodega



Actualmente la Denominación de Origen cuenta con la indicación de Protegida por Orden de 30 de noviembre de 2011 (Boja número 249 de 22/12/2011), puesto que la calidad y las características típicas de sus vinos vienen marcadas por su vinculación con los factores humanos y naturales del área geográfica, así como por la compleja interacción entre estos. La situación geográfica de la zona delimitada de la D.O.P. Montilla-Moriles condiciona su climatología, y junto con la orografía y los suelos, y la interacción de estos con el resto de factores naturales y con los factores humanos, marcan muy significativamente el vínculo con el medio geográfico de la zona. Los factores humanos se deben a una tradición centenaria que ha dado lugar a un saber hacer reconocido. Las materias primas utilizadas, las prácticas enológicas empleadas en la crianza y el buen hacer de los bodegueros, expertos conocedores de su producto, interactúan durante todo el proceso ofreciendo unos productos genuinos y singulares. La influencia humana se refleja también en el propio diseño arquitectónico de las bodegas, en los suelos de albero, en las

vasijas de elaboración y las botas de roble tradicionales, con sistemas que están adaptados al clima muy cálido y seco de la zona, de forma que la temperatura del local donde se lleva a cabo el envejecimiento no supere los 20 °C, con una adecuada ventilación y una humedad entre el 60 y el 80%. Las modalidades propias de crianza en botas de madera son únicas en el mundo y añaden una riqueza singular y buena parte de su tipicidad a los vinos, que bajo las condiciones de la zona expresan el saber hacer de los bodegueros de Montilla-Moriles, dando como resultado las características organolépticas típicas de cada tipo de vino con crianza.

A pesar de su gran tradición, Montilla-Moriles es otra de las denominaciones que intenta abandonar su clásica imagen con la apuesta por nuevas variedades de uva y nuevos sistemas de producción que la ayuden a una mejor comercialización de sus vinos y a reducir los excedentes, que podrían incluso hacer peligrar la conservación del patrimonio vinícola de la zona. Es por esto que la zona vitivinícola de Montilla-Moriles no ha sido ajena al aumento de la demanda de vinos tintos y ha sustituido gran parte de su viñedo Pedro Ximénez, la variedad mayoritaria, por diversas variedades tintas como Tempranillo, Merlot, Syrah o Cabernet Sauvignon. No obstante, la gran diversidad de vinos tintos existente en el mercado dificulta la comercialización de los mismos, por lo que una alternativa para dar salida a los vinos elaborados con variedades tintas ha sido someterlas a los procesos de pasificación tradicionales. Las bodegas que ya han realizado pruebas de pasificación de uvas tintas han manifestado que una de las variedades que mejor se comporta es la Tempranillo.

Bibliografía

- Al-Awwadi, N. A.; Araiz, C.; Bornet, A.; Delbosc, S.; Cristol, J. P.; Linck, N.; Azay, J.; Teissedre P. L.; Cros, G. Extracts Enriched in Different Polyphenolic Families Normalize Increased Cardiac NADPH Oxidase Expression while Having Differential Effects on Insulin Resistance, Hypertension, and Cardiac Hypertrophy in High-Fructose-Fed Rats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 151-157. 2005.
- Alzamora, S.M.; Castro, M.A.; Vidales, S.L.; Nieto, A.B.; Salvatori, D. The role of tissue microstructure in the textural characteristics of minimally processed fruit. In *Minimally Processed Fruits and Vegetables, Fundamental Aspects and Applications*. Gaithersburg: Aspen Publishers. 2000.
- Ardestani, A.; Yazdanparast, R. Antioxidant and free radical scavenging potential of *Achillea santolina* extracts. *Food Chemistry*, 104, 21-29. 2007.
- Arola, L.; Roig, R.; Cascón, E.; Brunet, M.J.; Fornós, N.; Sabaté, M.; Raga, X.; Batista, J.; Salvadó, M.J.; Bladé, C. Model for voluntary wine and alcohol consumption in rats. *Physiology & Behavior*, 62 (2), 353-7. 1997.
- Aubert, S.; Gout, E.; Bligny, R.; Marty-Mazars, D.; Barrieu, F.; Alabouvette, J.; Marty, F.; Douce, R. Ultrastructural and biochemical characterization of autophagy in higher plant cells subjected to carbon deprivation; control by the supply of mitochondria with respiratory substrates. *Journal of Cell Biology*, 133, 1251-1263. 1996.
- Bellincontro, A.; Nicoletti, I.; Valentini, M.; Tomas, A.; De Santis, D.; Corradini, D.; Mencarelli, F. Integration of nondestructive techniques with destructive analyses to study postharvest water stress of

- winegrapes. *American Journal of Enology and Viticulture*, 60 (1), 57-65. 2009.
- Ben-Yehoshua, S. Transpiration, water stress, and gas exchange. In J. Weichmann (Ed.), *Postharvest Physiology of Vegetables*, 113-170. New York: Dekker. 1993.
- BOJA 249 de 22/12/2011. Orden de 30 de noviembre de 2011, por la que se aprueba el Reglamento de funcionamiento de las Denominaciones de Origen «Montilla-Moriles» y «Vinagre de Montilla-Moriles», así como sus correspondientes Pliegos de Condiciones.
- Carbonneau, M.A.; Le' ger, C.L.; Descomps, B.; Michel, F.; Monnier, L. Improvement in the antioxidant status of plasma and low-density lipoprotein in subjects receiving a red wine phenolics mixture. *Journal of the America Oil Chemists' Society*, 75, 235-240. 1998.
- Chaves, M. Estudio de la actividad odorante de vinos dulces Pedro Ximénez de la D.O. Montilla-Moriles durante su envejecimiento. Tesis de Licenciatura. Universidad de Córdoba, España. 2006.
- Chkaiban, L.; Botondi, R.; Bellincontro, A.; De Santis, D.; Kefalas, P.; Mencarelli, F. Influence of postharvest water stress on lipoxygenase and alcohol dehydrogenase activities, and on the composition of some volatile compounds of Gewürztraminer grapes dehydrated under controlled and uncontrolled thermohygro-metric conditions. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 13, 142-149. 2007.
- Costantini, V.; Bellincontro, A.; De Santis, D.; Botondi, R.; Mencarelli, F. Metabolic changes of Malvasia grapes for wine production during postharvest dehydration. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 3334-3340. 2006.

- Erasmus, D.J.; van der Merwe, G.K.; van Vuuren, H.J.J. Genome-wide analyses, metabolic adaptation of *Saccharomyces cerevisiae* to high sugar stress. *FEMS Yeast Research*, 3, 375-399. 2003.
- Eriksson, P.; Andre, L.; Ansell, R.; Blomberg, A.; Adler, L. Cloning and characterization of GPD2, a second gene encoding sn-glycerol 3-phosphate dehydrogenase (NAD⁺) in *Saccharomyces cerevisiae*, and its comparison with GPD1. *Molecular Microbiology*, 17, 95-107. 1995.
- Flanzy, C.; Andre, P.; Benard, P.; Buret, M.; Chambroy, Y.; Jouret, C. Fermentation intracellulaire des baies de raisin au cours de leur métabolisme anaérobie. *Annual Technology of Agriculture*, 23, 481-500. 1974.
- Franco, M.; Peinado, R.A.; Medina, M.; Moreno, J. Off-vine grape drying effect on volatile compounds and aromatic series in must from Pedro Ximénez grape variety. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 52, 3905-3910. 2004.
- García, B. Absorción *in vivo* de oligómeros de epicatequina. Memoria para optar al Grado de Doctor en Bioquímica. Universidad Rovira i Virgili. Tarragona, 2005.
- García-Martínez, T.; Bellincontro, A.; López de Lerma, N.; Peinado, R.A.; Mauricio, J.C.; Mencarelli, F.; Moreno, J. Discrimination of sweet wines partially fermented by two osmo-ethanol-tolerant yeasts by gas chromatographic analysis and electronic nose. *Food Chemistry*, 127, 1391-1396. 2011.
- Homann, S. Osmotic stress signaling and osmoadaptation in yeasts. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 66, 300-372. 2002.
- Jang, M.; Cai, L.; Udeani, G.O.; Slowing, K.V.; Thomas, C.F.; Beecher, C.W.; Fong, H.H.; Farnsworth, N.R.; Kinghorn, A.D.; Mehta, R.G.; Moon,

- R.C.; Pezzuto, J.M. Cancer chemopreventive activity of resveratrol, a natural product derived from grapes. *Science*, 275, 218-20. 1997.
- Kays, S.J. Stress in harvested products. In S.J. Kays (Ed.), *Postharvest Physiology in Perishable Plants Products*, 335-408. Athens: Exon Press. 1997.
- Larsson, K.; Ansell, R.; Eriksson, P.; Adler, L. A gene encoding sn-glycerol 3-phosphate dehydrogenase (NAD⁺) complements an osmosensitive mutant of *Saccharomyces cerevisiae*. *Molecular Microbiology*, 10, 1101-1111. 1993.
- Lingnert, H. y Hall, G. Formation of antioxidative reaction products during food processing, In Fujimaki, M; Namiki, M; Kato, E. (Eds), In *Amino-carbonyl reactions in food and biological systems*, 273-279. Elsevier: Tokyo, Japan. 1986.
- Llopiz, N.; Puiggròs, F.; Céspedes, E.; Arola, L.; Ardévol, A.; Bladé, C.; Salvadó, M.J. Antigenotoxic effect of grape seed procyanidin extract in Fao cells submitted to oxidative stress. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52 (5), 1083-1087. 2004.
- López, A.; Ariza, F.J.; de la Cruz, J.; López, R. Cuantificación de los requerimientos energéticos para el secado de uva variedad Pedro Ximénez. *Fruticultura Profesional*. 49, 50-55. 1992.
- Morales, F.J.; Jiménez-Pérez, S. Free radical scavenging capacity of Maillard reaction products as related to colour and fluorescence. *Food Chemistry*, 72, 119-125. 2001.
- Moreno, J.; Peinado, J.; Peinado, R.A. Antioxidant activity of musts from Pedro Ximénez grapes subjected to off-vine drying process. *Food Chemistry*, 104, 224-228. 2007.

- Nakata, R.; Takahashi, S.; Inoue, H. Recent advances in the study on resveratrol. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 35 (3), 273-279. 2012.
- Perata, P. y Alpi, A. Plant responses to anaerobiosis. *Plant Science*, 93, 1-17. 1993.
- Radler, F. The prevention of browning during drying by the cold dipping treatment of sultana grapes. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 15, 684-689. 1964.
- Rahman, I.; Biswas, S.K.; Kirkham, P.A. Regulation of inflammation and redox signaling by dietary polyphenols. *Biochemical Pharmacology*, 72, 1439-1452. 2006.
- Ramos, I.N.; Silva, C.L.M.; Sereno, A.M.; Aguilera J.M. Quantification of microstructural changes during first stage air drying of grape tissue. *Journal of Food Engineering*, 62, 61-67. 2004.
- Renaud, S.C.; Guéguen, R.; Schenker, J.; d'Houtaud A. Alcohol and mortality in middle-aged men from eastern France. *Epidemiology*, 9, 184-8. 1998.
- Ribéreau-Gayon, P.; Dubourdieu, D.; Donèche, B.; Lonvaud, A. La vendimia y la transformación de la uva después de la cosecha. In *Tratado de enología. Microbiología del Vino. Vinificaciones*. Buenos Aires: Mundi-Prensa. 2003.
- Rivero-Pérez, M.D.; Pérez-Magariño, S.; González-San José, M.L. Role of melanoidins in sweet wines. *Analytica Chimica Acta*, 458, 169-175. 2002.
- Salmon, J. M.; Mauricio, J. C. Relationship between sugar uptake kinetics and total sugar consumption in different industrial *Saccharomyces cerevisiae* strains during alcoholic fermentation. *Biotechnology Letters* 16, 89-94. 1994.

- Sauvage, F.X.; Romieu, C.G.; Sarris, J.; Pradal, M.; Robin, J.P.; Flanzy, C. Evolution of some enzymatic activities during grape ripening. Post-harvest influence of hypoxic stress. *Revue Française d'Oenologie*, 132, 14-20. 1991.
- Serafini, M.; Maiani, G.; Ferro-Luzzi, A. Alcohol-free red wine enhances plasma antioxidant capacity in humans. *Journal of Nutrition*, 128 (6), 1003-1007. 1998.
- Shahidi, F.; Naczsk, M. Food phenolics. Sources, Chemistry, Effects, Application. Tecnnomic, Publishing CO., INC eds. Lancaster, Pennsylvania, USA, 1995.
- Tofalo, R.; Chaves-López, C.; Di Fabio, F.; Schirone, M.; Felis, G.E.; Torriani, S.; Paparella, A.; Suzzi, G. Molecular identification and osmotolerant profile of wine yeasts that ferment a high sugar grape must. *International Journal of Food Microbiology*, 130, 179-187. 2009.
- Urquiaga, I.; Strobel, P.; Pérez, D.; Martínez, C.; Cuevas, A.; Castillo, O.; Marshall, G.; Leighton, F. Mediterranean diet and red wine protect against oxidative damage in young volunteers. *Atherosclerosis*, 211 (2), 694-699, 2010.
- Versari, A.; Parpinello, G.P.; Tornielli, G.B.; Ferrarini, R.; Giulivo, C. Stilbene compounds and stilbene synthase expression during ripening, wilting, and UV treatment in grape cv. Corvina. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 5531-5536. 2001.
- Zamboni, A.; Minoia, L.; Ferrarini, A.; Tornielli, G.B.; Zago, E.; Delledonne, M.; Pezzotti, M. Molecular analysis of post-harvest withering in grape by AFLP transcriptional profiling. *Journal of Experimental Botany*, 59, 4145-4159. 2008.

Zennaro, L.; Rossetto, M.; Vanzani, P.; De Marco, V.; Scarpa, M.; Battistin, L.; Rigo, A. A method to evaluate capacity and efficiency of water soluble antioxidants as peroxy radical scavengers. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 462, 38-46. 2007.

Zuzuarregui, A.; del Olmo, M. Analyses of stress resistance under laboratory conditions constitute a suitable criterion for wine yeast selection. *LWT-Food Science and Technology* 85, 271-80. 2004.

CAPÍTULO 1

CARACTERIZACIÓN ENOLÓGICA Y VOLÁTIL DE LAS UVAS DURANTE SU PASIFICACIÓN



■ Hipótesis

Se puede establecer el momento óptimo de pasificación de las uvas a partir de dos factores, el contenido en azúcar y la composición volátil.

■ Objetivos

- 1) Caracterizar la pasificación de uvas blancas Pedro Ximénez en base a las variables enológicas y la composición volátil.
- 2) Relacionar la composición volátil determinada por CG-EM con los datos aportados por la nariz electrónica.
- 3) Estudiar la viabilidad de la pasificación de uvas tintas Tempranillo.

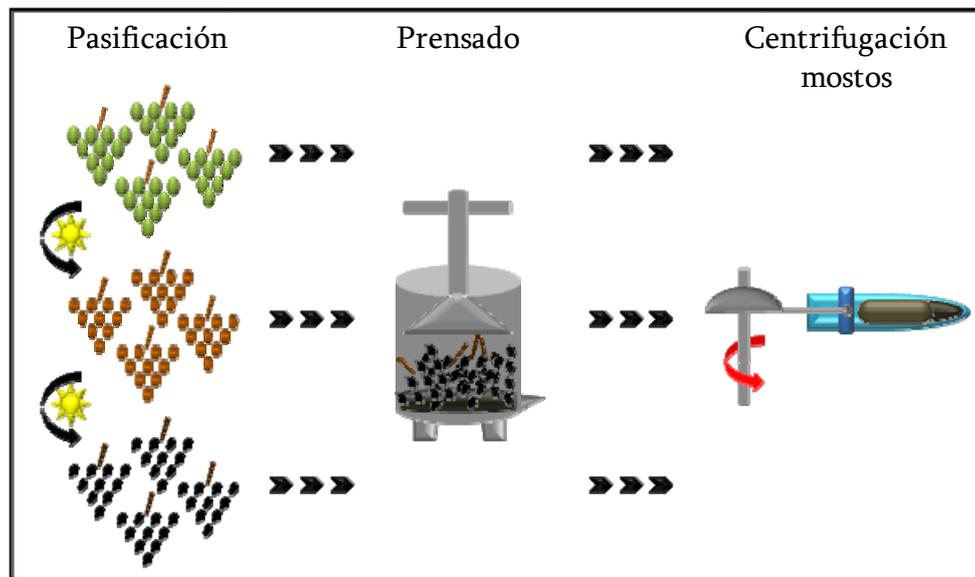
Artículos publicados (Anexo I.a)

López de Lerma, N.; Bellincontro, A.; Mencarelli, F.; Moreno, J.; Peinado, R.A.
Use of electronic nose, validated by GC-MS, to establish the optimum
off-vine dehydration time of wine grapes. Food Chemistry, 130, 447-452.
2012.

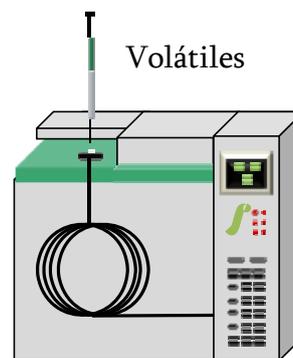
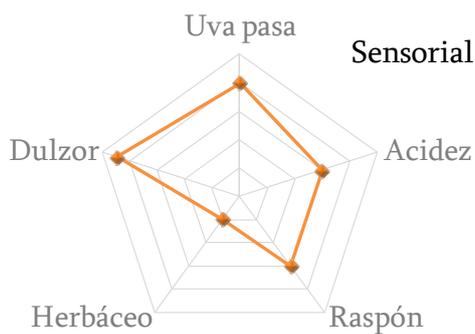
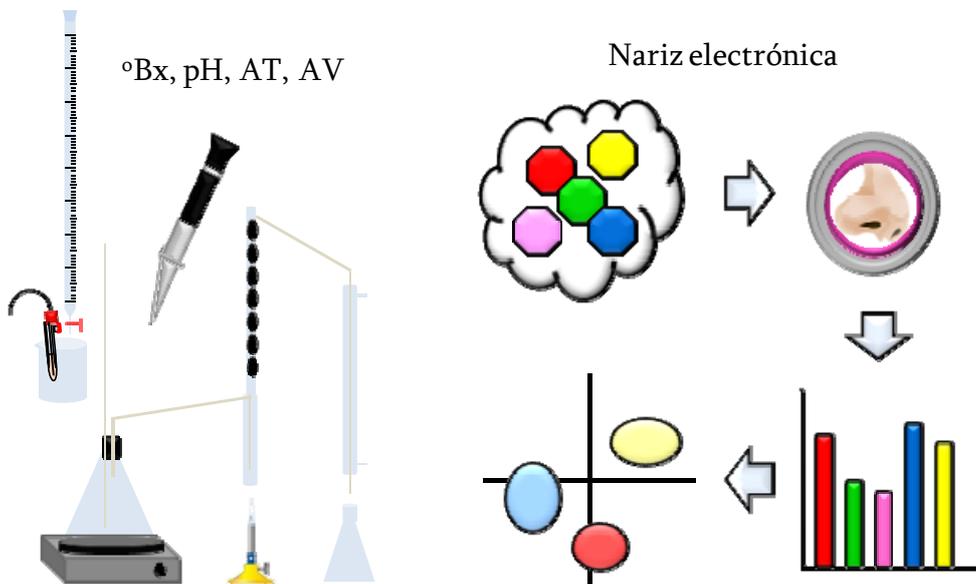
Artículos pendientes de publicación (Anexo I.b)

López de Lerma, N. y Peinado, R.A. Volatile composition of must from
Tempranillo grapes throughout the sun drying process. Relation with E-
nose analysis.

■ Metodología de trabajo



ANÁLISIS



■ Análisis de resultados

► Pedro Ximénez

Artículo “Use of electronic nose, validated by GC-MS, to establish the optimum off-vine dehydration time of wine grapes”

1. Parámetros enológicos

El grado de deshidratación de la uva Pedro Ximénez no es constante en el tiempo (tabla 1). La pérdida de agua es más rápida al inicio de la pasificación, de forma que se llega al 11% de deshidratación en los dos primeros días, mientras que en los tres últimos tan sólo se deshidrata un 6%. Esta cinética depende del grosor del hollejo y de otras características físicas de la uva (Rolle et al., 2011).

La concentración de sólidos solubles aumenta con el tiempo de pasificación hasta duplicar su contenido inicial (tabla 1). De la misma forma que para la deshidratación, el mayor incremento vuelve a observarse en los dos primeros días y el menor en los tres últimos.

Debido a la deshidratación los iones se van concentrando progresivamente, originando con ello una mayor salificación de los ácidos de la uva. Este efecto da lugar a un aumento tanto del pH como de la acidez titulable (tabla 1). Por otra parte, como consecuencia del estrés hídrico y osmótico sufrido por las células se produce un aumento en la concentración de ácido acético (Caridi et al., 1999), provocando a su vez un incremento en la acidez volátil y la titulable.

2. Compuestos volátiles del aroma

Otra consecuencia del proceso de pasificación es que la estructura celular de la uva se modifica profundamente, dando lugar a la liberación de enzimas cuyo efecto sobre la composición volátil es similar al observado en el

prensado de la uva. En este sentido, se ha observado que el cambio en el metabolismo de la uva de aerobio a anaerobio también tiene una gran influencia en la composición volátil de los mostos (Costantini et al., 2006).

La mayoría de los compuestos volátiles aumenta su concentración durante la pasificación (tabla 2). Por el contrario, algunos compuestos relacionados con los aromas herbáceos disminuyen. Estos aromas se forman por la oxidación de los ácidos linoleico y linolénico (Ribéreau-Gayon et al., 2003; Moreno y Peinado, 2010) y la evolución de sus contenidos se ha relacionado con el cambio de metabolismo aeróbico a anaeróbico (Costantini et al., 2006; Chkaiban et al., 2007).

Dentro del grupo de volátiles que aumenta su concentración, casi la totalidad alcanza su contenido máximo entre los cuatro y seis días de pasificación, siendo los compuestos isobutanol, alcoholes isoamílicos, 2-feniletanol, 1-pentanol, alcohol bencílico, lactato de etilo y 1,1-dietoxietano los que más aumentan al final del proceso en relación con su contenido inicial (tabla 2).

El elevado número de compuestos volátiles determinado así como las variaciones en su concentración, hacen que sea difícil clasificar las muestras en función de las concentraciones individuales. Por el contrario, el análisis de conglomerados de los volátiles agrupados en familias químicas (figura 1), evidencia de forma muy clara la existencia de diferencias entre las muestras obtenidas al inicio de la pasificación (0 y 2 días) y el resto. A su vez, las muestras con 4 y 6 días de deshidratación guardan mayor similitud entre sí que con la muestra tomada a los 9 días. Posiblemente, las diferencias observadas entre muestras al inicio y al final del proceso se deban a la transición del metabolismo aerobio a anaerobio.

Por otro lado, los compuestos volátiles se han agrupado en base a sus descriptores del aroma en siete series aromáticas: química, floral, fruta madura,

grasa, láctea, tostada y herbácea. El estudio de los valores relativos de dichas series pone de manifiesto que mientras la serie herbácea disminuye, por la menor actividad lipooxigenasa, el resto aumenta su valor en relación al punto cero de pasificación (figura 2). Destacan las series fruta madura y láctea, que alcanzan su máximo al cuarto día, momento a partir del cual superan a la serie herbácea. Sobresale el hecho de que el valor de las series aromáticas disminuye entre los días 6 y 9. En este punto, debemos tener en cuenta que el parámetro utilizado habitualmente por los enólogos para controlar la pasificación es el contenido en azúcares. Dado que éste aumenta sólo alrededor de 40 g/L en el último estadio del proceso (tabla 1) y que además hay una disminución en el valor de las series aromáticas, podíamos pensar que el tiempo óptimo de pasificación se alcanza cuando el porcentaje de deshidratación ronda el 26%.

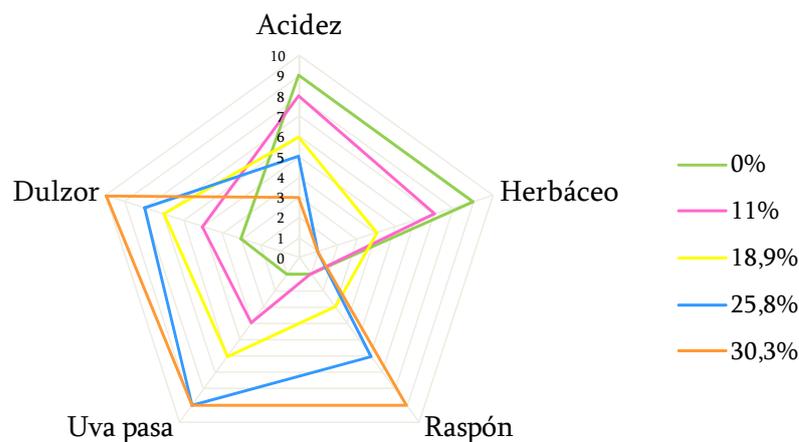
3. Nariz electrónica

Los mostos también se han analizado con la nariz electrónica y los resultados han sido sometidos a un análisis discriminante que los ha clasificado en base al tiempo de pasificación, con dos funciones que explican un 97% de la variabilidad (tabla 3 y figura 3). Con objeto de relacionar los resultados obtenidos por nariz electrónica con la composición volátil de los mostos se han efectuado dos análisis de regresión múltiple. En ambos como variable independiente se han utilizado los centroides de los distintos días de pasificación obtenidos en el análisis discriminante. Como variables dependientes en el primer caso se han utilizado las familias químicas (tabla 4), y en el segundo las series aromáticas que mejor se ajustan al modelo (fruta madura, floral, láctea y herbácea) (tabla 5). En los dos análisis el valor-p del modelo es inferior a 0,05 por lo que se puede afirmar que existe una relación significativa con un nivel de confianza del 95%. El estadístico R-cuadrado indica que ambos modelos explican más de un 99% de la variabilidad asociada al porcentaje de deshidratación. Ambos casos ponen de manifiesto que se puede establecer una

relación entre los datos aportados por la nariz electrónica y la composición volátil de los mostos.

4. Análisis organoléptico

El análisis organoléptico se ha realizado en base a cinco parámetros que caracterizan a los mostos de uvas pasificadas: acidez, dulzor, aroma herbáceo, a uva pasa y a raspón. Como se muestra en el gráfico adjunto, los mostos de uvas hasta el 11% de deshidratación son ácidos y con aromas herbáceos. Los mostos de uvas deshidratadas un 18,9%, aunque menos ácidos, todavía no han alcanzado el dulzor típico atribuido a mostos de uvas pasificadas. Los mostos de uvas Pedro Ximénez con un 25,8% de deshidratación poseen un buen equilibrio acidez-dulzor y características notas de uva pasa y raspón. Por último, los mostos de uvas deshidratadas hasta el 30,3% resultan poco ácidos y muy dulces.



► Tempranillo

Artículo “Volatile composition of must from Tempranillo grapes throughout the sun drying process. Relation with E-nose analysis”

1. Parámetros enológicos

Al igual que ocurre con la variedad Pedro Ximénez, la pasificación de la uva tinta Tempranillo no es homogénea en el tiempo aunque por el contrario,

la deshidratación es más rápida conforme avanzan los días, siendo de un 13,66% a los 8 días y de un 38,10% a los 13 (tabla 1). Este comportamiento opuesto se debe a las diferencias en las características físicas del hollejo (Rolle et al., 2011), más grueso en Tempranillo.

La tendencia de los parámetros enológicos durante la deshidratación de Tempranillo es similar a la observada para Pedro Ximénez. El contenido en sólidos solubles al final de la pasificación duplica el inicial, siendo el incremento más acusado a partir del octavo día (tabla 1). El pH aumenta en ambas variedades en 0,59 unidades, sin embargo, la acidez total alcanza un valor muy superior en Tempranillo. Este hecho puede explicarse por varias causas: i) por su mayor porcentaje de deshidratación, ii) por su mayor valor de acidez volátil, que afecta al de acidez titulable y iii) por su mayor capacidad de acumular potasio (Ruiz-Hernández, 2001), el cual disminuye la degradación del ácido málico influyendo al valor de acidez titulable.

En esta variedad se observa un aumento significativo del contenido en glicerol a partir de los 8 días de pasificación (tabla 1), sintetizado en respuesta al estrés, siendo además un indicador de la transición del metabolismo aerobio a anaerobio. Un aumento en la producción de glicerol origina una necesidad de NADH, la cual es parcialmente satisfecha por un aumento en la oxidación de acetaldehído a ácido acético (Moreno y Peinado, 2010), lo que se refleja en el alto valor de acidez volátil. Otros compuestos implicados en mantener el equilibrio redox son la acetoína y la 2,3-butanodiona los cuales alcanzan concentraciones muy elevadas al final de la pasificación.

2. Compuestos volátiles del aroma

Entre los volátiles analizados únicamente el 3-etoxi-1-propanol y el metionol presentan contenidos similares al final y al inicio del proceso (tabla 2). Los alcoholes y aldehídos de seis átomos de carbono disminuyen sus

contenidos a partir del quinto u octavo día de pasificación, y sólo el hexenal lo hace de forma continua desde el inicio. Como ya se ha comentado, la síntesis de estos compuestos está relacionada con la actividad de la enzima lipooxigenasa (Moreno y Peinado 2010), cuya actividad aumenta con el estrés hídrico pero disminuye cuando el porcentaje de deshidratación alcanza el 11% (Costantini et al. 2006; Chkaiban et al., 2007). La formación de los fenoles volátiles se ha relacionado con la liberación de enzimas implicadas en la degradación de la pared celular (Ganga et al., 2001), y con el metabolismo anaeróbico de la uva (Flanzy, Flanzy y Benard 2010). Destaca el aumento en alcoholes superiores, el cual tiene relación con los procesos de muerte celular (Santonico et al., 2010) y con el mayor catabolismo de aminoácidos y proteínas debido al estrés hídrico (Davies y Robinson 2000; Bellincontro et al., 2004). En definitiva, la concentración de los compuestos volátiles depende en gran medida del cambio de metabolismo aerobio a anaerobio y de los procesos asociados.

Al agrupar los compuestos volátiles en función de sus descriptores del aroma se obtienen nueve series aromáticas: química, fruta madura, grasa, láctea, floral, hierba fresca, tostada, hierba seca y especiada (figura 1). La serie hierba fresca experimenta un descenso durante la pasificación, mientras que el resto aumenta alcanzando su máximo bien a los once días, bien a los trece días. La serie fruta madura es la que alcanza el valor más elevado y lo hace a los 11 días. A los 13 días destaca el aumento de las series hierba seca y especiada.

El análisis de conglomerados realizado según el método de Ward, utilizando como variables clasificadoras las series aromáticas, distingue los mostos de uvas deshidratadas por debajo del 14% del resto (figura 2). Esta diferencia es posible que coincida con el cambio del metabolismo aeróbico a anaeróbico.

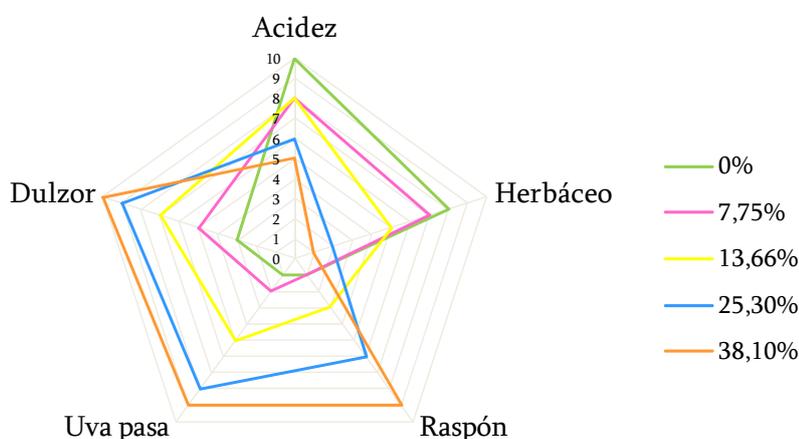
El análisis de componentes principales, tomando como variables clasificadoras las series aromáticas, apoya estos resultados y además establece que la serie hierba fresca es la más influyente en la diferenciación de los mostos de uvas sin pasificar y deshidratadas hasta un 13,66% (figura 3). El mosto de uvas con un 25,3% de deshidratación está influenciado por las series fruta madura y láctea, mientras que el de uvas deshidratadas hasta un 38,10% lo está por las series hierba seca, especiada y floral.

3. Nariz electrónica

Por último, los datos del análisis mediante nariz electrónica de los mostos de uvas Pedro Ximénez pasificadas se han relacionado con los valores de las series aromáticas fruta madura, floral y herbácea de Tempranillo a través de un análisis de regresión múltiple, ajustándose el modelo en un 99,27% (tabla 3).

4. Análisis organoléptico

El análisis organoléptico de los mostos de uvas Tempranillo pasificadas, según el gráfico adjunto, arroja unos resultados similares a los obtenidos para Pedro Ximénez, siendo los mostos de uvas con un porcentaje de deshidratación del 25,3% los que poseen el mejor equilibrio acidez-dulzor y aromas característicos de la pasificación.



■ Conclusiones

- La variedad tinta Tempranillo se adapta perfectamente al proceso de pasificación, mostrando un comportamiento similar al de Pedro Ximénez pero con particularidades propias de la variedad.

- Durante la deshidratación de las uvas se produce una modificación en la composición volátil que se traduce, básicamente, en un descenso del aroma herbáceo y en un aumento del aroma a fruta madura.

- Los datos aportados por la nariz electrónica muestran una relación con la composición volátil de los mostos y, por tanto podría emplearse como herramienta de gran rapidez analítica para el seguimiento de la pasificación.

- La valoración organoléptica junto con la composición volátil sugieren que el momento óptimo de la pasificación podría coincidir con un porcentaje de deshidratación alrededor del 25%-26%.

■ Alcance y contribución del capítulo

La caracterización de la pasificación permite determinar los procesos particulares que tienen lugar en las uvas, de modo que se pueden diferenciar claramente de los ocurridos con otros métodos también encaminados a aumentar la concentración de azúcar de los mostos. Además, aporta un conocimiento de vital importancia a la hora de controlar y optimizar la técnica. Es aquí donde se ha visto que un punto de mejora podría ser pasificar la uva hasta aproximadamente un 25%-26% de deshidratación, en lugar de alcanzar valores superiores al 30% como se viene practicando de forma habitual. Con ello se conseguiría un mayor rendimiento en mosto por kilogramo de uva pasificada sin que existiera una disminución de la calidad aromática. Por su parte, la nariz electrónica proporciona una herramienta rápida y sencilla para

controlar la pasificación ya que los datos aportados por esta están relacionados con la composición volátil de la uva.

Los buenos resultados obtenidos en la variedad Tempranillo ofrecen la posibilidad de elaborar vinos dulces por el método tradicional con lo que se daría salida al actual excedente de producción en la zona de estudio.

■ Perspectivas futuras

Los ensayos realizados con la variedad Tempranillo podrían extenderse a otras variedades tintas e incluso a las blancas recientemente autorizadas en el nuevo reglamento de la D.O.P. Montilla-Moriles.

Debido a la capacidad mostrada por la nariz electrónica se quiere confirmar mediante un estudio más amplio la relación existente entre la composición volátil de los mostos y los datos ofrecidos por la nariz electrónica, con objeto de que se pueda implantar como una herramienta de trabajo rutinara y de fácil manejo en las bodegas productoras de mostos de uvas pasificadas.

■ Bibliografía

Bellincontro, A.; De Santis, D.; Botondi, R.; Villa, I.; Mencarelli F. Different postharvest dehydration rate affects quality characteristics and volatile compounds of Malvasia, Trebbiano and Sangiovese grapes for wine production. *Journal of the Science and Food Agriculture*, 84, 1791-1800. 2004.

Caridi, A.; Crucitti, P.; & Ramondino, D. Winemaking of must at high osmotic strength by thermotolerant yeast. *Biotechnology Letters*, 21, 617-620. 1999.

- Chkaiban, L.; Botondi, R.; Bellincontro, A.; De Santis, D.; Kefalas, P.; Mencarelli, F. Influence of postharvest water stress on lipoxygenase and alcohol dehydrogenase activities, and on the composition of some volatile compounds of Gewürztraminer grapes dehydrated under controlled and uncontrolled thermohygro-metric conditions. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 13, 142–149. 2007.
- Costantini, V.; Bellincontro, A.; De Santis, D.; Botondi, R.; Mencarelli, F. Metabolic changes of Malvasia grapes for wine production during postharvest drying. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 3334-3340. 2006.
- Davies, C.; Robinson S. P. Differential screening indicates a dramatic change in mRNA profiles during grape berry ripening. Cloning and characterization of cDNAs encoding putative cell wall and stress response proteins. *Plant Physiology*, 122, 803-812. 2000.
- Flanzy, C.; Flanzy, M.; Benard, P. La Vinificación por maceración carbónica (2nd ed.). Madrid: AMV. 2010.
- Ganga, A.; Piñaga, F.; Querol, A.; Vallés, S.; Ramón, D. Cell-Wall Degrading Enzymes in the Release of Grape Aroma Precursors. *Food Science and Technology International*, 7, 83-87. 2001.
- Moreno, J. y Peinado, R.A. Química Enológica. AMV ediciones. Madrid. 2010.
- Ribéreau-Gayon, P.; Dubourdieu, D.; Donèche, B.; Lonvaud, A. La vendemmia y la transformación de la uva después de la cosecha. In Tratado de enología. Microbiología del Vino. Vinificaciones. Mundi-Prensa. Buenos Aires. 2003.
- Rolle, L.; Caudana, A.; Giacosa, S.; Gerbi, V.; Río Segade S. Influence of skin hardness on dehydration kinetics of wine grapes. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91, 505-511. 2011.

Ruiz-Hernández, M. Las variedades de vid y la calidad de los vinos. (1st ed)

Madrid: AMV-Mundi Prensa. 2001.

Santonico, M.; Bellincontro, A.; De Santis, D.; Natale, C.; Mencarelli, F.

Electronic nose to study postharvest dehydration of wine grapes. Food Chemistry, 121, 789-796. 2010.

López de Lerma, N.; Bellincontro, A.; Mencarelli, F.; Moreno, J. & Peinado, R.A. Use of electronic nose, validated by GC-MS, to establish the optimum off-vine dehydration time of wine grapes. *Food Chemistry*, 130, 447-452. 2012.

López de Lerma, N. y Peinado, R.A. Volatile composition of must from Tempranillo grapes throughout the sun drying process. Relation with E-nose analysis.

CAPÍTULO 2

CARACTERIZACIÓN FENÓLICA Y ANTIOXIDANTE DE LAS UVAS DURANTE SU PASIFICACIÓN



■ Hipótesis

Las uvas pasificadas son ricas en compuestos fenólicos por lo que pueden poseer una elevada actividad antioxidante.

■ Objetivos

- 1) Estudiar la evolución del contenido fenólico y de la actividad antioxidante *in vitro* de las uvas y de las fracciones fenólicas obtenidas durante su pasificación.
- 2) Ensayar *in vivo* la actividad antioxidante de las uvas durante su pasificación.

Artículos publicados (Anexo II.a)

Peinado, J.; López de Lerma, N.; Moreno, J.; Peinado, R.A. Antioxidant activity of different phenolics fractions isolated in must from Pedro Ximenez grapes at different stages of the off-vine drying process. *Food Chemistry*. 114, 1050-1055. 2009.

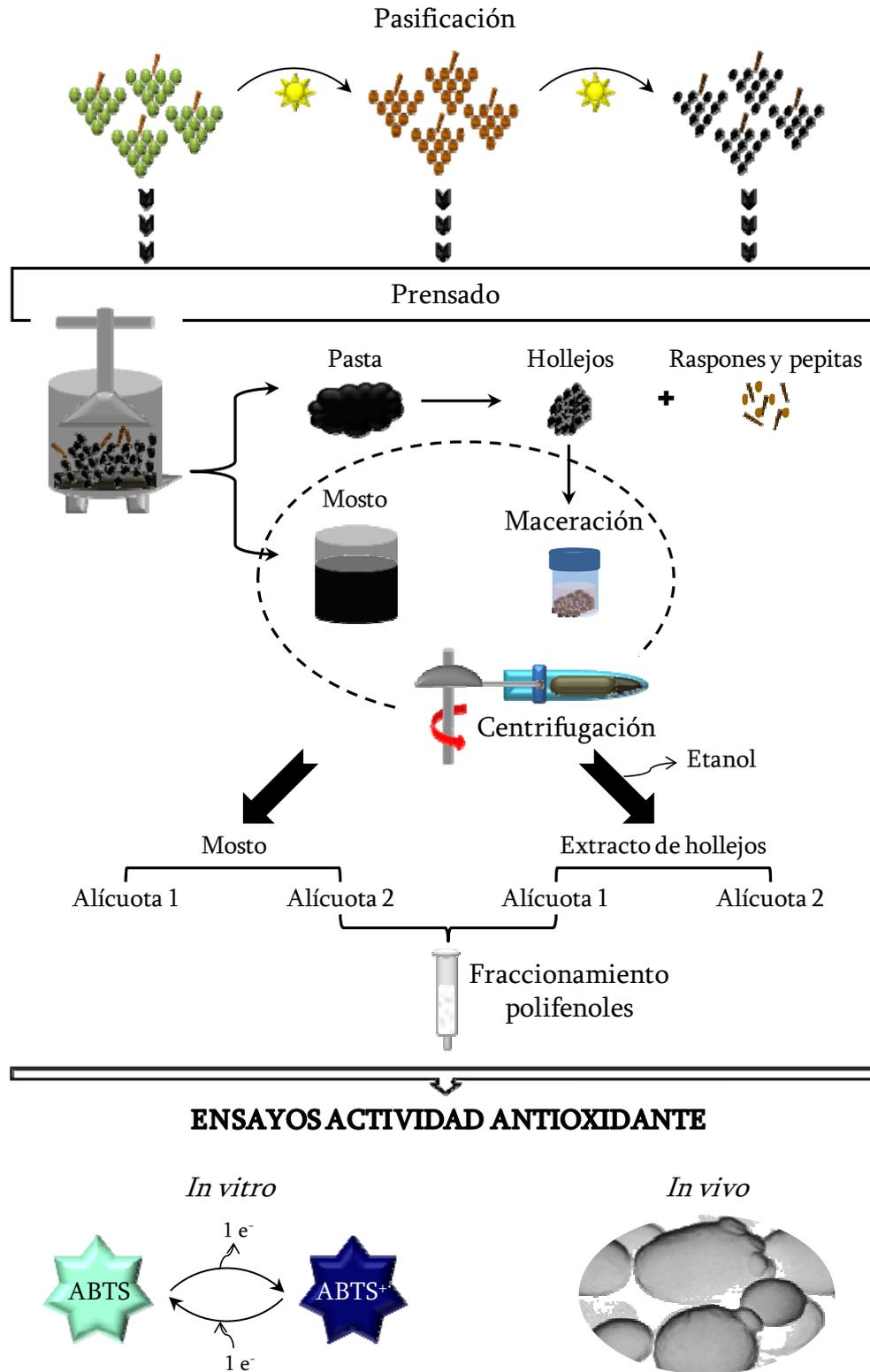
Peinado, J.; López de Lerma, N. y Peinado, R.A. Synergistic antioxidant interaction between sugars and phenolics from a sweet wine. *European Food Research and Technology*. 231, 363-370. 2010.

Artículos pendientes de publicación (Anexo II.b)

Peinado, J.; López de Lerma, N.; de Castro, C.; McDonagh, B. Phenolics from dried Pedro Ximénez grapes protect yeast cells against oxidative stress and increase cell survival.

López de Lerma, N.; Peinado, J.; Peinado, R.A. Actividad antioxidante *in vitro* e *in vivo* de mostos, hollejos y sus fracciones fenólicas de uvas Tempranillo pasificadas.

■ Metodología de trabajo



■ Análisis de resultados

► Pedro Ximénez

Artículo 1 “Antioxidant activity of different phenolics fractions isolated in must from Pedro Ximénez grapes at different stages of the off-vine drying process”

Artículo 2 “Synergistic antioxidant interaction between sugars and phenolics from a sweet wine”

Artículo 3 “Phenolics from dried Pedro Ximénez grapes protect yeast cells against oxidative stress and increase cell survival”

1. Contenido fenólico y actividad antioxidante *in vitro*

a) Muestras sin fraccionar

Durante la deshidratación de las uvas Pedro Ximénez se produce un aumento del contenido en compuestos fenólicos de los mostos, sobre todo a partir de los 3 días de pasificación (tabla 1 artículo 1). Esto se debe fundamentalmente a tres factores, el primero es el efecto de concentración por la pérdida de agua. Otro factor es el fenómeno de difusión de los polifenoles del hollejo hacia la pulpa, que se ve favorecido por la pérdida de estructura y posterior muerte de las células del hollejo (Bellicontro et al., 2009). El tercero es la síntesis de nuevos compuestos fenólicos en respuesta a diversos agentes de estrés abiótico como la elevada temperatura, la progresiva concentración de los azúcares y la radiación ultravioleta (Brovillard et al., 1997). Esta síntesis se ha relacionado con un aumento en la expresión de los genes que intervienen en el metabolismo fenilpropanoide, lo cual genera gran cantidad de precursores de los distintos tipos de compuestos fenólicos (Mencarelli et al., 2010; Zamboni et al., 2008).

La actividad antioxidante de los mostos también aumenta a lo largo de la pasificación, en mayor medida a partir de los 3 días, lo que podría

relacionarse con el aumento en el contenido fenólico (tabla 1 artículo 1) (Parker et al., 2007). No obstante, Moreno et al., (2007) sugieren que los productos de la reacción de Maillard formados durante la pasificación contribuyen también a este incremento de la actividad antioxidante.

La actividad antioxidante también se ha evaluado a través de ensayos consistentes en medir la protección que ejercen los mostos frente a la oxidación de distintas biomoléculas, como ADN, lípidos, azúcares o proteínas. Estos ensayos han puesto de manifiesto que los mostos de uvas Pedro Ximénez protegen de la oxidación por el radical hidroxilo al ADN (figura 5 artículo 2) o a la desoxirribosa (figura 4 artículo 2). También se ha comprobado que inhiben la acción del radical linoil-hidroperoxilo sobre el β -caroteno (figura 3 artículo 2). Por último, los mostos provocan una menor glicosilación de la albúmina de suero bovino que si se emplea una concentración de azúcar similar a la presente en mostos, lo cual indica el efecto protector de los compuestos fenólicos (tabla 2 artículo 2).

b) Muestras fraccionadas

En mostos de uvas sin pasificar, la fracción I (ácidos fenólicos y compuestos polares) es la que posee mayor contenido fenólico y mayor actividad antioxidante (figura 3.A artículo 1). A los 3 días de pasificación son las fracciones I y III (catequinas y procianidinas de bajo peso molecular) (figura 3.B artículo 1). En el caso de la fracción I se ha observado un incremento en el contenido de los ácidos *c*-caftárico, cafeico y ferúlico, y en la fracción III de procianidina B2 y epicatequina (tabla 1 artículo 2). La mayor actividad de la enzima polifenoloxidasas, responsable de reacciones de oxidación/polimerización, en estadios intermedios de pasificación (Mencarelli et al., 2010; Zamboni et al., 2008) podría tener relación con el aumento del contenido fenólico observado en la fracción IV (procianidinas poliméricas) a los 7 días, lo que a su vez contribuye a su elevada actividad antioxidante (figura

3.C artículo 1). No obstante, en este último punto, la fracción III es la que más actividad antioxidante posee por unidad de concentración de compuesto fenólico. Este mismo comportamiento ha sido descrito por Ruso et al., (2001).

Entre mostos y hollejos a los 7 días de pasificación existen diferencias: mientras que la fracción III posee en los mostos más actividad antioxidante por unidad de concentración, la fracción IV lo hace en los hollejos (figura 3.D artículo 1). Así se pone de manifiesto la relación entre la actividad antioxidante de los compuestos fenólicos y su estructura, más que con su contenido (Kaˆhkoˆnen et al., 1999; Satue-Gracia et al., 1997).

2. Actividad antioxidante *in vivo*

Para estudiar la actividad antioxidante *in vivo* de los mostos de uvas Pedro Ximénez se han realizado diversos ensayos consistentes en someter a cepas MML44 de levaduras *Saccharomyces cerevisiae* a estrés oxidativo con H₂O₂.

En el primero se ha utilizado el marcador 2,7-diclorofluoresceína que emite fluorescencia cuando se oxida. Las levaduras muestran una tasa de oxidación basal que se ve incrementada en presencia de H₂O₂ (figura 1A artículo 3). La adición a las levaduras durante su crecimiento del extracto fenólico de uvas pasificadas disminuye la señal fluorescente como consecuencia de una menor oxidación basal (figura 1A artículo 3) y de la protección frente al estrés oxidativo creado por el H₂O₂ (figura 1B artículo 3). Este efecto es dependiente de la concentración de polifenoles (figura 2A artículo 3) y de la concentración de peróxido de hidrógeno (figura 2B artículo 3).

En el segundo ensayo se ha visto que la proporción de proteínas oxidadas en levaduras aumenta en presencia de H₂O₂ y que el extracto fenólico de los mostos de uvas Pedro Ximénez pasificadas protege de esta oxidación (figura 3 artículo 3).

En la última prueba se ha medido el efecto del extracto fenólico de los mostos de uvas pasificadas en la supervivencia de levaduras sometidas a estrés oxidativo, aumentando ésta considerablemente si las levaduras se crecen en presencia de mostos (figura 4 artículo 3). Este efecto es dependiente de la concentración de fenólicos añadidos y del tiempo de incubación con los mismos.

► **Tempranillo**

Artículo “Actividad antioxidante in vitro e in vivo de mostos, hollejos y sus fracciones fenólicas de uvas Tempranillo pasificadas”

1. Contenido fenólico y actividad antioxidante *in vitro*

a) Muestras sin fraccionar

La pauta seguida por la composición fenólica y la actividad antioxidante de la variedad Tempranillo durante su pasificación es similar a la descrita para las uvas Pedro Ximénez. Hay que destacar que la variedad tinta supera en términos de concentración fenólica y de actividad antioxidante a Pedro Ximénez, diferencia que se va acentuando a medida que avanza la pasificación.

El contenido en compuestos fenólicos del mosto aumenta con la pasificación (tabla 2), sobre todo en los primeros estadios por la mayor actividad del metabolismo fenilpropanoide (Mencareli et al., 2010; Zamboni et al., 2008), por el efecto de concentración y por la difusión de fenoles del hollejo. Este último hecho justificaría, en parte, la disminución paralela observada en los hollejos.

Igualmente, mientras que la actividad antioxidante aumenta en los mostos disminuye en los hollejos (tabla 2). Destaca sin embargo, que la relación actividad antioxidante/concentración de compuestos fenólicos se incrementa en ambas muestras a partir del día 8 de pasificación. Este hecho podría deberse

a que los polifenoles presentes al final del proceso poseen mayor capacidad antioxidante.

Para comparar la concentración de compuestos fenólicos y la actividad antioxidante entre mostos y hollejos, las dos variables se han expresado por kg de uva (figura 1). Al principio de la pasificación el contenido fenólico aumenta en ambas muestras, posiblemente por efecto de los fenómenos de concentración y síntesis en respuesta al estrés hídrico y térmico. A partir de los 8 días (13,7% deshidratación) de pasificación dicho contenido disminuye en los hollejos y aumenta en los mostos, debido probablemente a la difusión de los polifenoles. La actividad antioxidante de mostos y hollejos sigue tendencias opuestas desde el inicio, aumentando en los primeros y disminuyendo en los segundos. Destaca que los valores de actividad antioxidante de hollejos superan a los de los mostos, aun cuando el contenido en compuestos fenólicos llegue a ser inferior. Este hecho confirma que la respuesta antioxidante de los polifenoles depende más de su estructura química que de su concentración total (Kaˆhkoˆnen et al., 1999; Satue-Gracia et al., 1997).

b) Muestras fraccionadas

En las fracciones obtenidas de los mostos (figura 2), se observa un claro incremento del contenido fenólico a lo largo de la pasificación, a excepción de la fracción IV (procianidinas poliméricas y pigmentos poliméricos) que disminuye al final de la misma. La fracción V (antocianos) es la que muestra el mayor incremento en relación a su valor inicial. La concentración de antocianos depende de distintos factores: 1) mecanismos bioquímicos de respuesta al etileno (Rizzini et al., 2009); 2) regeneración de algunos compuestos con elevada capacidad antioxidante como la malvidina-3-glucósido y, en menor extensión de la peonidina-3-gluósido, a partir de la catequina (Rossetto et al., 2002); 3) mayor expresión del gen responsable de la síntesis de la dihidroflavonol reductasa, (Gallop et al., 2002).

Los valores de actividad antioxidante muestran una evolución similar a la descrita para el contenido fenólico de las fracciones (figura 2). Las que más contribuyen a la capacidad antioxidante de los mostos son las fracciones V y IV, respectivamente. Ambas fracciones son las que presentan mayores valores en la relación actividad antioxidante por gramo de compuesto fenólico.

Al contrario de lo observado en los mostos, el contenido fenólico de las fracciones de los hollejos disminuye con la pasificación por los fenómenos de difusión (figura 3) (Mencarelli et al., 2010). Lo mismo ocurre con la actividad antioxidante, siendo la fracción de los antocianos la que contribuye en mayor medida. La relación actividad antioxidante/concentración de compuestos fenólicos de la fracción II (catequinas y procianidinas de bajo peso molecular) aumenta durante la pasificación, probablemente por una mayor proporción de procianidinas, en especial la B2, con gran correlación con la actividad antioxidante (Scola et al., 2010). Este parámetro disminuye en la fracción V hasta el día 11 de pasificación, y aumenta hasta el final, lo que podría deberse a una mayor concentración de antocianos como la malvidina y la peonidina, con elevada capacidad antioxidante (Rossetto et al., 2002). De forma paralela podría aumentar la proporción de pigmentos poliméricos, explicándose así la mayor actividad antioxidante por unidad de concentración de compuesto fenólico de la fracción IV al final de la pasificación.

2. Actividad antioxidante *in vivo*

Los resultados para los ensayos *in vivo* con cepas MML44 de levaduras *Saccharomyces cerevisiae* sometidas a estrés oxidativo con H₂O₂, ponen de manifiesto que la preincubación de las células con los mostos y extractos de hollejos de uvas Tempranillo pasificadas confiere un claro efecto protector. En el caso de los mostos se observa más protección a los 13 días, al detectarse una menor proporción de proteínas oxidadas (figura 4) y una mayor supervivencia de las células (figura 5). En el caso de los hollejos la mayor supervivencia

también se observa con los extractos obtenidos a los 13 días y la menor a los 5 y 8 días (figura 5). Estos hechos son acordes con los valores de las respectivas relaciones actividad antioxidante/concentración de compuestos fenólicos.

■ Conclusiones

- La pasificación de las uvas provoca un cambio tanto en el contenido como en la composición de los compuestos fenólicos que se refleja en la actividad antioxidante, aumentando ésta en los mostos y disminuyendo en los hollejos. No obstante, la actividad antioxidante de los hollejos siempre es mayor que la de los mostos.

- La actividad antioxidante de las uvas Pedro Ximénez pasificadas se debe en mayor medida a las procianidinas poliméricas, aunque en mostos son las catequinas y procianidinas de bajo peso molecular las que poseen mayor capacidad antioxidante por gramo.

- Para la variedad Tempranillo pasificada son los antocianos los que más influyen en la actividad antioxidante.

- Los ensayos *in vivo* demuestran que las uvas pasificadas disminuyen la oxidación basal en levaduras y además las protegen del estrés oxidativo inducido.

■ Alcance y contribución del capítulo

Los resultados derivados de los ensayos *in vitro* e *in vivo* de la actividad antioxidante de uvas pasificadas han puesto de manifiesto las propiedades antioxidantes que posee el mosto a partir del que se elabora el vino dulce.

Además, existe la posibilidad de aprovechar los hollejos, un subproducto de la elaboración de este tipo de vinos, como fuente natural de antioxidantes en

la industria vitivinícola o en otras como la agroalimentaria, farmacéutica y cosmética.

■ Perspectivas futuras

En base a las conclusiones obtenidas está prevista la realización de una serie de experimentos para continuar investigando el potencial antioxidante de las uvas pasificadas al sol.

Uno de ellos consistirá en obtener un extracto etanólico rico en actividad antioxidante a partir de los hollejos de uvas pasificadas, para utilizarlo en la operación de encabezado típica de la elaboración de vinos dulces en la zona Montilla-Moriles. Se obtendrá así un vino dulce con elevada capacidad antioxidante, quedando por determinar cómo podría afectar este hecho a las características organolépticas.

También se pretenden realizar ensayos *in vivo* con levaduras con cada una de las fracciones fenólicas de mostos y hollejos de uvas pasificadas, para determinar qué fracción es la que posee mayor actividad antioxidante. Se tratará de identificar qué familia de compuestos fenólicos es en mayor medida responsable de dicha actividad.

Por último, se quiere estudiar el efecto antioxidante, antidiabético y antiinflamatorio de los mostos y hollejos de uvas pasificadas en ratones *Mus musculus* macho de la estirpe recombinante consaguínea C57BL/6J DIO (Diet-Induced Obesity).

■ Bibliografía

Bellincontro, A.; Nicoletti, I.; Valentini, M.; Tomas, A.; De Santis, D.; Corradini, D.; Mencarelli, F. Integration of nondestructive techniques with destructive analyses to study postharvest water stress of

- winegrapes. *American Journal of Enology and Viticulture*, 60 (1), 57-65. 2009.
- Brovillard, R.; George, F.; Foungerouse, A. Polyphenols produced during red wine ageing. *Biofactors*, 6(4): 403-10. 1997.
- Gallop, R.; Even, S.; Colova-Tsolova, V.; Perl, A. Expression of the grape dihydroflavonol reductase gene and analysis of its promoter region. *Journal of Experimental Botanic*, 53 (373), 1397-1409. 2002.
- Kaˆhkoˆnen, M.; Hopia, A.; Vuorela, H.; Rauha, J.; Pihlaja, K.; Kujala, T.; Heinonen, M. Antioxidant Activity of Plant Extracts Containing Phenolic Compounds. *Journal Agricultural Food Chemistry*, 47, 3954-3962. 1999.
- Mencarelli, F.; Bellincontro, A.; Nicoletti, I.; Cirilli, M.; Muleo, R.; Corradini, D. Chemical and Biochemical Change of Healthy Phenolic Fractions in Winegrape by Means of Postharvest Dehydration. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 7557-7564. 2010.
- Moreno, J.; Peinado, J.; Peinado, R.A. Antioxidant activity of musts from Pedro Ximenez grapes subjected to off-vine drying process. *Food Chemistry* 104 224-228. 2007.
- Parker, T.L.; Wang, X.H.; Pazmiˆno, J.; Engeseth, N.J. Antioxidant Capacity and Phenolic Content of Grapes, Sun-Dried. Raisins, and Golden Raisins and Their Effect on ex Vivo Serum Antioxidant Capacity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55 (21), 8472-8477. 2007.
- Rizzini, F. M.; Bonghi, C.; Tonutti, P. Postharvest water loss induces marked changes in transcript profiling in skins of winegrape berries. *Postharvest Biology and Technology*, 52, 247-253. 2009.
- Rossetto, M.; Vanzani, P.; Mattivi, F.; Lunelli, M.; Scarpa, M.; Rigo, A. Synergistic antioxidant effect of catechin and malvidin 3-glucoside on

free radical-initiated peroxidation of linoleic acid in micelles. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 408 (2), 239-245. 2002.

Satue-Gracia, M. T.; Heinonen, M.; Frankel, E. N. Antioxidant activity of anthocyanins in LDL and lecithin liposome systems. *Journal Agricultural Food Chemistry*, 45, 3362-3367. 1997.

Scola, G.; Conte, D.; Dalla-Santa Spada, P.W.; Dani, C.; Vanderlinde, R.; Funchal, C.; Salvador, M. Flavan-3-ol Compounds from Wine Wastes with in Vitro and in Vivo Antioxidant Activity. *Nutrients*, 2, 1048-1059. 2010.

Zamboni, A.; Minoia, L.; Ferrarini, A.; Tornielli, G.B.; Zago, E.; Delledonne, M.; Pezzotti, M. Molecular analysis of post-harvest withering in grape by AFLP transcriptional profiling. *Journal of Experimental Botany*, 59, 4145-4159. 2008.

Peinado, J.; López de Lerma, N.; Moreno, J. & Peinado, R.A. Antioxidant activity of different phenolics fractions isolated in must from Pedro Ximenez grapes at different stages of the off-vine drying process. *Food Chemistry*. 114, 1050-1055. 2009.

Peinado, J.; López de Lerma, N. & Peinado, R.A. Synergistic antioxidant interaction between sugars and phenolics from a sweet wine. *European Food Research and Technology*. 231, 363-370. 2010.

ANEXO II.b: artículos pendientes de publicación

Peinado, J.; López de Lerma, N.; de Castro, C.; McDonagh, B. Phenolics from dried Pedro Ximénez grapes protect yeast cells against oxidative stress and increase cell survival.

López de Lerma, N.; Peinado, J.; Peinado, R.A. Actividad antioxidante *in vitro* e *in vivo* de mostos, hollejos y sus fracciones fenólicas de uvas Tempranillo pasificadas.

CAPÍTULO 3

ELABORACIÓN DE VINOS DULCES DE UVAS TEMPRANILLO PASIFICADAS



■ Hipótesis

La fermentación parcial de los mostos de uvas Tempranillo pasificadas puede dar lugar a un vino dulce de mayor complejidad aromática que el elaborado de forma tradicional.

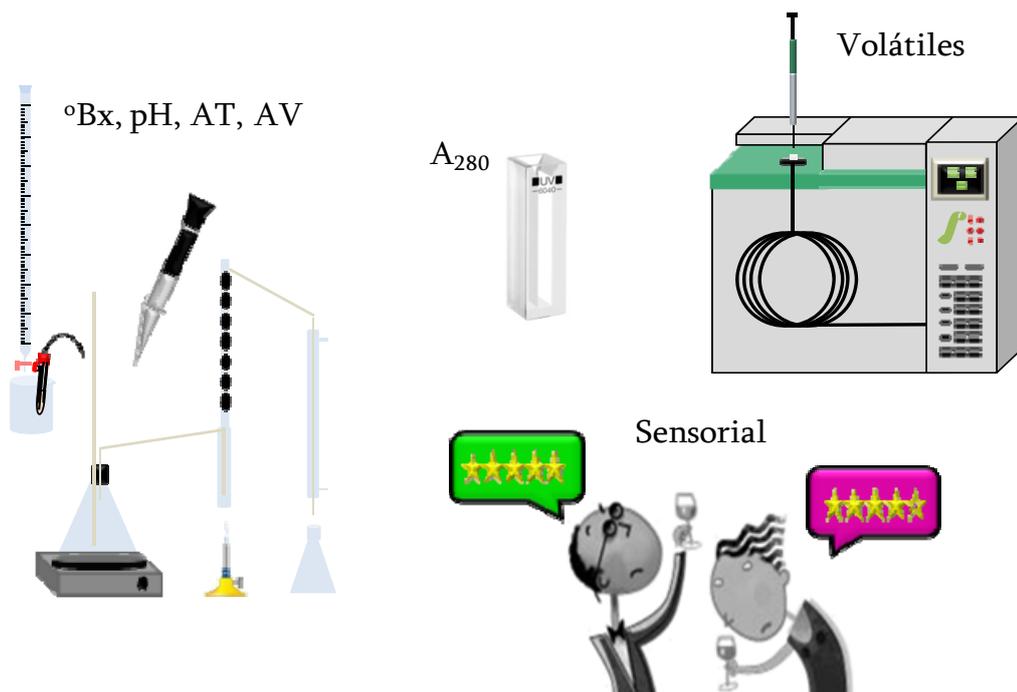
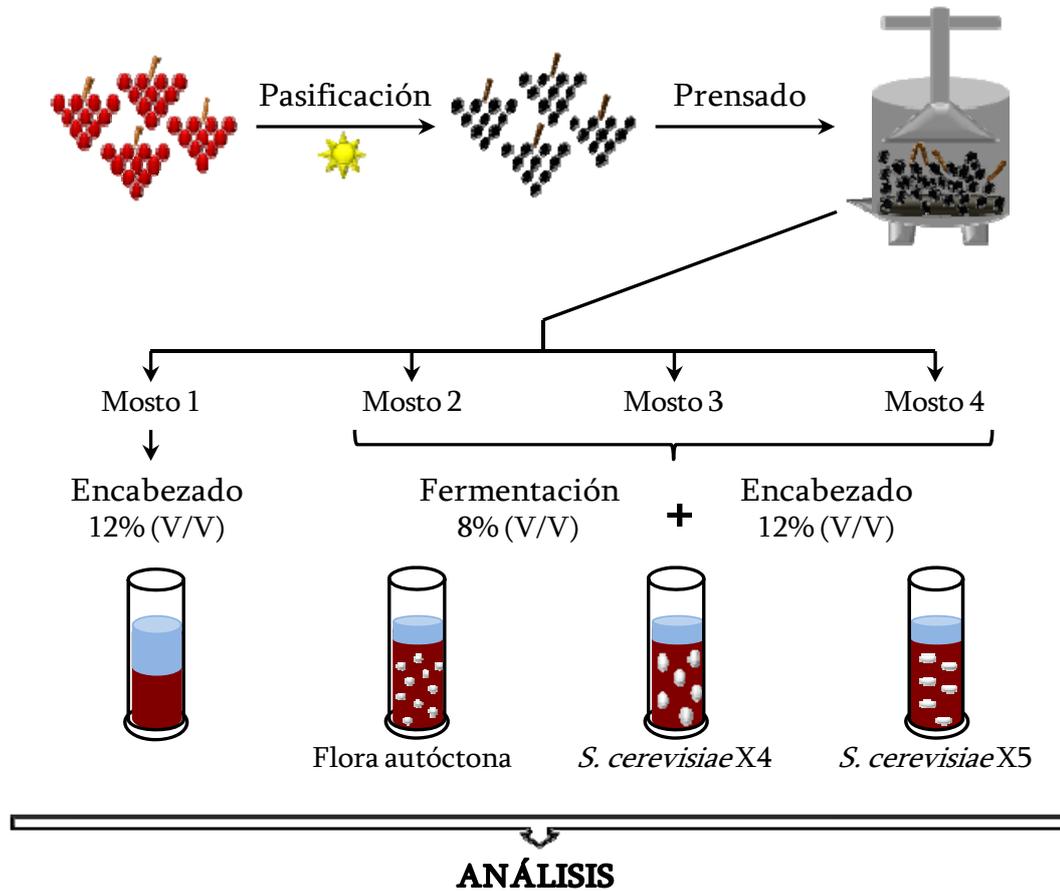
■ Objetivos

- 1) Estudiar la composición volátil de los vinos elaborados de forma tradicional y los vinos elaborados por fermentación parcial.
- 2) Evaluar sensorialmente los vinos dulces obtenidos por ambos métodos de elaboración.

Artículos publicados (Anexo III)

López de Lerma, N. y Peinado, R.A. Use of two osmoethanol tolerant yeast strain to ferment must from Tempranillo dried grapes. *International Journal of Food Microbiology*. 145, 342-348. 2011.

■ Metodología de trabajo



■ Análisis de resultados

Artículo “Use of two osmoethanol tolerant yeast strain to ferment must from Tempranillo dried grapes”

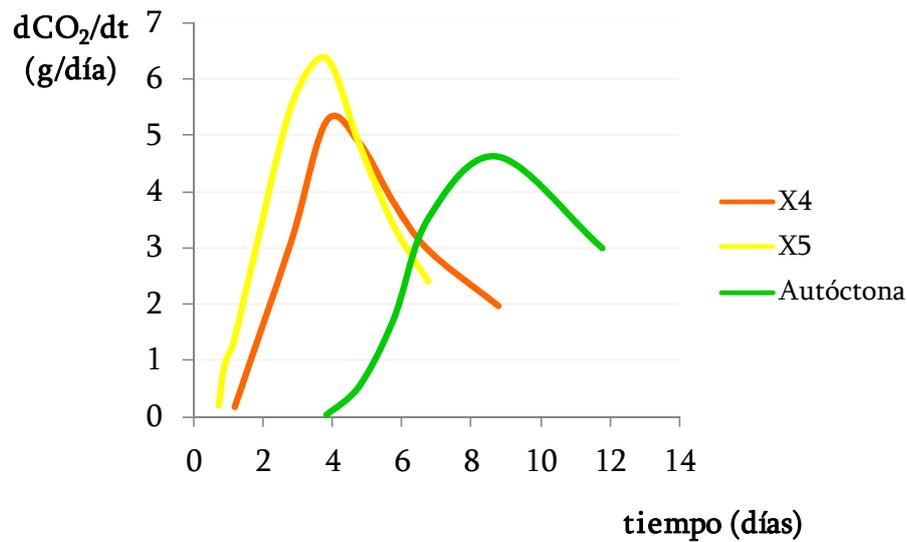
1. Parámetros enológicos

Los vinos elaborados a partir de uvas Tempranillo pasificadas según el método tradicional (Franco et al., 2004), poseen las características analíticas típicas de los vinos dulces de la zona Montilla-Moriles, elevada concentración de azúcares, valores de pH por encima de 4 y baja acidez titulable (tabla 1). Acorde con los resultados obtenidos por García-Martínez et al. (2011), la fermentación parcial hasta 8% de etanol (v/v) da lugar a un aumento de la acidez volátil causado como respuesta al estrés osmótico que sufren las levaduras al encontrarse en un medio fermentativo con una elevada concentración de azúcares (Caridi et al., 1999). Este hecho se refleja en un aumento de la acidez titulable. La fermentación también provoca una disminución en el IPT causado por la precipitación de compuestos fenólicos y por la adsorción de pigmentos coloreados por las levaduras.

2. Cinética de fermentación

Según se observa en el gráfico adjunto, las levaduras seleccionadas inician la fermentación antes que la flora autóctona, poniendo de manifiesto su osmotolerancia.

La cinética de fermentación es más rápida también en los mostos inoculados con levaduras seleccionadas, alcanzando en primer lugar un 8% (v/v) de etanol los mostos fermentados con la cepa X5. La máxima producción de etanol con ambas cepas seleccionadas se alcanzó a los tres días del inicio de la fermentación, mientras que con la flora autóctona fue a los cinco días.



3. Compuestos volátiles del aroma

La fermentación parcial produce en general un aumento de todos los compuestos del aroma, destacando la producción de ácidos carboxílicos por la levadura X5 y la producción de fenoles volátiles por la flora autóctona del mosto (tabla 2).

El contenido en glicerina de los vinos parcialmente fermentados supera los 15 g/L, esta elevada concentración tiene su justificación en la respuesta de la levadura al estrés osmótico (Nevoigt et al. 1997; Tofalo et al. 2009). Si bien es destacable el hecho de que en los vinos elaborados de forma tradicional presenta un valor medio de 6 g/L (tabla 1). Dado que las uvas estaban en perfecto estado sanitario, el alto contenido puede deberse al estrés osmótico sufrido por las células de la baya durante la pasificación. Una consecuencia indirecta de la síntesis de glicerina es la formación de compuestos volátiles como la acetoína, el 2,3-butanodiol y los ácidos grasos de cadena corta.

En función de los descriptores del aroma de los compuestos volátiles determinados se han establecido diez series aromáticas, balsámica, disolvente, dulce, especiada, floral, frutal, grasa, herbácea, láctea y tostada. Para evaluar el efecto de la fermentación parcial sobre las series aromáticas y las diferencias

entre los vinos así obtenidos, se calcularon los valores relativos de las series (figura 1). Las mayores diferencias se observan en las series dulce, frutal y grasa, las cuales son superiores en los vinos obtenidos con las cepas X4 y X5. Las series especiada y láctea presentan un menor valor en los vinos obtenidos por fermentación parcial. Por último, la serie tostada aumenta en el vino obtenido con flora autóctona y disminuye en los obtenidos con levaduras seleccionadas. El resto de las series no presenta diferencias significativas entre las levaduras utilizadas.

4. Análisis organoléptico

El análisis sensorial de los vinos pone de manifiesto que las muestras mejor valoradas son las obtenidas tras la fermentación parcial de los mostos con levaduras seleccionadas y, aunque estadísticamente no existan diferencias, el vino mejor valorado es el obtenido con la levadura X4 (figuras 2-4).

■ Conclusiones

- Los vinos dulces obtenidos por fermentación parcial del mosto de uvas pasificadas presentan un mayor contenido en compuestos volátiles, siendo más complejos aromáticamente que los elaborados de forma tradicional.

- Todos los vinos dulces son calificados organolépticamente al menos como aceptables, siendo el obtenido por fermentación parcial con la cepa X4 el mejor valorado.

■ Alcance y contribución del capítulo

La elaboración de vinos dulces a partir de la variedad Tempranillo pasificada por el método tradicional podría dar salida al actual excedente de producción en la zona de estudio.

Por otro lado, la fermentación parcial de los mostos de uvas Tempranillo pasificadas hasta un 8% de etanol (v/v) da lugar a vinos dulces con características organolépticas diferentes a los elaborados de forma tradicional, con lo cual se podría ampliar la variedad de vinos dulces disponible en el mercado. Esto sería una marca de distinción de la D.O.P. Montilla-Moriles en relación con otras denominaciones que también producen vinos dulces a partir de uvas pasificadas. Esta fermentación parcial permitiría además calificar los vinos resultantes como Vinos Dulces Naturales,

Por último, dado que la elaboración tradicional supone alcoholizar los mostos hasta un 15% de etanol (v/v), permitiría disminuir el volumen de alcohol a añadir reduciendo los costes de producción.

■ **Perspectivas futuras**

Un vez que los resultados han puesto de manifiesto que la variedad Tempranillo pasificada da lugar a vinos dulces de elevada calidad organoléptica, el siguiente paso sería someterlos al sistema de crianza oxidativa característico de la zona Montilla-Moriles. En relación a esto, podría estudiarse una posible aceleración de la crianza mediante tratamientos térmicos unidos a la presencia de virutas de madera de roble. De esta forma, se reducirían los costes ocasionados por la elevada mano de obra necesaria y la gran cantidad de vino inmovilizado necesarios para mantener el sistema de criaderas y solera.

■ **Bibliografía**

Caridi, A.; Crucitti, P.; Ramondino, D. Winemaking of must at high osmotic strength by thermotolerant yeasts. *Biotechnology Letters*. 21, 617-620. 1999.

Franco, M.; Peinado, R.A.; Medina, M.; Moreno, J. Off-vine grape drying effect on volatile compounds and aromatic series in must from Pedro Ximénez

grape variety. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 3905-3910. 2004.

García-Martínez, T.; Bellincontro, A.; López de Lerma, N.; Peinado, R.A.; Mauricio, J.C.; Mencarelli, F.; Moreno, J. Discrimination of sweet wines partially fermented by two osmo-ethanol-tolerant yeasts by gas chromatographic analysis and electronic nose. *Food Chemistry*, 127, 1391-1396. 2011.

Nevoigt, E.; Stahl, U. Osmoregulation and glycerol metabolism in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *FEMS Microbiology Reviews*, 21, 231-241. 1997

Tofalo, R.; Chaves-López, C.; Di Fabio, F.; Schirone, M.; Felis, G.E.; Torriani, S.; Paparella, A.; and Suzzi, G. Molecular identification and osmotolerant profile of wine yeasts that ferment a high sugar grape must. *International Journal of Food Microbiology*, 130, 179-187. 2009.

López de Lerma, N. & Peinado, R. A. Use of two osmoethanol tolerant yeast strain to ferment must from Tempranillo dried grapes. *International Journal of Food Microbiology*. 145, 342-348. 2011.

**INFORME CON EL FACTOR DE IMPACTO Y CUARTIL DEL JOURNAL
CITATION REPORTS EN EL QUE SE ENCUENTRAN LAS PUBLICACIONES**

Antioxidant activity of different phenolics fractions isolated in must from Pedro Ximenez grapes at different stages of the off-vine drying process.

- Autores: Peinado, J.; López de Lerma, N.; Moreno, J. & Peinado, R. A.
- Revista: Food Chemistry. 2009, 114, 1050-1055.
- Área temática: Food Science and Technology.
- Índice de impacto: 3.146.
- Cuartil: 1º (6/118).

Synergistic antioxidant interaction between sugars and phenolics from a sweet wine.

- Autores: Peinado, J.; López de Lerma, N. & Peinado, R. A.
- Revista: European Food Research and Technology. 2010, 231, 363-370.
- Área temática: Food Science and Technology.
- Índice de impacto: 1.585.
- Cuartil: 2º (43/128).

Use of two osmoethanol tolerant yeast strain to ferment must from Tempranillo dried grapes.

- Autores: López de Lerma, N. & Peinado, R. A.
- Revista: International Journal of Food Microbiology, 2011, 145, 342-348.
- Área temática: Food Science and Technology.
- Índice de impacto: 3.327.
- Cuartil: 1º (9/128).

Use of electronic nose, validated by GC-MS, to establish the optimum off-vine dehydration time of wine grapes.

- Autores: López de Lerma, N.; Bellincontro, A.; Mencarelli, F.; Moreno, J. & Peinado, R.A.
- Revista: Food Chemistry, 2012, 130, 447-452.
- Área temática: Food Science and Technology.
- Índice de impacto: 3.655.
- Cuartil: 1º (6/128).

Santiago, J.I.; López de Lerma, N.; Moreno, J.; Peinado, R.A. Effect of a thermal treatment and of the presence of oak chips on the volatile composition of Pedro Ximénez sweet wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 61, 91-95. 2010.

López de Lerma, N.; Peinado, J.; Moreno, J.; Peinado, R.A. Antioxidant activity, browning and volatile Maillard compounds in Pedro Ximénez sweet wines under accelerated oxidative aging. *LWT-Food Science and Technology*, 43, 1557-1563. 2010.

García-Martínez, T.; Bellincontro, A.; López de Lerma, N.; Peinado, R.A.; Mauricio, J.C.; Mencarelli, F.; Moreno, J. Discrimination of sweet wines partially fermented by two osmo-ethanol-tolerant yeasts by gas chromatographic analysis and electronic nose. *Food Chemistry*, 127, 1391-1396. 2011.

López de Lerma, N.; García-Martínez, T.; Moreno, J.; Mauricio, J.C.; Peinado, R.A. Sweet wines with great aromatic complexity obtained by partial fermentation of must from Tempranillo dried grapes. *European Food Research Technology*. 234: 695-701. 2012.

