

Efecto del tiempo de maceración sobre el color, la composición tánica y la astringencia de vinos Cabernet Sauvignon y Malbec

Tesis presentada para cumplir con los
requerimientos del Grado de
Master Scientiae

en la Maestría de Viticultura y Enología organizada por la Facultad de Ciencias
Agrarias de la Universidad Nacional de Cuyo, la Ecole Nationale Supérieure
Agronomique de Montpellier y la Estación Experimental Agropecuaria Men-
doza del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria

por

Hernán Vila

Director de tesis: MSc. Ing. Agr. Carlos Catania

Codirector de tesis: Dr. Ing. Agr. Hernán Ojeda

EEA Mendoza INTA

2002

EFFECTO DEL TIEMPO DE MACERACIÓN SOBRE EL COLOR, LA COMPOSICIÓN TÁNICA Y LA ASTRINGENCIA DE VINOS CABERNET SAUVIGNON Y MALBEC

por Hernán Vila

RESUMEN

El objetivo del trabajo fue estudiar el efecto del tiempo de maceración sobre la composición tánica, el color y la astringencia de vinos Cabernet Sauvignon y Malbec, provenientes de la Zona Alta del Río Mendoza y saber qué tiempo de maceración permite una mayor expresión del color y del cuerpo del vino. A partir de dos vinificaciones industriales, se realizaron muestreos para determinar las curvas de extracción de los componentes fenólicos y del color. Además, se llevaron a cabo dos experimentos probando un tiempo de maceración corto, de 5 días, uno “clásico” en la región, de 10 días, y uno largo, de 20 días. En los vinos resultantes se determinó el perfil fenólico, discriminando los componentes tánicos y del color, durante el primer año de conservación en vasijas de vidrio. Se utilizaron técnicas de espectrometría VIS y UV y los vinos fueron evaluados por un panel de expertos degustadores.

La variedad Cabernet S. siguió un patrón de extracción de antocianos y taninos durante la maceración acorde con lo que indica la bibliografía. La magnitud del color rojo alcanzó un máximo cerca del 10º día y luego sufrió una caída que, en la maceración de 20 días, significó una pérdida de alrededor de un 10%. Los taninos aumentaron rápidamente hasta el 10º día y luego continuaron creciendo muy lentamente. Los vinos Cabernet S. obtenidos con maceración de 10 días y de 20 días resultaron muy superiores en cuanto a los contenidos de antocianos, color polimérico y taninos. También provocaron sensaciones de concentración y untuosidad mayores. Además resultaron más ásperos, astringentes y secantes que los de 5 días, pero estas sensaciones fueron moderadas. Los vinos de 20 días fueron similares a los de 10 días salvo en que alcanzaron un contenido mayor de polifenoles totales y de taninos no astringentes. La variedad Malbec siguió un patrón de extracción de antocianos y taninos similar al Cabernet S. hasta el 10º día, pero luego ambos mostraron una caída pronunciada, como consecuencia de un deterioro oxidativo. La maceración de 10 días resultó óptima y los vinos se destacaron por su mayor contenido en polifenoles totales, antocianos, color polimérico y taninos. Estos atributos provocaron sensaciones de concentración y untuosidad destacadas y similares a las de los Cabernet S. de 10 y 20 días. Las sensaciones de secante, áspero y astringente fueron menores que en los Cabernet. Los Malbec de 5 días resultaron muy pobres en atributos y los de 20 días con características intermedias entre los de 5 y los de 10 días. En ambas variedades la pérdida en los contenidos de antocianos copigmentados se acompañó de un aumento proporcional en los contenidos de antocianos polimerizados. Durante el estacionamiento todos los vinos Cabernet S. y Malbec sufrieron una degradación de polifenoles totales, antocianos y taninos. El ritmo de degradación de cada compuesto fue similar para los distintos vinos, sin importar las concentraciones iniciales del compuesto. En ambas variedades los polifenoles totales y los taninos se correlacionaron positivamente con la aspereza, la astringencia, lo secante, la untuosidad y la concentración. Lo secante se asoció negativamente con la proporción de taninos no precipitables con gelatina. La espectrometría VIS y UV, como método instrumental de análisis, resultó suficientemente potente como para permitir una la apreciación del perfil fenólico y diferenciar los vinos Cabernet S. de los Malbec, independientemente del tiempo de maceración con que fueron elaborados.

Palabras claves: vino, Cabernet Sauvignon, Malbec, maceración, extracción, fenoles, taninos, antocianos, color, copigmentación, pigmentos poliméricos, astringencia.

INFLUENCE DES TEMPS DE MACERATION SUR LA COULEUR, LA COMPOSITION TANNIQUE ET L'ASTRINGENCE DES VINS CABERNET SAUVIGNON ET MALBEC

par Hernán Vila

Sommaire

L'objectif du travail a été de déterminer les effets des différents temps de macération sur la composition tannique, la couleur et l'astringence des vins des cépages Cabernet-Sauvignon (C-S) et Malbec (M), et de connaître les temps de macération permettant d'une plus haute expression de la couleur et du corps du vin. Sur deux vinifications réalisées à l'échelle industrielle avec des raisins provenant de la Zona Alta del Río Mendoza, Argentina, un échantillonnage a été réalisé pour construire des courbes d'extraction des composés phénoliques et de la couleur. Deux essais ont été réalisés, un pour chaque variété, pour expérimenter des différents temps de macération (5, 10 et 20 jours). Dans les vins résultants les composants tanniques et de la couleur ont été différenciés pendant la première année de garde, dans des récipients en verre, à l'aide des techniques de spectrophotométrie VIS et UV. Les vins ont été aussi évalués par un groupe des dégustateurs experts. Pendant la macération, le cépage C-S a montré un patron typique d'extraction des anthocyanes et des tannins. La magnitude de la couleur a atteint un maximum avec 10 jours de macération et après elle a descendue en 10% avec la macération de 20 jours. Les tannins ont toujours augmentés, rapidement jusqu'au jour 10 et plus lentement vers le jour 20. Les vins C-S obtenues avec des macérations de 10 et de 20 jours ont été plus riches en anthocyanes, en couleur polymérique et en tannins. Ces vins ont donné aussi des perceptions de concentration et de gras plus élevées dans la bouche et plus astringentes et desséchants que ceux issues de 5 jour de macération. En générale, les vins de 20 jours ont été similaires a ceux de 10 jours sauf pour leurs quantités plus élevées de phénols totaux et des tanins non astringents. Les vins issus du cépage M ont montrés un patron d'extraction des anthocyanes et des tannins similaires à ceux de C-S mais avec une diminution plus forte des phénols après du 10 jours de macération. Ce comportement s'explique par l'occurrence de un procès d'oxydation. Ces caractéristiques ont provoquée des sensations de concentration et gras similaires à celles des C-S à 10 et à 20 jours de macération. Les sensations de dessèchement, d'aspérité et d'astringence ont été plus basses que celles des C-S. Le vin M de 10 jours a été le plus riche en caractéristiques sensorielles suivi par le vin de 20 jours et finalement par le vin de 5 jours. Dans les deux cépages la diminution des teneurs d'anthocyanes copigmentées a été accompagnée de une augmentation proportionnelle des teneurs d'anthocyanes polymérisées. Pendant l'élevage, tous les vins C-S et M ont eu une dégradation des phénols totaux, des anthocyanes et des tannins. La vitesse de dégradation de chaque composé a été semblable pour tous les vins, indépendant des concentrations de départ. Dans les deux cépages les teneurs en phénols totaux et en tannins sont reliés aux perceptions d'aspérité, d'astringence, de dessèchement, de gras et de concentration. La perception de dessèchement est associée négativement aux teneur de tannins non réactifs avec la gélatine. La puissance des techniques d'analyse par spectrophotométrie VIS et UV ont permis d'obtenir une détermination du profil phénolique et de discriminer tous les vins de C-S de celles de M indépendant des temps de macération.

Mots clés: vin, Cabernet Sauvignon, Malbec, macération, extraction, phénols, tannins, anthocyanes, couleur, copigmentation, pigments polymères, astringence.

INDICE DE CONTENIDOS

Capítulo 1	Introducción	1
Capítulo 2	Estado actual de los conocimientos	3
2.1	Los fenoles	3
2.1.1	Fenoles no flavonoides	3
2.1.2	Fenoles flavonoides	5
2.1.3	Antocianos	6
2.1.4	3-Flavanoles: catequinas y proantocianidinas (taninos)	8
2.2	Los taninos y antocianos en la estructura celular de la baya.....	10
2.3	Extracción de antocianos y taninos durante la maceración.....	11
2.4	Reactividad química de los taninos y antocianos.....	14
2.4.1	Equilibrio de los antocianos de acuerdo al pH.....	14
2.4.2	Efecto del dióxido de azufre sobre los antocianos.....	17
2.4.3	Copigmentación y autocopigmentación de los antocianos	18
2.4.4	Condensación de antocianos y taninos.....	20
2.4.5	Oxidación de antocianos y taninos.....	23
2.4.6	Interacciones de los taninos con las proteínas y los polisacáridos. Astringencia de los taninos	24
Capítulo 3	Materiales y métodos	26
3.1	Determinación de la reserva tecnológica de las uvas vinificadas	26
3.2	Determinación de la evolución de componentes fenólicos durante la maceración.....	26
3.3	Determinación del efecto del tiempo de maceración sobre la composición fenólica de los vinos	27
3.4	Determinación de componentes fenólicos de uvas y vinos.....	28
3.4.1	Polifenoles totales	28
3.4.2	Catequinas (3-flavanoles monómeros)	28
3.4.3	Proantocianidinas (taninos condensados totales).....	29
3.4.4	Taninos astringentes y no astringentes.....	29
3.4.5	Taninos asociados a polisacáridos	29
3.4.6	Antocianos totales.....	29
3.4.7	Componentes del color rojo (antocianos coloreados libres, color copigmentado, color polimérico) y de los antocianos decolorados por el SO ₂	30
3.4.8	Intensidad colorante y del matiz	31
3.5	Determinación del perfil organoléptico de los vinos	31
3.6	Tratamiento estadístico de los datos	31

Capítulo 4 Resultados y discusión	32
4.1 Evolución de los componentes fenólicos extraídos durante la maceración	32
4.2 Perfil tánico y características del color de los vinos con maceraciones corta, media y extendida.....	35
4.3 Características organolépticas de los vinos con maceraciones corta, media y prolongada.....	40
4.4 Relaciones entre los perfiles fenólicos y las características organolépticas de los vinos	43
4.5 Evolución de los componentes fenólicos durante la conservación del vino	46
4.6 Discriminación de las variedades de acuerdo a su perfil fenológico	51
Capítulo 5 Conclusiones	52
Agradecimientos	54
Bibliografía	55
Indice de ilustraciones.....	60
Indice de tablas.....	62

EFFECTO DEL TIEMPO DE MACERACIÓN SOBRE EL COLOR, LA COMPOSICIÓN TÁNICA Y LA ASTRINGENCIA DE VINOS CABERNET SAUVIGNON Y MALBEC

Hernán Vila

Capítulo 1 INTRODUCCIÓN

Las sustancias fenólicas se encuentran entre los constituyentes fundamentales de los vinos tintos. En ellos determinan importantes características organolépticas, relacionadas con el color y el gusto. Dentro de los fenoles, los antocianos son responsables esenciales del color rojo, mientras los taninos se asocian con sensaciones bucales, unas veces agradables - estructura, concentración - y otras desagradables - amargo, aspereza, sequedad, astringencia -.

Las sustancias fenólicas provienen de la uva y son extraídas durante la fase de vinificación conocida como maceración, que involucra los fenómenos de difusión y de disolución. La extracción y manejo de los antocianos y taninos en los vinos, es vital para determinar la calidad y el estilo del vino tinto.

Buscando obtener vinos con más color, concentración y complejidad, los enólogos recurren a un conjunto de técnicas de maceración. Su objetivo es obtener la mayor extracción posible de principios deseables, evitando la cesión de otros indeseables. Lamentablemente, los factores que favorecen la difusión y la disolución, como un mayor contacto entre las fases líquida y sólida o un aumento del tiempo de maceración, incrementan la cesión de todo tipo de compuestos. El control del tiempo de maceración implicaría, desde esta perspectiva, encontrar la duración que permitiera obtener la mayor cantidad de compuestos deseables sin que aumenten en forma apreciable aquellos que no lo son.

Esto no es fácil de lograr pues el contenido en el vino de las sustancias cedidas en la maceración, no sigue un modelo simple donde se pueda asociar en forma directa la concentración en el vino con los contenidos en la uva y la intensidad de la difusión. Esto se debe a que las sustancias extraídas durante la maceración sufren una serie de fenómenos colaterales tales como la saturación y la precipitación, la adsorción sobre las partes sólidas, la condensación molecular, la oxidación, la copigmentación y los fenómenos coloidales. Además, muchos de estos fenómenos continúan durante el período de conservación del vino.

Ribéreau Gayon (1982) investigó el efecto del tiempo de maceración sobre el grado de extracción de sustancias fenólicas en los vinos y puso en evidencia que, el contenido de antocianos alcanzaba un máximo en los primeros 5 o 6 días de maceración, pero luego caía paulatinamente. Los taninos, en cambio, crecían constantemente, pero la cesión pasaba por dos etapas, una de cesión rápida - hasta el 5° o 6° día -, correspondiente a taninos hidrosolubles y otra más lenta, correspondiente a taninos solubles en alcohol.

Si bien actualmente se conocen los patrones que sigue la extracción, no es posible asegurar cómo afectará el grado de extracción logrado, con distintos tiempos de maceración, al color y la astringencia del vino durante su crianza. Esto se debe a que muchos fenómenos como la copigmentación de los antocianos y el acomplejamiento entre los taninos y los polisacáridos, por citar algunos, han sido esclarecidos recién en los últimos años.

Muchas de las reacciones a que están sujetos los fenoles en los vinos dependen de su composición - variedades químicas y concentraciones -, y ésta está fuertemente determinada por la variedad de uva. Así, se sabe que los vinos de Pinot Noir tienen problemas para expresar altos

niveles de color debido a la estructura química de sus antocianos. Otras variedades, como Cabernet Sauvignon y Malbec, se comportan de manera opuesta.

Si bien estas dos últimas variedades están consideradas como productoras de vinos con mucho color y cuerpo, no se comportan de manera similar. En la actualidad no se conoce, en las condiciones de Argentina, cuáles son los tiempos óptimos de maceración para su vinificación.

El objetivo del trabajo fue determinar el efecto del tiempo de maceración sobre la composición fenólica, el color y la astringencia de vinos Cabernet Sauvignon y Malbec, provenientes de la Zona Alta del Río Mendoza y saber qué tiempo de maceración permite una mayor expresión del color y del cuerpo del vino, con una menor astringencia. Para ello se planteó conocer qué modelo sigue la extracción de los componentes del color y tánicos en estas variedades, y determinar cómo evolucionan estos componentes durante la conservación del vino, a partir de las diversas composiciones determinadas por los distintos tiempos de maceración.

A partir de dos vinificaciones industriales con una maceración muy extendida, se realizaron muestreos para determinar las curvas de extracción de los componentes fenólicos y del color. Además, se llevaron a cabo dos experimentos probando un tiempo de maceración corto de 5 días, uno intermedio de 10 días, considerado como “clásico” en la región, y uno largo de 20 días. En los vinos resultantes se determinó el perfil fenólico, discriminando los componentes tánicos y del color, durante el primer año de conservación. La conservación se realizó en vasijas de vidrio y no incluyó la crianza en madera.

Para las determinaciones se utilizaron técnicas de espectrometría VIS y UV. Estas técnicas sólo tienen la posibilidad de diferenciar entre grandes grupos químicos, pero son fáciles de operar, rápidas y económicas. Esto las hace muy aptas para ser usadas en el control enológico en las bodegas. Los vinos fueron, además, evaluados organolépticamente por un panel de expertos.

Un segundo objetivo fue determinar si la composición fenólica, obtenida a partir de las técnicas simples utilizadas en el trabajo, era suficientemente ajustada como para discriminar a cada una de las variedades estudiadas, independientemente del tiempo de maceración con que se hubieran elaborado los vinos.

Capítulo 2 ESTADO ACTUAL DE LOS CONOCIMIENTOS

2.1 Los fenoles

En la uva existe una cantidad de compuestos que contienen grupos fenoles altamente reactivos. Estos compuestos pasan luego al vino, donde participan de sus características organolépticas. El grupo fenol básico es un benceno aromático unido a un radical hidroxilo. La reactividad de estos compuestos es debida tanto a la presencia de la función fenol que, por la movilidad de sus átomos de hidrógeno, presenta un carácter ácido; como al núcleo benzénico que puede sufrir sustituciones electrófilas. Los tipos de moléculas fenólicas en las uvas y vinos pueden ser categorizados en forma amplia en fenoles flavonoides, con un esqueleto de tipo 2-fenil benzopirona, y no flavonoides, que son básicamente ácidos fenólicos. Los fenoles no flavonoides son importantes en la pulpa de la uva y en la madera de roble, mientras los fenoles flavonoides no existen en la pulpa pero son importantes en los hollejos, escobajos y semillas. En la Figura 2.1 se muestran esquemáticamente los distintos grupos químicos que componen los principales fenoles de la uva.

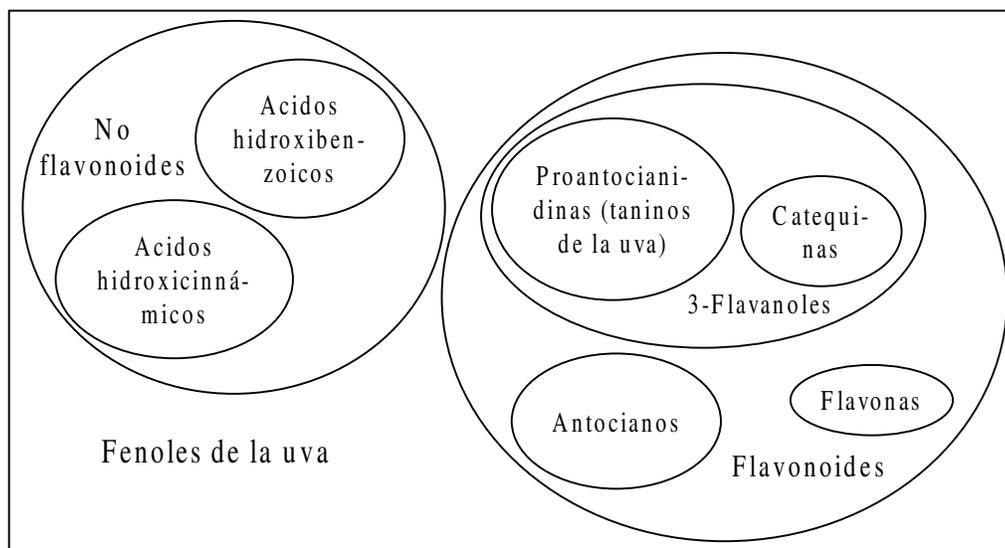


Figura 2.1: Principales fenoles de la uva. *Schéma des phénols du raisin.*

A continuación se hace una descripción de los principales fenoles de la uva, de acuerdo con las revisiones realizadas por Parley (1997) y Cheynier *et al.* (1998).

2.1.1 Fenoles no flavonoides

Son básicamente ácidos fenólicos de dos tipos, los ácidos hidroxibenzoicos, formados por un fenol unido a una función ácida (-COOH), y los ácidos hidroxicinnámicos, formados por un fenol que porta una cadena lateral insaturada. Otros derivados no flavonoides son los estilbenos.

Ácidos hidroxicinnámicos: se encuentran en las vacuolas de las células del hollejo y de la pulpa de la uva bajo la forma de ésteres tartáricos. Los principales son los ésteres de los ácidos cafeico, cumárico y ferúlico (Figura 2.2).

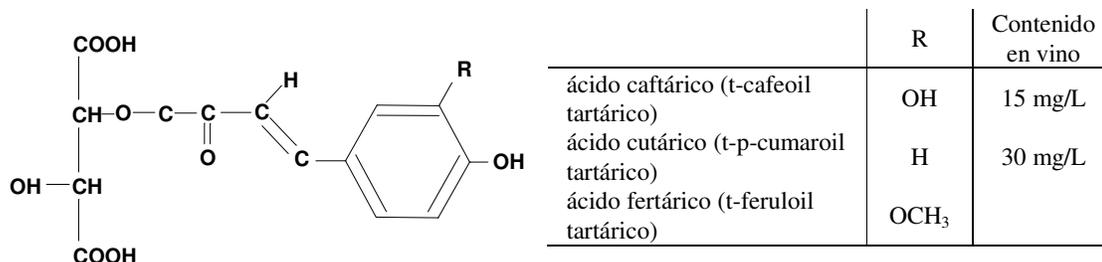


Figura 2.2: Ésteres hidroxicinnámicos de la uva. *Esters hidroxicinnamiques du raisin*.

Las cantidades de ácidos hidroxicinnámicos son altas en mostos escurridos libremente, pues ellos son los principales fenoles de la pulpa. El ácido cafeico y su ester tartárico (caftárico) son los principales sustratos de la oxidación enzimática de los mostos. Sus quinonas tienen una alta reactividad y participan en la oxidación y en el pardeamiento de los antocianos y de los taninos. Los ácidos p-cumárico y caféico se encuentran muchas veces acilando los sustitutos glucósidos de los antocianos - salvo en Pinot Noir -. Esto es importante para la estabilidad del color de estos antocianos pues favorecen la autocopigmentación (Dangles *et al.*, 1993). En las concentraciones encontradas en los vinos no tienen impacto en las características sensoriales.

Ácidos hidroxibenzóicos: las semillas de uva contienen ácido gálico aislado (Figura 2.3) y esterificado con 3-flavanoles. Su contenido en el vino ronda los 10 mg/L. El ácido gálico se oxida muy fácilmente para dar quinonas y peróxido de hidrógeno.

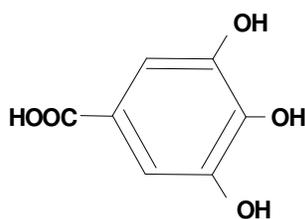


Figura 2.3: Estructura del ácido gálico. *Structure de l'acide gallic*.

Otros ácidos hidroxibenzóicos, como el siríngico, el vainílicico y el p-hidroxibenzoico, se pueden encontrar en vinos que han estado en contacto con madera de roble. En este caso provienen de la degradación de la lignina. Las concentraciones de ácidos hidroxibenzoicos en el vino, son realmente bajas, sobre todo comparadas con las de los otros fenoles presentes.

2.1.2 Fenoles flavonoides

En los vinos tintos son mucho más importantes los fenoles flavonoides por la gran cantidad extraída de las semillas y hollejos durante la maceración. Forman una familia de sustancias en la que todas tienen el mismo esqueleto básico de 15 átomos de carbono, de tipo 2-fenil benzopirona (Figura 2.4). Son responsables de muchas de las características de los vinos tintos, incluidas el color, muchas sensaciones bucales y las características de envejecimiento. No existen en la pulpa de la uva, pero sí en las semillas, hollejos y escobajos.

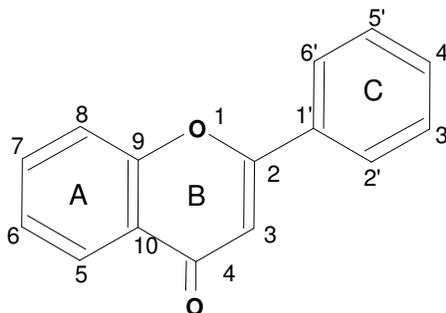


Figura 2.4: Estructura de la 2 fenil benzopirona. *Structure de la 2-fenil benzopirone.*

La familia de los flavonoides está representada en la uva principalmente por los flavonoles, los antocianos y los 3-flavonoles. Se encuentra también otros grupos de menor importancia como los flavononoles y las flavonas.

Flavonoles: estos flavonoides están presentes en los hollejos de las uvas blancas y tintas, bajo la forma de glicósidos en la posición 3 (Cheinier *et al.*, 1998). Se caracterizan por poseer un enlace insaturado entre el C2 y C3 y otro enlace insaturado unido a un oxígeno en el C4. Los más comunes en la uva son la quercetina y el kaemferol y los glicósidos más comunes son glucosa, galactosa y glucurónico (Price *et al.*, 1995a). La Figura 2.5 muestra los cuatro principales flavonoles de la uva bajo su forma aglicona.

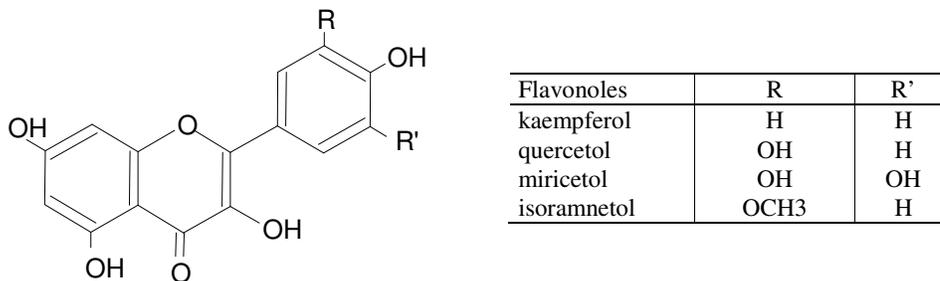


Figura 2.5: Flavonoles de la uva. *Flavonols du raisin.*

Los flavanoles aparecen en los hollejos de las uvas, en los escobajos y en las hojas como una respuesta de la planta al estímulo de la radiación UV de la luz solar (Price *et al.*, 1995^a). Los contenidos en flavonoles varían de 10 a 100 mg/kg de bayas. Son fácilmente extractables en la

vinificación, aunque no son muy solubles en agua y es preciso que exista cierta cantidad de alcohol como solvente. Son amargos, tienen un poder de copigmentación fuerte y pueden estar involucrados en las reacciones de polimerización de los fenoles (Price *et al.*, 1995b).

2.1.3 Antocianos

Los antocianos son fenoles flavonoides existentes en las vacuolas de las células del hollejo de las uvas tintas. También se encuentran en la pulpa de las variedades tintoreras (por ej. Alicante Bouchet, Teinturier). Durante el proceso de maceración, en la vinificación en tinto, pasan al vino, donde son responsables del color rojo. Durante el estacionamiento del vino están involucrados en reacciones de polimerización con otros fenoles. Químicamente, son glucósidos de núcleo flavilium polihidroxilados y/o metoxilados. El núcleo flavilium comprende un anillo A que es un derivado del floriglucinol encadenado a un anillo pirilo, el cual está unido a un anillo fenólico B. Las formas agliconas que corresponden a la fórmula general que aparece en la Figura 2.6 (Mazza y Brouillard, 1987), se denominan antocianidinas o antocianidoles y no se encuentran en forma libre en uvas y vinos pues son muy inestables.

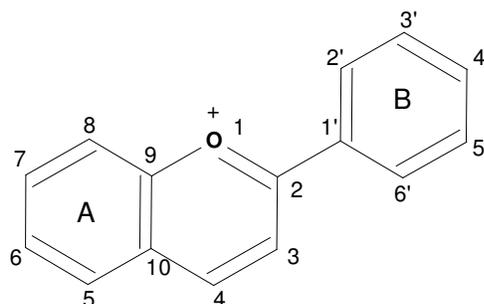
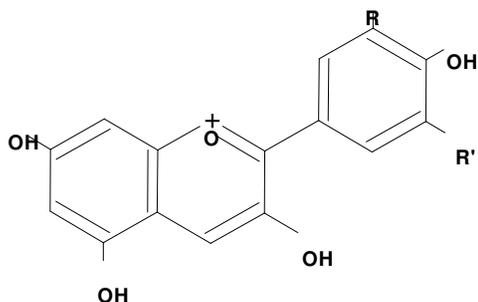


Figura 2.6: Estructura química de las antocianidinas (forma flavilium). *Structure chimique de les anthocyanidines (forme flavilium).*

Los antocianos se diferencian por el nivel de hidroxilación y/o de metilación de su anillo B, por la naturaleza, el número y la posición de los azúcares unidos a la molécula, y por el número de los ácidos que esterifican los azúcares. Las antocianidinas del género *Vitis* son cianidina, peonidina, delphinidina y malvidina (Figura 2.7).



Antocianidinas	R	R'
cianidina	OH	H
peonidina	OCH ₃	H
delfinidina	OH	OH
petunidina	OCH ₃	OH
malvidina	OCH ₃	OCH ₃

Figura 2.7: Antocianidinas de la uva en forma de catión flavilium. *Anthocyanidines du raisin sous la forme de cation flavilium.*

Las antocianidinas tienen al menos un grupo -O-glucosa que les otorga estabilidad (Furtado *et al.*, 1993). Las especies americanas del género *Vitis*, como *Vitis labrusca*, *Vitis riparia*, *Vitis rupestris* y muchos de sus híbridos, contienen 3,5 diglucósidos. En *Vitis vinifera* la glicosilación sólo se da en la posición 3. El grupo glucosa puede estar acilado con acético, p-cumárico y cafeico en uvas tales como Cabernet Sauvignon, aunque otras variedades como Pinot Noir no contienen antocianos acilados (Wulf y Nagel, 1978). También es propia de esta especie la presencia mayoritaria de 3-glucósido de malvidina o sus derivados acilados. En Pinot Noir más del 90% de los antocianos presentes corresponden a este tipo (Dicey, 1996). El contenido de antocianos en la uva y los niveles relativos de las distintas formas, pueden variar de acuerdo con las variedades, las condiciones ecológicas y el manejo del viñedo. Para Merlot, en Bordeaux, se citan contenidos de antocianos de 900 a 1.500 mg/kg uva (Ribéreau-Gayon, 1982). En los vinos tintos, al fin de la vinificación, se han encontrado antocianos en cantidades que van de 100 a 800 mg/L (Ribéreau-Gayon, 1982). El color y la estabilidad de los antocianos están ligados a la estructura de las moléculas, referida a la cantidad y disposición de los grupos hidroxilo y metoxi en el núcleo B y a la acilación del grupo glucósido. El aumento de la cantidad de hidroxilos en el núcleo B va acompañado de un aumento en la longitud de onda máxima de absorción de la luz - efecto batocromo -, el aumento de los grupos metoxi provoca el mismo fenómeno (Figura 2.8).

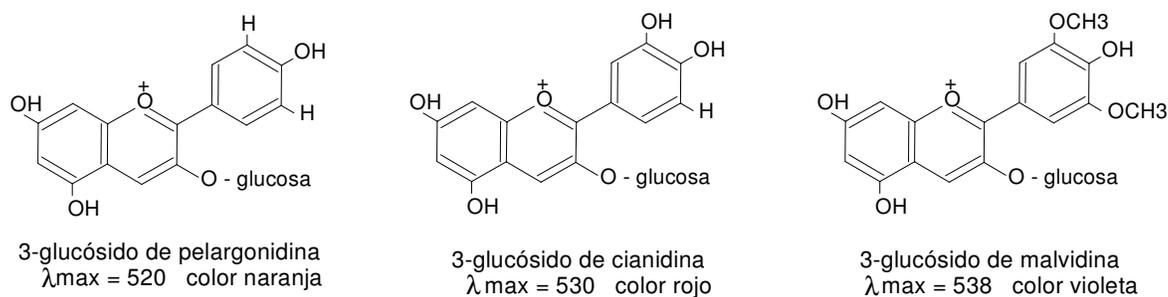


Figura 2.8: Efecto batocromo en los antocianos. *Effet bathochrome des anthocyanes*.

La cantidad de grupos hidroxilo y su vecindad en el anillo fenólico, tiene importantes efectos sobre la propensión de la molécula a oxidarse y pardearse (ver apartado sobre oxidación de los polifenoles). La esterificación de los azúcares con ácido cafeico o p-cumárico produce una estabilización de la molécula y de su capacidad colorante debido a efectos de autocopigmentación. Estos efectos se analizan en detalle en el apartado sobre copigmentación. El color de un vino tinto joven se debe principalmente a los antocianos monoméricos (Somers y Evans, 1977), pero debido a la naturaleza química de los antocianos no existe una relación directa entre la concentración en antocianos y el color (Somers y Evans, 1974). El pH, el contenido de SO_2 , la polimerización y la copigmentación son factores que afectan la expresión del color. Dentro de estos, la copigmentación está a su vez influenciada por el pH, por la concentración de etanol, por la temperatura y por la cantidad y tipo de otros compuestos que actúan como copigmentos. Cuando el vino madura y envejece, los pigmentos poliméricos son cada vez más responsables del color rojo del vino. Las reacciones de polimerización que involucran a los antocianos son fuertemente influenciadas por la temperatura (Somers y Evans, 1986) y el contacto con el oxígeno (Timberlake y Bridle, 1976; Ribéreau-Gayon *et al.*, 1983).

2.1.4 3-Flavanoles: catequinas y proantocianidinas (taninos)

Este grupo está presente en la uva como monómeros y bajo formas más o menos polimerizadas. Los monómeros se conocen genéricamente como catequinas. Los polímeros constituyen los taninos de la uva, también llamados taninos condensados o proantocianidinas. Los principales 3-flavanoles monómeros de la uva son la (+)- catequina y su isómero la (-)- epicatequina, pudiendo encontrarse este último bajo la forma de ester gálico (3-galato de epicatequina). Las formas galocatequina, epigalocatequina y epigalocatequina galato también existen, aunque en menor cantidad. Todos estos compuestos, tienen un esqueleto común formado por dos anillos benzénicos A y B y un anillo heterocíclico C, sin dobles ligaduras, que contiene oxígeno. En la Figura 2.9 se presentan las estructuras de estos compuestos.

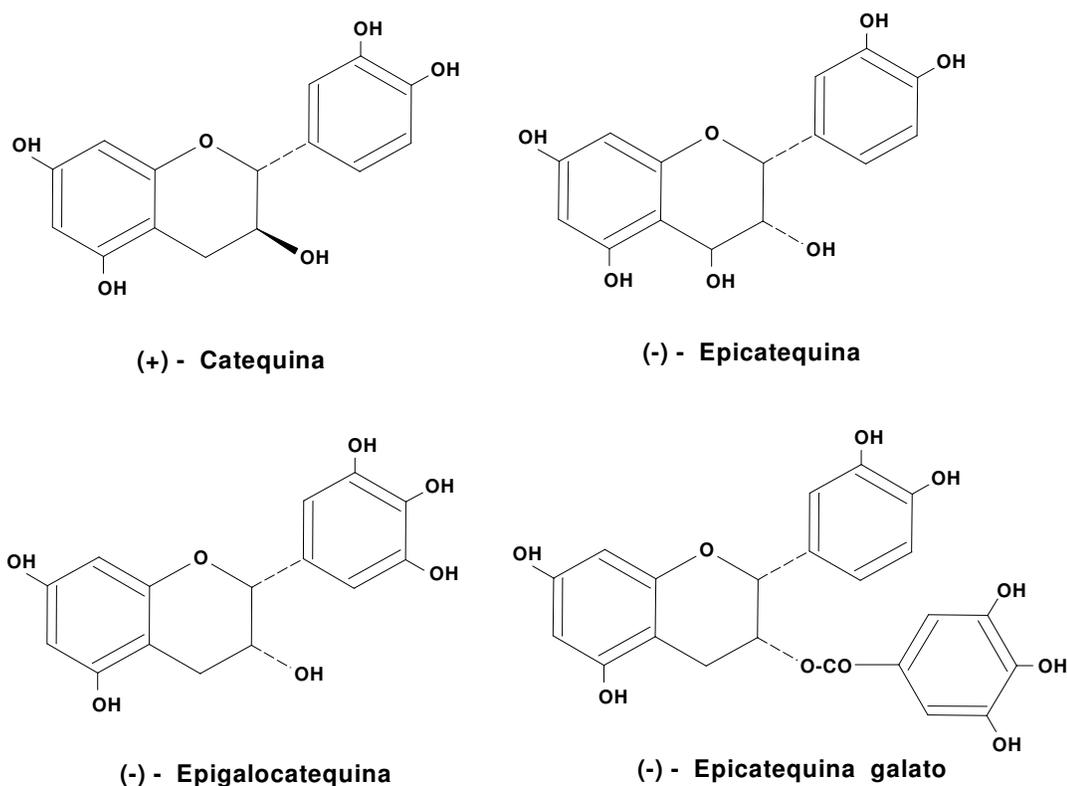


Figura 2.9: Principales 3-flavanoles monómeros de la uva. *Principals 3-flavanols monomères du raisin.*

Todos los productos de condensación, a partir de $n=2$ (dímeros), son considerados como proantocianidinas. Las proantocianidinas son comunmente denominadas taninos de la uva, término que hace referencia a su capacidad para precipitar las proteínas. El nombre de proantocianidinas se debe a que estas moléculas tienen la propiedad de liberar antocianidinas en medio ácido y caliente, por la ruptura de uniones intermonoméricas. Las proantocianidinas son los flavonoides cuantitativamente más importantes en la uva y el vino, donde inciden de manera importante sobre los caracteres organolépticos y otorgan propiedades beneficiosas para la salud humana. La astringencia de los vinos tintos se debe principalmente a la presencia de proantocianidinas. Las catequinas son amargas y ligeramente astringentes, pero no se clasifican como taninos pues no precipitan las proteínas (Bate-Smith, 1973; Maury *et al.*, 2001).

El esqueleto de los polímeros puede estar constituido por diversas formas monómeras. Teniendo en cuenta estas formas, dos grupos de proantocianidinas están presentes en la uva: las procianidinas - formadas por catequina, epicatequina y epicatequina 3-galato - y las prodelfinidinas - formadas por galocatequina y epigalocatequina -. Por hidrólisis ácida y en caliente las procianidinas y las prodelfinidinas derivan hacia las antocianidinas del tipo cianidina y delfinidina respectivamente. Las unidades monómeras se unen entre sí por uniones covalentes C-C de dos tipos: la unión 4-6, entre el C 4 de una unidad y el C 6 de la otra unidad y la unión 4-8, entre el C 4 de una unidad y en el C 8 de la otra (Figura 2.10).

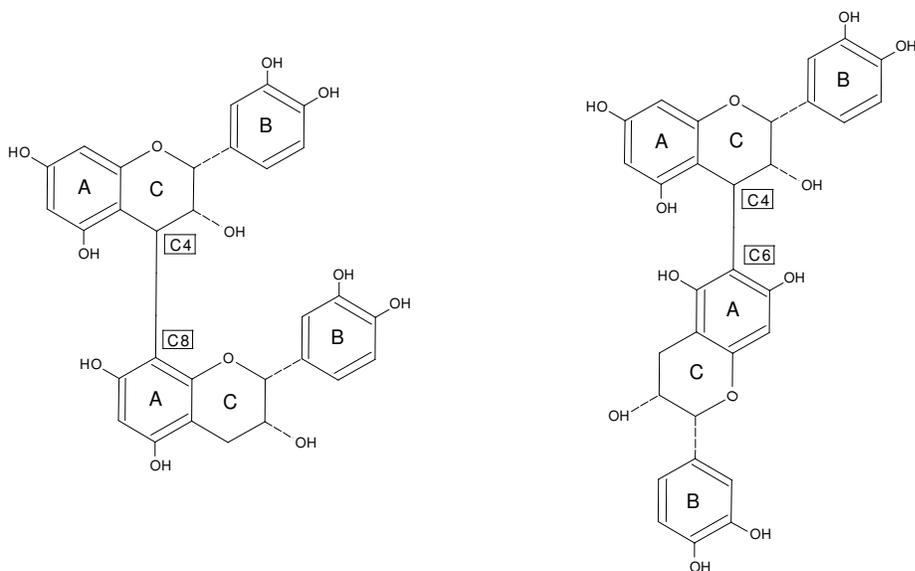


Figura 2.10: Tipos de uniones entre monómeros presentes en los proantocianidinas de la uva.
Types des unions entre monomères dans les proantocyanidines du raisin.

Las características químicas de las proantocianidinas (oligómeros y polímeros) están dadas por cuatro factores: a) naturaleza de las unidades constitutivas (catequina, epicatequina, galocatequina, epigalocatequina), b) presencia del sustituyente galato (galoilación), c) número de unidades monómeras (grado de polimerización) y d) tipo de unión de las unidades monómeras (4-8 o 4-6). Debido a las distintas posibilidades que se presentan dentro de cada factor y a las combinaciones posibles, entre factores, existe una gran diversidad de formas de proantocianidinas que pueden encontrarse. Muchas de estas formas están presentes en la uva y pasan al vino, otras se forman durante la evolución del vino. Las proantocianidinas y catequinas están presentes en la película y en la semilla de la baya de uva. Existen además en los escobajos y otros órganos herbáceos de la vid. Los de las películas y semillas se diferencian tanto en lo que respecta a los contenidos presentes como a su estructura. En las Tablas 2.1 y 2.2 se indican estas características diferenciales.

Tabla 2.1: Contenidos de 3-flavanoles monómeros, proantocianidinas oligómeras y proantocianidinas polímeras en bayas de Cabernet Franc (Cheynier *et al.*, 1998). En mg de catequina/kg de bayas. *Contenus de 3-flavanols monomères, proanthocyanidines oligomeres et proanthocyanidines polimères en baies de Cabernet Franc (Cheynier et al., 1998). En mg de catéchine/kg de babies.*

	Hollejo	Semilla
Monómeros	13,8	188
Oligómeros (DP 2-3)	7,2	66
Polímeros (DP > 3)	312,0	3.600

Tabla 2.2: Características diferenciales de los proantocianidoles presentes en la película y la semilla de la baya de uva (Moutounet *et al.*, 1996). *Caractéristiques différentiels des proanthocyanidols presentes dans la pellicule et la semis de la baie du raisin (Moutounet et al., 1996).*

	Hollejo	Semilla
Prodelfinidina	Presente	no hay
Galoilación	1 – 14%	22 - 47%
D _{Pm} (grado medio de polimerización)	12 – 45	8 - 16
Contenido de oligómeros D _{Pm} = 5	débil	elevado
Masa molecular (contenido de MW _n >20.000)	presente	ausente

En el hollejo, los contenidos de tanino son menores que en la semilla pero éstos están más polimerizados y tienen algo de prodelfinidina; su grado de galoilación es muy débil con respecto a la semilla. Aparentemente la proporción de las diferentes estructuras químicas presentes en la uva depende del patrimonio genético del cepaje. Para un mismo cepaje el contenido de los diversos constituyentes fenólicos de la uva está condicionado por factores agronómicos (tipo de manejo y condiciones climáticas y de suelo). Los taninos son sintetizados durante la primavera (época de crecimiento herbáceo de la baya) y su síntesis finaliza poco después del envero. A partir del fin del envero los contenidos totales de taninos en la uva ya están completados y no cambian durante el proceso de maduración de la uva (Ojeda, 1999). Las diferencias de astringencia que se observan en vinos que provienen de uvas con distinto grado de madurez, pueden atribuirse más a cambios en la extractibilidad de los taninos que a diferencias en los contenidos totales.

Se citan contenidos de proantocianidinas de 0 a 100 mg/L en vinos blancos y de 1.500 a 5.000 mg/L en vinos tintos (Cheinier *et al.*, 1998).

2.2 Los taninos y antocianos en la estructura celular de la baya

En las uvas tintas, los antocianos se encuentran localizados en las vacuolas de las células del hollejo, aunque en las variedades tintoreras, también existen en las células de la pulpa. El hollejo o hipodermis se forma desde el envero, a partir de las células más externas del mesocarpio. Estas células mantienen un tamaño reducido, con paredes gruesas y contienen una gran vacuola, que ocupa la mayor parte del volumen celular. La presencia de antocianos está generalizada en estas células, pero la forma en que aparecen estas sustancias varía entre las distintas células. Amrani-Joutie y Glories (1996), aislando protoplastos del hollejo encontraron que,

en algunas vacuolas, los antocianos estaban dispersos en la solución vacuolar, presentando colores diversos, desde el rosado claro al rojo oscuro. Los autores atribuyeron estas diferencias a variaciones en el pH del jugo vacuolar (pH medio 2,4), a la concentración y tipo de antocianos y al grado de copigmentación. También encontraron otros protoplastos, en cuyas vacuolas aparecían los antocianos concentrados en conglomerados más oscuros, homogéneos y con una superficie irregular. Estos conglomerados ya habían sido observados por Merlin *et al.* (1985), quienes los habían identificado como organelas y denominado “antocianoplastos”. En realidad estos cuerpos carecen de membrana y es más probable que su ocurrencia esté asociada a la existencia de gutículas lipídicas dentro de las vacuolas. La rapidez con la que los antocianos difunden durante la primera etapa de la maceración (Amrani-Joutie y Glories, 1994) apoya la hipótesis de considerarlos como solutos químicos del solvente vacuolar. Desde el punto de vista químico los antocianos vacuolares se encuentran acilados con glucosa y esterificados con cafeico, tartárico o acético.

Los taninos están localizados en el hollejo y en la semilla de la baya de uva. En la el hollejo, aparecen en las células de la epidermis y de la hipodermis. En esta zona existen células con y sin tanino. Amrani-Joutie *et al.* (1994) utilizando técnicas de microscopía óptica y electrónica descubrieron que el tanino del hollejo se encuentra bajo las siguientes formas:

- *Tanino libre dentro del jugo vacuolar:* se visualiza al microscopio como gránulos, tanto más grandes cuanto más externa es la capa de células. En algunas células, las vacuolas tienen a la vez tanino y antocianos libres.
- *Tanino ligado a la membrana interna de la vacuola (tonoplasto):* ligado fuertemente con las proteínas del tonoplasto.
- *Tanino ligado a la pared celular:* este tipo de tanino está preferentemente asociado a los polisacáridos de la pared por uniones con la β -glucosa y β -galactosa. No se excluye la presencia de pequeñas cantidades de moléculas de proantocianidoles libres dentro de la pared.

En la semilla, los taninos se localizan en las células de la epidermis, de la envoltura externa y de la envoltura interna. A medida que avanza la maduración las semillas se cubren de una capa cada vez más gruesa de cutina que limita la extractabilidad de los taninos (Amrani-Joutie y Glories, 1994).

Existen además taninos en los escobajos y en otros órganos herbáceos de la vid.

2.3 Extracción de antocianos y taninos durante la maceración

La maceración es un proceso de extracción fraccionada de la uva que involucra la difusión de sustancias desde la fase sólida - hollejos, semillas, escobajos - y su disolución en el vino (Peynaud, 1984). En el caso de los fenoles, el grado de extracción define la magnitud y la estabilidad del color, la astringencia, la estructura tánica del vino y el potencial del vino para envejecer (Zoecklein, 1991). En las vinificaciones clásicas, sólo cerca de la tercera parte del total de fenoles existentes en la uva pasa al vino. El grado de extracción de las sustancias fenólicas depende de varios factores que inciden en diversa medida, según el tipo de sustancia de que se trate. Entre los factores de extracción pueden citarse la fuerza con que está retenida la sustancia, la afinidad entre soluto y solvente, el tiempo de extracción, la temperatura, la presencia de coadyuvantes, como SO_2 o enzimas pectolíticas y la manipulación de las partes sólidas. Una forma clásica de expresar la extracción de una sustancia ha sido mostrar cómo varía su concentración en el mosto-vino durante la maceración y tratar de establecer un patrón. Debe tenerse en cuenta que, la variación de la concentración no sólo depende del grado de extrac-

ción o ganancia, sino también del ritmo de pérdida. Esta pérdida puede producirse por destrucción oxidativa, por precipitación o por adsorción, y ser más o menos intensa.

Se ha observado que la extracción de los fenoles totales, a lo largo del tiempo, sigue un modelo de curva logarítmica (Ribéreau-Gayon, 1982)(Figura 2.11). Esto significa que al principio la extracción es muy intensa, pero con el tiempo se va frenando, o sea que se puede distinguir claramente un período de extracción rápida y otro mucho más lenta. La extracción de taninos se ajusta a un modelo similar (Boulton, 1995); esto es razonable si se piensa que los taninos constituyen la parte mayoritaria de los fenoles del vino. Los taninos están sujetos a destrucción por oxidación-condensación-precipitación, pero el fenómeno es bastante lento en situaciones normales, y el patrón de cambio de concentración durante la maceración explica sobre todo la extracción.

Con respecto de los antocianos, muchos autores han determinado que las concentraciones de antocianos durante los primeros días de maceración siguen un modelo de crecimiento parecido al de los taninos, pero luego de alcanzar un valor máximo disminuyen paulatinamente (Amrani-Joutei y Glories, 1994; Ribéreau-Gayon; 1982, Somers y Evans, 1979) (Figura 2.11). Los antocianos son muy reactivos y el patrón de evolución de la concentración durante la maceración es una combinación de los fenómenos de ganancia y de pérdida. La pérdida se debe a la adsorción sobre las levaduras y sobre las partes sólidas de la uva, a una pequeña degradación y a su inclusión en los cristales de bitartrato de potasio, que se forman paulatinamente a medida que aumenta el tenor alcohólico (Parley, 1997). Los antocianos son muy reactivos y rápidamente toman parte en reacciones de polimerización con las proantocianidinas de la uva y con el acetaldehído formado por las levaduras. Durante la fermentación estos polímeros pueden combinarse con las proteínas y volverse insolubles, o con los polisacáridos que en parte precipitan debido al contenido creciente de alcohol. El aumento en el contenido de alcohol también provoca una pequeña disminución de los efectos copigmentación y autocopigmentación y esto también aporta a la disminución del color (Somers y Evans, 1979).

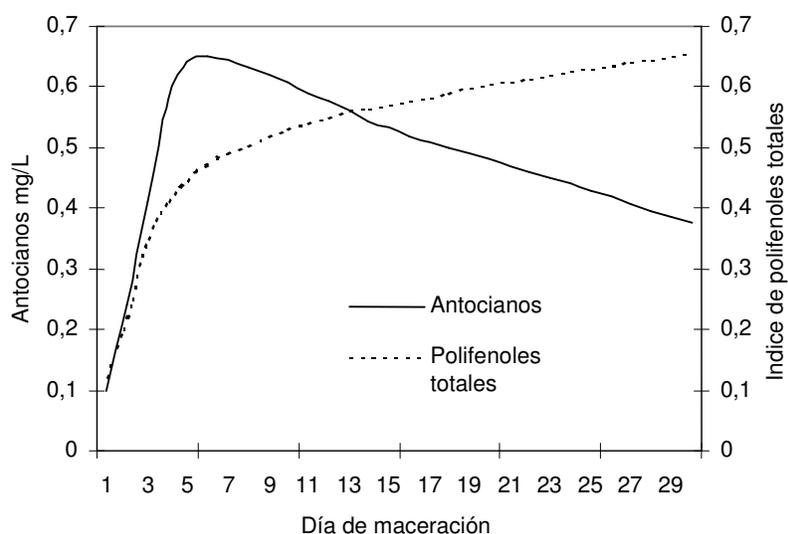


Figura 2.11: Evolución del contenido de antocianos y polifenoles totales durante la maceración de un vino tinto según Ribéreau-Gayon (1982). *Evolution du contenu des anthocyanes et des polyphenols totaux pendant la macération de un vin rouge, selon Ribéreau-Gayon (1982).*

La rapidez con que los antocianos son extraídos se debe a su alta disponibilidad, pues están disueltos en el jugo vacuolar; su difusión requiere la desorganización del tonoplasto, el plasmalema y la pared celular; y la existencia de un continuo de solvente, con un alto gradiente de concentración. Esto último se logra mediante la homogeneización y el regado del sombrero. La falta de alcohol al principio de la vinificación no es un obstáculo para la extracción, pues los antocianos son muy hidrosolubles.

En cuanto a los taninos, la primera etapa, de difusión rápida, corresponde sobre todo a los taninos de los hollejos, que están más disponibles. Los taninos de las semillas se difunden más lentamente y requieren un mayor contenido de alcohol para asegurar su disolución. Una importante extracción de catequinas y taninos de las semillas es un rasgo propio de las vinificaciones con una maceración extendida. Las curvas de extracción de semillas solas, en soluciones modelos, se ajustan muy bien con las curvas de extracción de proantocianidinas en el vino, indicando que las semillas son la fuente más importante de taninos (Amrani Joutei y Glories, 1994; Boulton, 1995). La extractibilidad de los taninos depende de su estado y localización; los taninos ligados en el tonoplasto y en la pared celular son difícilmente extraíbles sin la intervención de enzimas apropiadas (de la uva o agregadas). La utilización de enzimas pectolíticas durante la maceración favorecería la destrucción de las paredes celulares y permitiría la liberación de taninos ligados a los polisacáridos y a las membranas vacuolares, así como de las grandes moléculas de taninos libres intravacuolares, menos agresivos hacia las proteínas y por lo tanto menos astringentes. La extracción de taninos se ve favorecida por maceraciones prolongadas, alto contenido de etanol, que solubiliza a estos compuestos, altos niveles de SO_2 , que permeabiliza las membranas celulares, y alta temperatura. Durante las primeras fases de la maceración son preferentemente extraídos los taninos de la película, ricos en prodelphinidinas y pobremente galoilados. Si la maceración se prolonga, aumenta la extracción de taninos de las semillas fuertemente galoilados.

Amrani-Joutei y Glories (1994) macerando hollejos en soluciones similares al vino, encontraron que la extracción, tanto de antocianos y como de taninos, seguía un patrón muy parecido al de la extracción de antocianos durante la vinificación clásica. Esto significa que se alcanzaba un máximo a las pocas horas de iniciada la maceración y luego los contenidos disminuían paulatinamente, por adsorción sobre las partes sólidas. Las curvas de extracción diferían en que, la difusión inicial de antocianos era más rápida que la de taninos y la caída del contenido de taninos era menor que la de antocianos, cuando en la solución extractante existía una cantidad apreciable de alcohol. Las cantidades extraídas en el pico máximo fueron cercanas al 80% para taninos y antocianos, respecto de sus reservas tecnológicas, valores que indican una muy alta difusibilidad. Estos mismos autores, macerando semillas en similares condiciones, observaron que la tasa de extracción de los taninos fue mucho más lenta que la de los taninos de los hollejos, pero se concentró nunca disminuyó. Las cantidades extraídas en soluciones acuosas no superaron el 50% de la reserva tecnológica, aunque debe tenerse en cuenta que esta reserva era aproximadamente diez veces más grande que la de los hollejos. Las menores tasas de extracción de los taninos de las semillas demuestran su menor disponibilidad debido a la barrera contra la difusión que establece la cutina. El alcohol, en este caso, es indispensable como solvente y extractante. Estos autores también encontraron diferencias de extractabilidad en los taninos del hollejo, debidas al grado de madurez de la uva; la extractabilidad de los taninos del hollejo crecía a medida que avanzaba la maduración debido a la actividad pectolítica que se desencadena en el nivel de las paredes celulares.

Numerosos autores han determinado que un mayor tiempo de contacto con los orujos generalmente da más color, más flavonoides, más taninos, menos antocianos monoméricos y más

fenoles poliméricos y color polimérico (Scudamore-Smith *et al.*, 1990; Kantz y Singleton, 1991; Kovac *et al.*, 1992, Sims y Bates, 1994; Auw *et al.*, 1996). Los vinos se pueden volver más astringentes, con más intensidad aromática, luego, con un mayor tiempo de contacto aún, el aroma se hace menos frutado. La astringencia generalmente no se hace excesiva a medida que pasa el tiempo, y aun puede decrecer (Schmidt y Noble, 1983; Scudamore-Smith *et al.* 1990; Sims y Bates, 1994). Aunque en un estudio con Merlot, los vinos que fueron dejados 8 a 16 días en contacto con los hollejos fueron más altamente calificados en la degustación, frente a aquellos que tuvieron 32 o 64 días de contacto. Estos últimos fueron juzgados como astringentes, amargos y con menos aroma y complejidad aromática (Yokotsuka *et al.*, 1996). Ensayos de maceración posfermentativa en California, con Cabernet Sauvignon y Merlot, no han encontrado diferencias significativas en la composición, porcentajes de polimerización y características sensoriales, resultantes de este tratamiento (Boulton, 1995). Asselin *et al.* (1999) experimentando con 4, 8 y 15 días de maceración en Cabernet Franc proveniente de distintos terruños, determinaron que los vinos con 8 días eran muy superiores en color y antocianos que los de 4 y 15 días; por otro lado, los vinos de 15 tenían un mayor contenido de taninos totales, procianidinas y taninos galolados, lo que fue asociado con gustos tánicos verdes y herbáceos; los vinos con 8 días tenían contenidos de prodelfinidina mayores, lo que fue asociado con gustos a taninos secantes.

La extracción y/o retención de fenoles monoméricos y poliméricos generalmente se incrementa con el tiempo de contacto y las cantidades extraídas en el vino son proporcionales a los contenidos en las uvas para ambos grupos (Kantz y Singleton, 1991). También se ha observado una relación directa entre el contenido total de fenoles monoméricos y el de fenoles poliméricos para vinos jóvenes, con varios tiempos de maceración (Kantz y Singleton, 1991). Debido a esto, el contenido de ácido gálico en el vino, el cual proviene únicamente de las semillas si el vino no ha estado en contacto con madera de roble, puede ser utilizado como un indicador de la magnitud de la extracción de las semillas.

La temperatura de maceración es un factor que influencia la extracción. Un incremento de la temperatura tiene el efecto de degradar las paredes celulares, incrementando la difusión y la acción de enzimas, como las pectolíticas. Se ha observado que la tasa de extracción de fenoles de los orujos se incrementa significativamente con el aumento de la temperatura (Ramey *et al.*, 1986; Merida *et al.*, 1991). Esto también se ha observado en semillas (Singleton y Draper, 1964; Oszmianski *et al.*, 1986). Lee *et al.* (1977) encontraron un incremento lineal en la extracción de color con el incremento de la temperatura de fermentación de 15 a 33° C. Algunos autores creen que con temperaturas menores a 25° C durante la fermentación se producen vinos bajos en fenoles, pero altos en aromas frutados y con temperaturas mayores a 28° C se producen vinos más tánicos, con menos aromas frutados, aunque posiblemente con mayor complejidad aromática (Zoecklein, 1991).

2.4 Reactividad química de los taninos y antocianos

2.4.1 Equilibrio de los antocianos de acuerdo al pH

Los antocianos son solubles en agua y en este medio están sujetos a transformaciones estructurales que determinan su color y estabilidad. La porción aglicona de la molécula es muy reactiva, pero los grupos sustituyentes, hidroxilo, metoxi y azúcar, modifican su reactividad cambiando la distribución de electrones de la molécula. En soluciones acuosas levemente ácidas a temperatura ambiente, los antocianos existen básicamente como cuatro formas que están en

equilibrio. Estas son, la base quinoidal azul A, el catión flavilium rojo AH^+ , la base hemiacetal incolora B y la forma chalcona incolora C (Brouillard y Delaporte, 1977) (Figura 2.12).

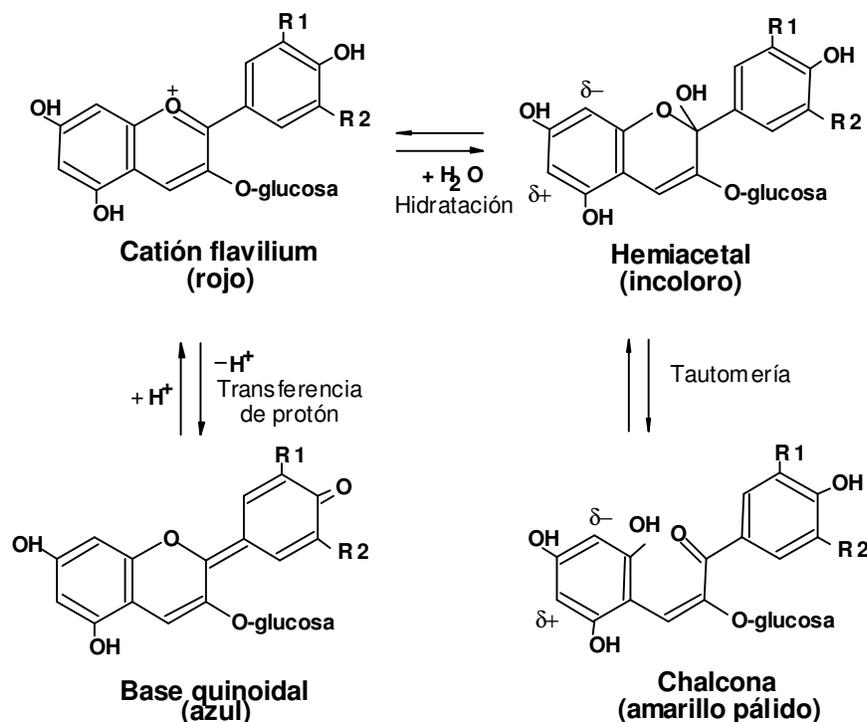
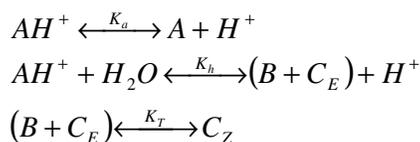


Figura 2.12: Equilibrios de los antocianos en soluciones acuosas (Brouillard y Dalaprote, 1977). *Equilibres des anthocyanes en solutions aqueuses (Brouillard y Dalaprote, 1977).*

Algunas de estas formas son importantes en las condiciones de pH y temperatura del vino. La base quinoidal existe como una mezcla de tres formas, las cuales están en equilibrio con el catión flavilium. Estas formas quinoidales corresponden a la pérdida de un protón del grupo oxhidrilo en el carbono 4', 5 o 7. Una proporción apreciable de estas estructuras quinoidales sólo se encuentran a pH mucho más básicos que los encontrados en los vinos o en las vacuolas de los hollejos. También se encuentra en equilibrio con el catión flavilium, la base hemiacetal incolora, que se forma por un ataque nucleofílico del agua sobre el carbono 2. La base hemiacetal, a su vez, se encuentra en equilibrio rápido con la forma cis-chalcona de anillo abierto (C_E). La cis-chalcona se mantiene en un equilibrio lento con la tras-chalcona (C_Z). Las reacciones de equilibrio entre las distintas formas se pueden resumir así (Brouillard y Delaporte, 1977; Brouillard y Lang, 1990):



Donde K_a , K_h y K_T son las constantes de equilibrio por las reacciones ácido-base, de hidratación y de tautomería del anillo cíclico, respectivamente. Estas constantes pueden definirse así:

$$K_a = ([A]/[AH^+])a_{H^+}$$

$$K_h = (([B]+[C_E])/[AH^+])a_{H^+}$$

$$K_T = ([C_Z]/([B]+[C_E]))a_{H^+}$$

Donde a_{H^+} es la actividad de hidrogenión, definida por $pH = -\log_{10} a_{H^+}$. Las concentraciones de B y C_E se consideran juntas porque su equilibrio es extremadamente rápido y la cis-chalcona no fue detectada en el trabajo original que determinó los equilibrios de los antocianos (Brouillard y Lang, 1990). Los valores de K para las reacciones incluidas arriba se muestran en la Tabla 2.3.

Tabla 2.3: Constantes termodinámicas para las transformaciones estructurales de malvidina-3-monoglucosido en solución acuosa 0,2 M a 25°C (Brouillard y Delaporte, 1977). *Constantes thermodynamiques pour les transformations structurelles de la malvidine-3-monoglucoside en solution aqueuse 0,2 M a 25°C (Brouillard y Delaporte, 1977).*

	Acido-Base	Hidratación	Tautomería	cis-Chalcona ^a
K	$K_a = 5.7 \times 10^{-5}M$	$K_h = 2.5 \times 10^{-3}M$	$K_T = 0.12$	$K_{T'} = 0.25$
pK	pKa = 4.25	pKh = 2.6		
Entalpía	$\Delta H = -3 \text{ kcal/mol}$	$\Delta H = 4.7 \text{ kcal/mol}$	$\Delta H = 3.7 \text{ kcal/mol}$	$\Delta H = 20.7 \text{ kJ/mol}$

^a de Brouillard y Lang (1990), donde $K_{T'} = [C_E]/[B]$.

Usando los valores de K medidos; definiendo la concentración total de antocianina (C_o), como $C_o = [AH^+] + [A] + ([B]+[C_E]) + [C_Z]$; y reescribiendo las reacciones de equilibrio (1 a 3), se puede observar que la cantidad relativa de cada una de las formas de equilibrio de malvidina-3-monoglucosido, puede ser calculado por las siguientes expresiones:

$$[AH^+] = (a_{H^+}/\delta)C_o$$

$$[A] = (K_a/\delta)C_o$$

$$([B]+[C_E]) = (K_h/\delta)C_o$$

$$[C_Z] = (K_h K_T/\delta)C_o$$

$$\text{donde } \delta = K_a + K_h + K_h K_T + a_{H^+} \text{ (Brouillard, 1982).}$$

La distribución de los equilibrios en función del pH puede observarse en la Figura 2.13.

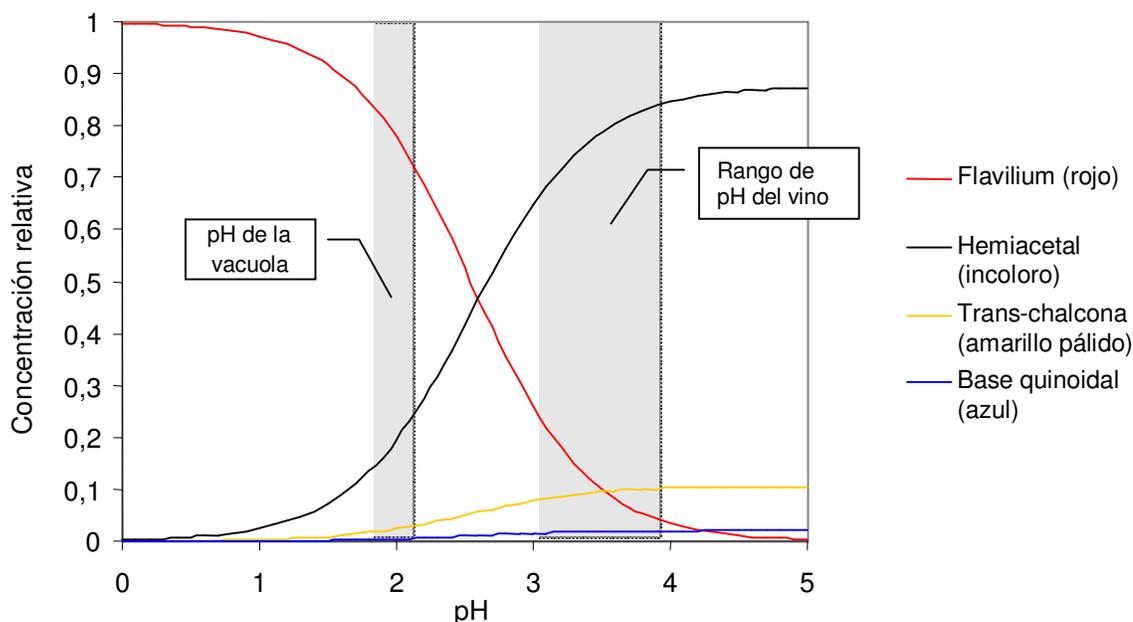


Figura 2.13: Distribución de los equilibrios de las principales formas de malvidina-3-monoglucósido en función del pH, a 25°C (Brouillard y Delaporte, 1977). *Distribution des equilibres des principaux formes de la malvidine-3- monoglucoside en fonction du pH, a 25°C (Brouillard y Delaporte, 1977).*

La Figura 2.13 muestra que en el rango de pH de los vinos (3,2 a 3,9), sólo alrededor del 20% del total de los antocianos monoméricos están presentes en la forma flavilium roja y cerca del 75% se encuentra bajo la forma hemiacetal no coloreada. El resto está casi todo en forma chalcona, casi incolora de anillo abierto y una muy pequeña cantidad puede estar presente como forma quinoidal azul. En el pH de la vacuola (alrededor de 2), predomina la forma flavilium roja. La forma chalcona es un poco menos estable que las formas hemiacetal y flavilium, y su formación se ve favorecida por pH alto y altas temperaturas, debido a la alta entalpía que requiere la reacción. La Figura 2.13 muestra también que las soluciones acuosas de antocianinas pueden actuar como una especie de indicador de pH, cambiando del rojo al azul a medida que el pH se incrementa.

Cuanto más alto es el pH del vino el equilibrio se desplaza más hacia la formación de hemiacetal primero y de chalcona después. Esto conduce a la pérdida de la glucosa en el C3 con la consecuente pérdida de estabilidad de la molécula. La forma chalcona se caracteriza por la apertura del anillo pirilico en el C2. Esto destruye la configuración planar de la molécula y permite su rotación y escisión. Este mecanismo, que no es oxidativo, es uno de los más frecuentes en la degradación de los antocianos del vino.

2.4.2 Efecto del dióxido de azufre sobre los antocianos

El SO₂, agregado al vino como antiséptico y antioxidante, se liga a los antocianos rápidamente dando un compuesto incoloro. El ligamiento se produce entre una molécula de metabisulfito y el carbono 4 de una molécula de antociano (Figura 2.14).

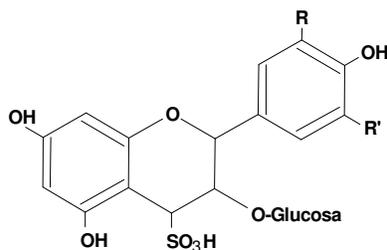
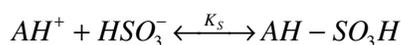


Figura 2.14: Compuesto de adición bisulfito-antocianina incoloro. *Composé d'addition bisulfite-anthocyanidine incolore.*

La reacción es reversible puede ser escrita como:



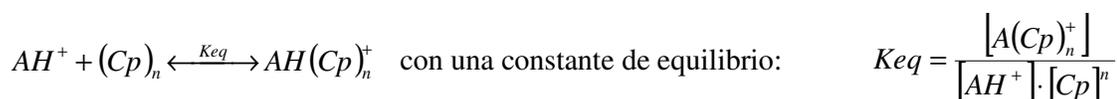
La constante de equilibrio de esta reacción es grande, indicando que pequeñas cantidades de SO_2 pueden decolorar grandes cantidades de antocianos (Timberlake y Bridle, 1967). El bisulfito reacciona rápidamente con el flavilium y la reacción inversa es igual de rápida, si el bisulfito es removido del medio. K_s es aparentemente dependiente del pH pero esto se considera que se debe al hecho de que el SO_2 mismo existe en un equilibrio en el vino y cuando el pH baja este equilibrio cambia de la forma bisulfito, que reacciona con los antocianos, a la forma molecular SO_2 que no reacciona. La forma incolora de adición con el bisulfito sólo está en equilibrio con la forma flavilium (Somers y Verette, 1988). Se ha observado que la influencia del SO_2 libre es mucho más grande que la del pH, en el equilibrio y decoloración de los antocianos del vino (Somers y Westcombe, 1982).

2.4.3 Copigmentación y autocopigmentación de los antocianos

Los antocianos en soluciones acuosas concentradas, y en presencia de ciertos compuestos fenólicos incoloros conocidos como copigmentos, tienden a formar apilamientos lábiles que producen una intensificación del color y un aumento de las tonalidades azul y violeta. Este fenómeno es conocido como copigmentación (Asen *et al.*, 1972). La intensificación del color puede ser de entre 2 a 6 veces, con respecto a la de los antocianinos sin copigmentar. Este fenómeno justifica hasta el 40% del color de los vinos jóvenes, de menos de 6 meses de edad (Boulton, 2001). Los copigmentos son generalmente compuestos fenólicos monoméricos como los ácidos hidroxicinnámicos, las catequinas y las flavonas. No existe evidencia de que los taninos puedan actuar como copigmentos (Boulton, 1999b). El color atribuible a la copigmentación se pierde con la dilución. Esta particularidad, se manifiesta como una violación de la ley de Beer, que establece una relación lineal entre las concentraciones de un soluto ópticamente activo y su absorbancia lumínica. Esta excepción, que permitió el descubrimiento de la copigmentación, ha hecho posible su evaluación en el vino. El aumento en el color debido a la copigmentación, o hipercromismo, es acompañado generalmente de un aumento en la longitud de onda de absorbancia máxima - efecto batocromo -, en 20 nm aproximadamente (Baranac *et al.*, 1996). Esto significa la expresión de tonos azules y morados en los vinos tintos, con un alto nivel de copigmentación. Existe evidencia que el apilamiento entre antociano y copigmento se produce por interacciones hidrofóbicas, como puentes de hidrógeno, y no por unio-

nes covalentes. De ahí que estas asociaciones puedan ser perturbadas por la dilución. Durante el primer año de estacionamiento del vino los antocianos monoméricos - copigmentados o libres - se polimerizan con los taninos en una alta proporción. Las consecuencias de este proceso son la pérdida de la copigmentación y la caída de la intensidad colorante del vino de hasta un 50%. Parece ser que la formación de pigmento polimérico rojo está asociada a la cantidad de copigmentación inicial. Esto se debería a que los apilamientos copigmentados protegerían a los antocianos contra la oxidación y favorecerían la formación de uniones covalentes entre taninos y antocianos (Boulton, 2001). Esta teoría no ha sido aún probada en forma concluyente. También parece que los antocianos que están copigmentados son más resistentes a la degradación, evitándose la hidratación del flavilium a hemiacetal, que es el paso previo a la formación de chalcona (Mazza y Brouillard, 1990).

Los antocianos (A) y los copigmentos (Cp) están en un equilibrio fácilmente dissociable, como se muestra a continuación (Brouillard *et al.*, 1989):



Siendo n la constante estequiométrica, la cual toma, para cada par antociano copigmento, valores que se acercan a 1 para apilamientos $1AH^+:1Cp$, o a 0,5 para apilamientos $1AH^+:1Cp:1AH^+$ (Davies y Mazza, 1993). Existe una constante de equilibrio para cada par antociano-copigmento y cuanto más elevada es ésta, se forma más copigmento.

Dentro de los copigmentos que aparecen en el vino, las flavonas quercetina y kaempferol, tienen un efecto fuerte; las catequinas, un efecto moderado y los ácidos hidroxicinnámicos, cafeico y caftárico, y el ácido gálico, un efecto débil. Típicamente los copigmentos fuertes presentan constantes de equilibrio altas: para el par malvidina-quercetina, $K \cong 4.000 M^{-1}$, mientras para el par malvidina-cafeico, $K \cong 20 M^{-1}$. Si bien las catequinas tienen un poder moderado como copigmentos comparándolas con las flavonas, debe tenerse en cuenta que en el vino existen 10 veces más catequinas que flavonas. La estructura y concentración de los copigmentos, de los antocianos y el pH de la solución tienen un efecto notorio sobre el grado de copigmentación (Davies y Mazza, 1993). Para muchos pares antociano-copigmento, el pH de máxima copigmentación se encuentra entre 3,2 y 4,7. Parece que la mayoría de los vinos están limitados en la formación de complejos de copigmentación, no por la disponibilidad de antocianos o el pH, sino por la disponibilidad de copigmentos, esto queda evidenciado por la capacidad de aumentar el color por el agregado de copigmentos (Boulton, 1999a; Boulton, 1999b).

El color de un vino joven está dado por la suma de pigmento libre, pigmento copigmentado y pigmento polimérico. Debido a la débil unión que otorga la copigmentación, cuando se provoca una dilución de a 25 veces con un buffer de pH y alcohol constante, se rompe la copigmentación y el color sólo se debe al pigmento libre polimérico y a las antocianinas totales. Boulton (1999a) utilizando esta propiedad determinó que, en vinos Pinot Noir jóvenes, el color debido a la copigmentación era cercano al 30% del color total, en promedio. También encontró que las variaciones en el porcentaje de copigmentación eran altas (>50%) y se debían a las diferencias de zona de origen de la uva, portainjerto y manejo del viñedo.

Un fenómeno relacionado con la copigmentación, que también se da en soluciones acuosas concentradas, es el de la autoasociación o autocopigmentación, en donde los pigmentos forman agregados o apilamientos con ellos mismos. En estudios sobre los equilibrios de los antocianos Asen *et al.* (1972), trabajando con soluciones de cianidina-3,5-diglucósido, sin la presencia de copigmentos, había notado que estos no obedecían la ley de Beer salvo a muy altas diluciones. Esto demostró que el color de los antocianos no sólo era dependiente del pH del medio acuoso, sino de la propia concentración del pigmento. Este efecto fue atribuido a la autoasociación por Asen *et al.* (1972). Estudios posteriores demostraron que tanto el flavilium como la base quinoidal, coloreados, podían formar apilamientos entre la parte cromófora de la molécula y la porción glicosídica (Figura 2.15). Esta disposición es hidrófoba y evita la hidratación y consecuente pérdida de color del anillo pirilium (Hoshino, 1991; 1992). La autoasociación ha sido encontrada en soluciones modelo conteniendo etanol, pero en menor medida que en soluciones acuosas (Mazza, 1995) por lo que su rol en el vino ha recibido poca atención. Algunas variedades de uva como Pinot Noir, carecen antocianos acilados y tienen una menor capacidad para formar compuestos de autoasociación.

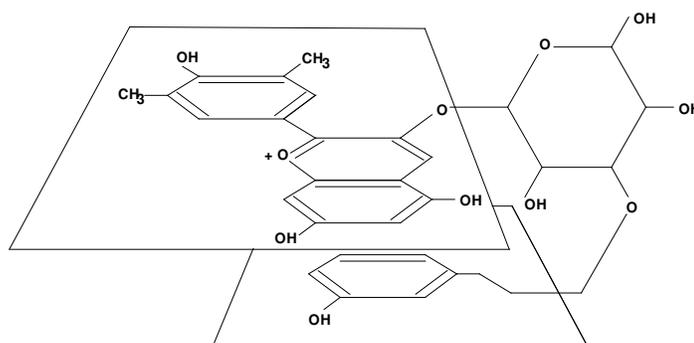


Figura 2.15: Autoasociación de malvidina-3-glucosa cumarato. *Autoasociation de la malvidine-3-glucose cumarate*

2.4.4 Condensación de antocianos y taninos

Durante la fermentación alcohólica y luego, durante el envejecimiento del vino, los taninos reaccionan con los antocianos, para dar compuestos coloreados, rojos, que son menos afectados por el pH y los sulfitos, que los antocianos libres. En los vinos de un año se estima que un 50% del color puede deberse a estos agregados. En vinos más viejos esta proporción aumenta (Ribéreau-Gayon, 1982). El color rojo teja de los vinos muy viejos se debe en parte a la existencia de estos compuestos y en parte al color que toman los taninos al oxidarse.

Los taninos también pueden condensarse con otros 3-flavanoles presentes en el vino, como catequinas monómeras u otras proantocianidinas. Este tipo de condensación entre antocianos y taninos o entre taninos y taninos es de tipo no oxidativo y conduce a un aumento en el tamaño de las moléculas.

Existen distintas posibilidades bajo las que se pueden asociar los antocianos y los taninos. Entre las principales se encuentran las adiciones antociano-tanino, las adiciones tanino-antociano y tanino-tanino y las uniones por intermedio de un puente etanal.

Adición antociano-tanino (A – T): en la figura 2.16 se muestra un esquema de esta reacción. La adición ocurre entre el catión flavilium, que juega un papel electrófilo (en el C 4 del su anillo heterocíclico) y el tanino, que actúa como nucleófilo en el C 6 o el C 8 del anillo A. El compuesto de adición formado toma una coloración rojo anaranjada luego de oxidarse. El aumento del color que ocurre luego del primer trasiego en presencia de oxígeno podría deberse en parte a este fenómeno.

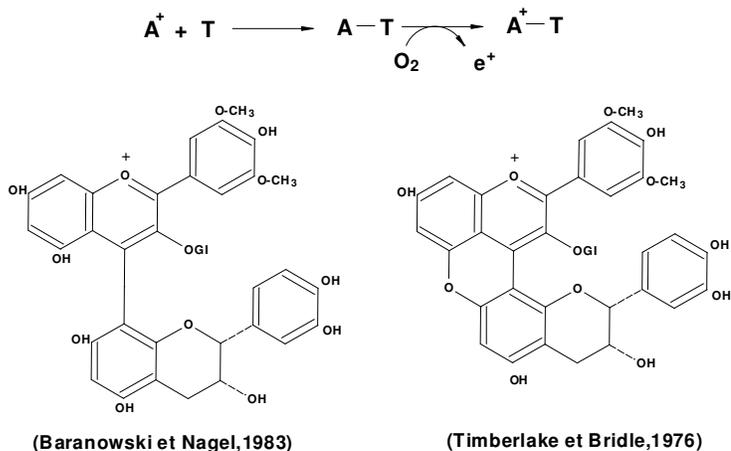


Figura 2.16: Adición antociano-tanino y compuestos formados. *Adition anthocyan-tannin et composés formée.*

Adición tanino-antociano (T – A) o tanino-tanino (T – T): la figura 2.17 muestra el esquema de esta reacción. En este caso el electrófilo es un carbocatión, con la carga positiva situada en el C 4 del núcleo heterocíclico, liberado por la ruptura de uniones interflavánicas de los taninos. Este carbocatión puede reaccionar con el nucleófilo (C 6 o el C 8 del anillo A) de un antociano o de otra molécula de 3-flavanol. Los compuestos formados con los antocianos, también son de color rojo anaranjado y contribuyen al color de los vinos viejos. Las adiciones T – T conducen a la formación de nuevas proantocianidinas. Los procesos de ruptura y recombinación pueden conducir en algunos casos a un aumento del grado de polimerización de los taninos. También se ha citado que cuando en el vino hay un exceso de 3 flavanoles monómeros esta vía de reacciones puede conducir a una disminución del grado de polimerización (Cheynier et al., 1998).

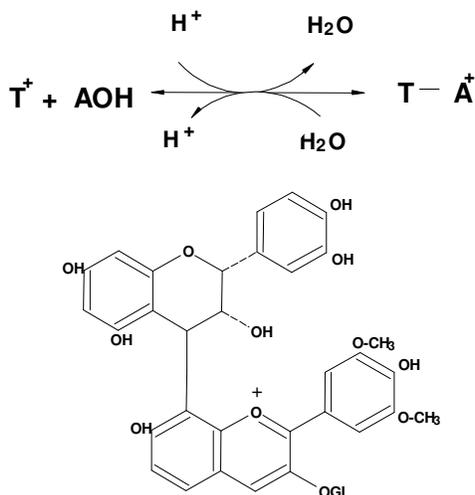


Figura 2.17: Reacción de adición tanino - antociano y compuesto formado (Haslam, 1980).
Réaction d'addition tannin-anthocyane et composé formé (Haslam, 1980).

Condensación antociano tanino por intermedio de un puente etanal: las reacciones precedentes son lentas en formarse, pero se hacen más rápidas en presencia de etanal. El compuesto formado (T – etanal – A) tiene una coloración rojo violeta intensa. Se cree que este color puede deberse a fenómenos de copigmentación intramolecular pues la molécula es lo suficientemente larga como para poder plegarse sobre sí misma y formar un paquete similar al que se forma durante la copigmentación propiamente dicha. La figura 2.18 muestra el compuesto formado en esta reacción.

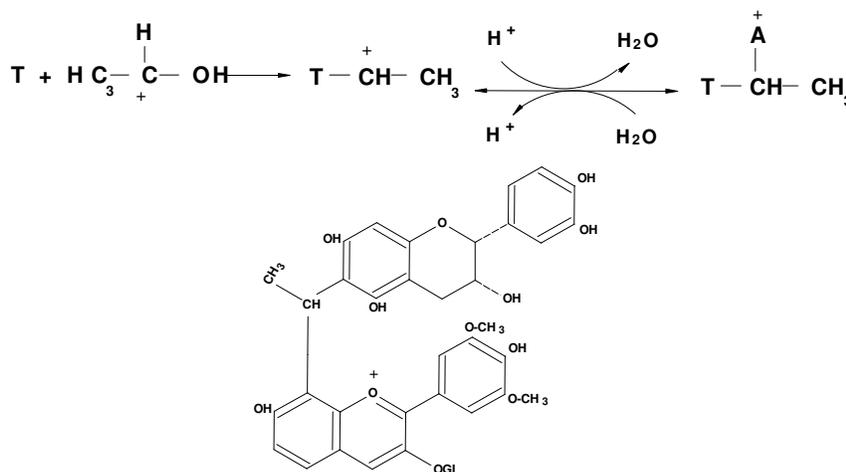


Figura 2.18 Condensación tanino-antociano mediante un puente etanal (Timberlake y Bridle, 1976).
Condensation tannin-anthocyanine avec un pont etanal (Timberlake y Bridle, 1976).

2.4.5 Oxidación de antocianos y taninos

Los antocianos y las proantocianidinas tienen propensión a oxidarse debido a la facilidad con que los anillos ortodifenoles, presentes en el ciclo B o en el anillo del galato, se transforman en quinonas o semiquinonas. En general las oxidaciones de los taninos son promovidas por la presencia de enzimas polifenoloxidasas. La oxidación es además favorecida por la presencia de ácidos hidroxycinnámicos, metales catalizadores (Fe, Cu), oxígeno disuelto, altas temperaturas y pH elevado (>3,6). Los productos de la oxidación son de color pardo y son muy propensos a condensarse y precipitar.

La presencia de polifenoloxidasas provenientes del ataque de *Botrytis* (lacasa) o propias de la uva (tirosinasa) está estrechamente asociada con estos fenómenos de oxidación. La oxidación puede realizarse aún sin estas enzimas aunque, en general, en una forma más lenta. La presencia de ácidos hidroxycinnámicos, como caftárico y cafeoil tartárico, juega un rol importante en estas reacciones, pues actúan como un motor de la oxidación de los fenoles, oxidándose y reduciéndose alternativamente durante todo el proceso, sin consumirse ellos mismos. El pH elevado permite una mayor concentración de sustrato oxidable que es la forma fenato del dihidroxifenol (el equilibrio dihidroxifenol/fenato tiene un pK entre 9 y 10). Los cationes metálicos como Fe^{+2} intervienen reaccionando con el O_2 para producir el radical superóxido que actúa como oxidante.

En la figura 2.19 se presenta un esquema abreviado del proceso de oxidación de las proantocianidinas, según Moutounet (2000).

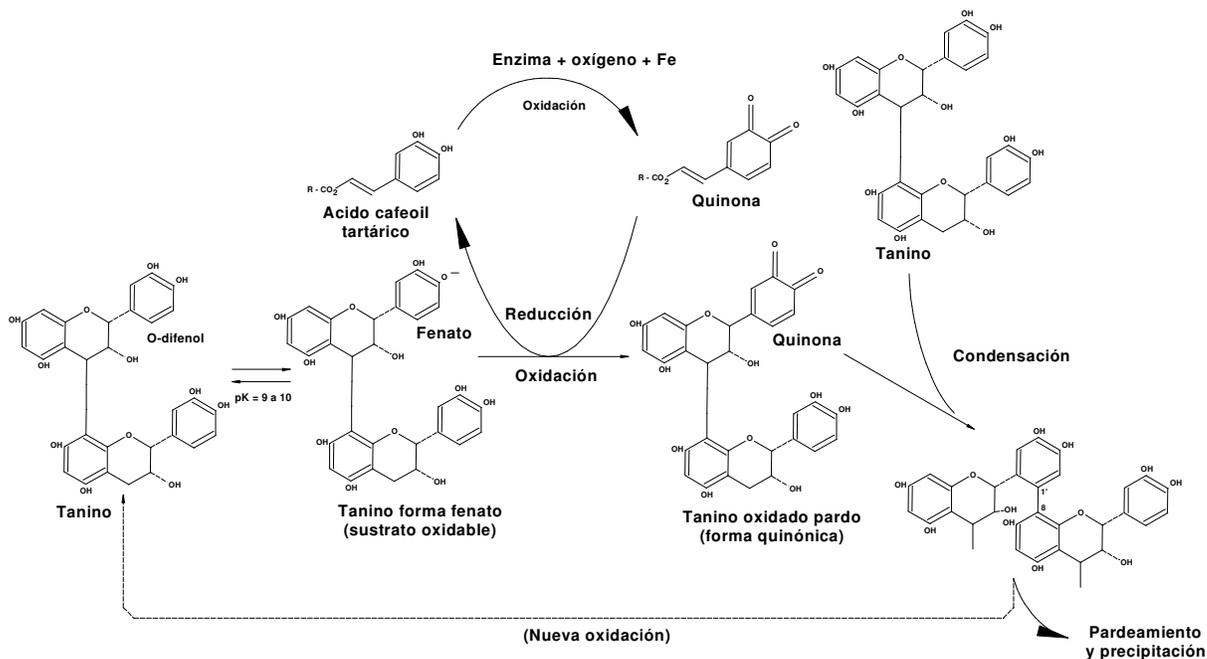


Figura 2.19 Esquema de la oxidación de las proantocianidinas. *Schéma de l'oxydation des proanthocyanidines.*

2.4.6 Interacciones de los taninos con las proteínas y los polisacáridos. Astringencia de los taninos

La capacidad de los taninos para precipitar las proteínas salivares es causante de la sensación de astringencia que producen los vinos tintos. Esta sensación se define como una impresión de sequedad en el interior de la boca (Noble, 1990). Numerosos autores han encontrado una asociación positiva entre el contenido global de taninos y la intensidad de la sensación astringente (Cravero, 1996; Brossaud, 1999; Brossaud *et al.*, 2001). Por otro lado, cuanto mayor es el grado de polimerización de las proantocianidinas mayor es la sensación de astringencia (Peleg *et al.*, 1999). Esto se explica por el comportamiento químico de los taninos. Se ha observado que los taninos de peso molecular muy alto y muy galoilados precipitan las proteínas de la saliva, mientras los taninos menos polimerizados no lo hacen (Sarni-Manchado *et al.*, 1999a). Este tipo de taninos tienen también la capacidad específica de precipitar otras proteínas globulares como la gelatina (Sarni-Manchado *et al.*, 1999b). Cuando se agrega gelatina a un vino, debido a la pérdida de éste tipo de taninos, disminuye perceptiblemente la astringencia. Si se analizan los precipitados formados por los taninos y las proteínas del clarificante se ve que se trata de los taninos de mayor peso molecular y más galoilados (Maury *et al.*, 2001).

Actualmente, el modelo explicativo sobre las propiedades de los taninos en el vino indica que estos, luego de sufrir distintos procesos de polimerización y condensación, se reúnen en agregados cada vez más grandes mediante uniones hidrófobas hasta formar partículas con propiedades coloidales. Estos agregados coloidales eventualmente seguirán creciendo y terminarán precipitando. Si los agregados coloidales toman contacto con proteínas son capaces de formar agregados más grandes que también precipitan. Las uniones entre taninos y proteínas se explican por la facilidad que tienen para formar puentes de hidrógeno, interacciones hidrófobas y uniones iónicas (Saucier, 1997). La cantidad de o-difenoles y o-trifenoles accesibles en los taninos parece tener un rol preponderante en este tipo de reacciones (Maury *et al.*, 2001)

Por otro lado, los polisacáridos tienen la capacidad de formar uniones con los taninos más pequeños e impiden que crezcan los agregados de taninos, a la vez que bloquean los puntos activos que precipitan las proteínas y causan la sensación astringente (Saucier, 1997; Saucier *et al.*, 2000). Los polisacáridos del vino son macromoléculas que provienen de las disgregaciones de la pared de la levadura (manoproteínas) y de la pectina de la pared celular de la baya (arabino-galactanos, arabinogalactano-proteínas y ramno-galacturonanos I y II) (Doco *et al.*, 2000). Estas sustancias cumplen una función protectora al evitar la precipitación de los taninos y de las uniones de taninos y antocianos. También tienen un efecto suavizante frente a la astringencia de los taninos. El agregado de goma arábiga al vino, cumple una función similar. La figura 2.20 presenta un esquema de este modelo del comportamiento coloidal de los taninos (Saucier *et al.*, 2000).

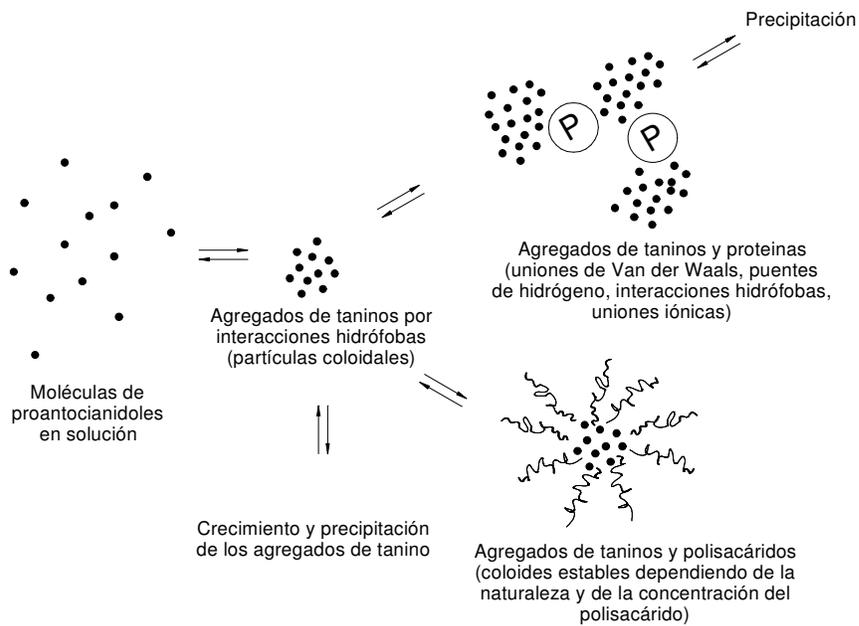


Figura 2.20 Modelo del comportamiento coloidal de los taninos. *Model du comportement colloïdal des tannins.*

Capítulo 3 MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Determinación de la reserva tecnológica de las uvas vinificadas

Las uvas vinificadas, Cabernet Sauvignon y Malbec, provinieron de dos viñedos de Agrelo, Luján de Cuyo, Mendoza. En el caso de las uvas Malbec presentaban un pequeño ataque de podredumbre de los racimos (< 1% del peso total).

Para determinar la reserva de compuestos fenólicos de las uvas, se siguió la metodología de extracción propuesta por Ojeda (1999). Para ello se tomaron muestras de éstas, durante la fase final de maduración (mes de marzo de 2001). Las muestras consistieron en 200 bayas tomadas al azar. Las uvas se separaron por clases, correspondientes a sus diámetros, con diferencias de 2 mm, mediante un juego de tamices. Las clases modales se conservaron congelándolas a -20°C hasta su posterior análisis.

Las uvas luego se descongelaron a temperatura ambiente, se separaron las semillas de la pulpa y del hollejo y se pesaron estos componentes por separado. Los hollejos se congelaron en nitrógeno líquido, se pulverizaron en mortero y se pusieron a macerar en tubos con acetona 70% (v/v en agua), en proporción aproximada de 4,5% de hollejos. Los tubos fueron sometidos a agitación mecánica por 15 minutos, a ultrasonido por 30 minutos y se centrifugaron a 10.000 rpm durante 10 minutos. Los extractos sobrenadantes se conservaron a -20°C y se utilizaron para la determinación de la reserva tecnológica de antocianos, catequinas y proantocianidinas (taninos totales). Para la determinación se utilizó la metodología analítica que se detalla en el punto 3.4.

3.2 Determinación de la evolución de componentes fenólicos durante la maceración

A fin de determinar la evolución de los componentes fenólicos durante la vinificación, se tomaron muestras de mosto-vino de dos vinificaciones “madres”, una de Cabernet Sauvignon y otra de Malbec, durante los 21 días que duró el proceso de maceración. Las vinificaciones se realizaron en tanques de 20.000 L, en la bodega Lagarde, de Luján de Cuyo, Mendoza, en abril de 2001. El sistema de maceración fue el clásico, manteniendo el sombrero flotante y regándolo con el mosto-vino dos veces por día, mediante remontajes. Estos remontajes fueron lo suficientemente largos para hacer pasar todo el volumen del tanque en cada operación. Simultáneamente con la maceración, se desarrolló la fermentación alcohólica, a aproximadamente 28°C . Se agregó una única dosis de SO_2 de 40 mg/L inmediatamente después de encubar la vendimia molida. La fermentación de Malbec fue mucho más rápida que la de Cabernet Sauvignon y al 6° día había agotado la mayor parte de los azúcares fermentables. El Cabernet recién al 9° día consumió la mayoría de los azúcares. En la Figura 3.1 se ilustra la evolución de la densidad del mosto-vino y su temperatura a lo largo de la fermentación de cada una de las vinificaciones madres sobre las que se realizaron las observaciones. El vino Cabernet Sauvignon resultó con un pH de 3,6 y el Malbec con 3,7.

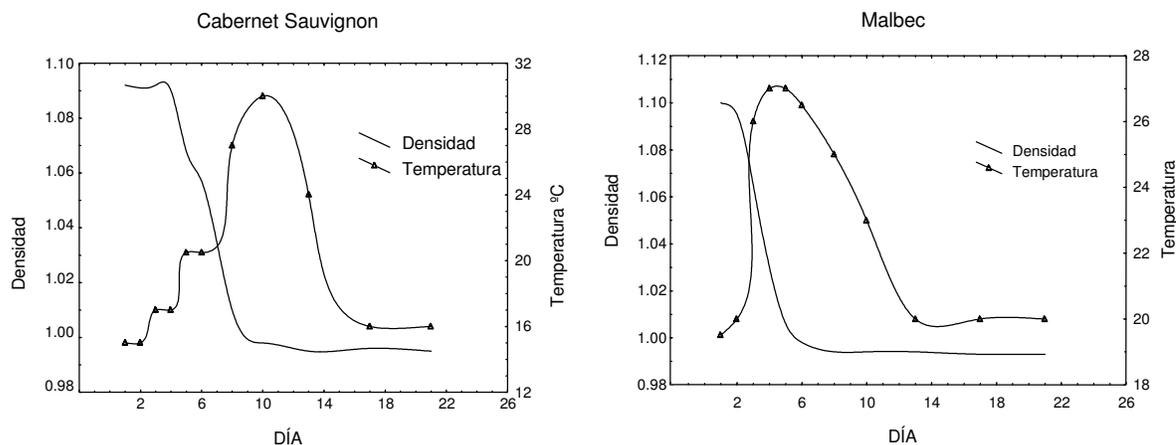


Figura 3.1: Evolución de la fermentación –densidad y temperatura- durante las vinificaciones “madres” de Cabernet Sauvignon y Malbec. *Evolution de la fermentation –densité et température- pendant les vinifications “mères” de Cabernet Sauvignon et Malbec.*

A partir de dos vinificaciones “madres”, se tomaron muestras de mosto-vino a los 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 13, 17 y 21 días desde el encubado. Estas muestras se mantuvieron congeladas – 20° C y luego se sometieron, en conjunto, al análisis de polifenoles totales, intensidad colorante, matiz, componentes del color rojo – color total, antocianos libres, color copigmentado, y color polimérico - y antocianos ligados a SO₂. Para la determinación se utilizó la metodología analítica que se detalla en el punto 3.4. Los valores determinados se utilizaron para graficar la evolución de la extracción de los distintos componentes fenólicos.

3.3 Determinación del efecto del tiempo de maceración sobre la composición fenólica de los vinos

A fin de determinar el efecto del tiempo de maceración de los orujos, sobre la composición fenólica de los vinos, se realizaron dos experimentos, uno en Cabernet Sauvignon y otro en Malbec. Se probaron los tiempos de maceración 5 días (maceración corta), 10 días (maceración clásica) y 20 días (maceración extendida). Los experimentos tuvieron un diseño de parcelas aleatorizadas, con tres repeticiones.

Los tratamientos se generaron descubando volúmenes de 20 L de las vinificaciones “madres”, en cada uno de los tiempos estipulados. Estos volúmenes de 20 L se terminaron de fermentar, en recipientes de vidrio, en la bodega experimental del Centro de Estudios Enológicos de la Estación Experimental Mendoza del INTA, a 28° C. La fermentación alcohólica del mosto requirió un tiempo medio de 10 días desde su inicio, por lo que el tratamiento de 20 días consistió en una maceración posfermentativa. Cuando los vinos llegaron a rastros de azúcar, se bajó su temperatura a 4°C, durante 5 días, para precipitar los turbios. Luego, los vinos se trasegaron y se les ajustó su nivel de SO₂ libre a 20 mg/L. Los vinos no fueron sometidos a fermentación maloláctica y se conservaron en envases de vidrio de 15 L durante todo el tiempo que duró el ensayo -270 días- a 20°C.

De los vinos de los distintos tratamientos, se tomaron muestras a los 180 días y a los 270 días a partir del descube. Estas muestras fueron sometidas a los siguientes análisis: polifenoles totales, catequinas, proantocianidinas (taninos totales), índice de gelatina (tanino astringente y

no astringente), índice de alcohol (tanino ligado a polisacáridos), antocianos totales, intensidad colorante, matiz, SO₂ libre y total y acidez volátil. En las muestras de los 270 días, además, se analizaron los componentes del color rojo – color total, antocianos libres, color copigmentado, y color polimérico - y las antocianos ligadas a SO₂. Para la determinación se utilizó la metodología analítica que se detalla en el punto 3.4.

3.4 *Determinación de componentes fenólicos de uvas y vinos*

Los distintos componentes antociánicos, las catequinas, los taninos y los polifenoles totales se determinaron, en uvas y vinos siguiendo las técnicas de espectrofotometría ultravioleta (UV) y visible (VIS), que se detallan a continuación. Todos los análisis químicos se llevaron a cabo en el Laboratorio de polifenoles de la Estación Experimental Agropecuaria Mendoza del INTA y en el Laboratorio de la Cátedra de Enología I de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Cuyo.

3.4.1 *Polifenoles totales*

Los polifenoles totales se estimaron como Índice de Polifenoles Totales (IPT):

$$\text{IPT} = \text{DO}_{280} - 4$$

donde DO₂₈₀ es la densidad óptica a 280 nm para un paso óptico de 1 cm y 4 es un factor de corrección para deducir los no fenoles que puedan tener alguna actividad óptica en esa banda espectral. La técnica se basa en la actividad óptica, específica, del anillo fenólico, en el sector ultravioleta del espectro.

Se siguió la técnica indicada por Iland *et al.* (1993), realizando las lecturas sobre diluciones del vino o del extracto de hollejos 1:100 en agua, con cubeta de cuarzo de 1 cm de paso óptico y multiplicando las lecturas por la dilución.

3.4.2 *Catequinas (3-flavanoles monómeros)*

La determinación se realizó en extractos de película de uva y en vino, utilizando el método del p-dimetilamino cinnamaldehído (DMAC), desarrollado por Mc Murroug y Mc Dowell (1978) y puesto a punto en vinos por Zironi *et al.* (1992). Este reactivo actúa como agente cromógeno, reaccionando, en condiciones de fuerte acidez, con los carbonos 6 y 8, ricos en electrones, del núcleo A, de los 3-flavanoles. La reacción no es específica por los 3-flavanoles monómeros, pues otros fenoles como los 3-flavanoles oligómeros y los antocianos pueden interferir la reacción. El método, sobre todo en vinos tintos, no puede ser considerado como específico de catequinas sino tan sólo como un índice de control de su contenido (Zironi *et al.*, 1992). La reacción es muy rápida desarrollando una coloración azulada que se puede medir con espectrofotómetro VIS.

La técnica consistió en tratar 0,2 mL de la muestra de vino o de extracto de hollejos - previamente diluidos con metanol a 1:50 el vino y a 1:2 el extracto de hollejos - con 1,8 mL de DMAC, dejar reaccionar durante 5 minutos y realizar la lectura en el espectrofotómetro a 640 nm. En el caso de las uvas las lecturas se referenciaron a una curva de calibración elaborada con catequina pura, como patrón, y se expresaron como mg de catequina/L de vino o mg catequina/kg uva.

3.4.3 Proantocianidinas (*taninos condensados totales*)

Para la determinación de proantocianidinas se utilizó el método clásico desarrollado por Ribéreau-Gayon y Stonestreet (1966), que se basa en la reacción de Bate-Smith (1954). Esta reacción es la hidrólisis que sufren las proantocianidinas transformándose en antocianos (cianidina y delfinidina), cuando son sometidas a un medio fuertemente ácido, en caliente y en presencia de una sal de Fe, como catalizador. Los antocianos desarrollados en la hidrólisis se pueden medir por espectrofotometría VIS, previa deducción de los antocianos que ya poseía el vino.

Los análisis se llevaron a cabo en microvolúmenes utilizando los protocolos propuestos por Mc Murrough y Mc Dowell (1978). La técnica consistió en someter a baño maría, durante 20 minutos, a una mezcla de 0,1 mL de vino diluido 1:4 con butanol, más 1,9 mL de solución reactiva (50 mg $\text{NH}_4\text{Fe}(\text{SO}_4)_2$, 90mL butanol, 10mL ClH 12 N), en tubo Eppendorf roscado (tubo 1). Otro tubo se preparó en forma similar, pero con solución ácida sin catalizador - $\text{NH}_4\text{Fe}(\text{SO}_4)_2$ - y no se sometió a calentamiento (tubo 2). A continuación se midió la absorbancia óptica con espectrofotómetro VIS a 547 nm de ambas porciones. La concentración de proantocianidinas surgió de restar ambos valores de absorbancia y referirlo a una gama patrón confeccionada con cianidina (Extrashinthesys, Francia). En el caso del análisis de hollejos, se utilizó su extracto diluido 1:5 con butanol.

3.4.4 Taninos astringentes y no astringentes

Se utilizó la técnica del Índice de Gelatina (Ribéreau-Gayon y Glories, 1986), que expresa la astringencia de los taninos de acuerdo a su afinidad por las proteínas del tipo globulinas. Las muestras de vino se trataron con una solución de gelatina (90g/L) a razón de 18 g de gelatina/L vino. Se dejó reaccionar durante dos días y se centrifugó a 4.000 rpm durante 5 minutos. El sobrenadante se sometió a la determinación de proantocianidinas, utilizando la técnica que se indica en el apartado 3.4.3. Los taninos astringentes se expresaron como la diferencia entre los taninos totales (apartado 3.4.3) y los taninos dosados en el sobrenadante. Los taninos no astringentes se expresaron como los taninos dosados en el sobrenadante.

3.4.5 Taninos asociados a polisacáridos

La determinación se basó en la capacidad del alcohol etílico para precipitar los polisacáridos del vino y junto a ellos las moléculas con que están asociados (Dubordieu *et al.*, 1981). Las muestras de vino fueron tratadas con etanol en una relación 10 etanol:1 vino (v/v). Se dejó reaccionar durante 3 días y se centrifugó a 4.000 rpm durante 5 minutos. El sobrenadante se sometió a la determinación de proantocianidinas, utilizando la técnica que se indica en el apartado 3.4.3. Los taninos asociados a polisacáridos se expresaron como la diferencia entre los taninos totales (apartado 3.4.3) y los taninos dosados en el sobrenadante.

3.4.6 Antocianos totales

Para la determinación de antocianos totales en el vino, se adoptó la técnica del blanqueo con bisulfito (Ribéreau-Gayon y Stonestreet, 1965), siguiendo los protocolos analíticos de Ough y Amerine (1988). En esta técnica se utiliza SO_3HNa para blanquear los antocianos no polimerizados, los que son dosados por diferencia con respecto a una muestra no sometida a blanqueo. Las determinaciones se realizan como absorbancia óptica a 520 nm y en medio fuertemente ácido a fin de que todos los antocianos se encuentren bajo la forma coloreada flavilium.

Las mediciones se referencian a la absorptividad molar de la malvidina 3-glucósido y se expresan como mg antocianos/L vino.

En las uvas, se adoptó la técnica utilizada por Ojeda (1999) que se basa en diluir el vino, o el extracto de hollejos, con una cantidad grande de solvente no polar con un pH fuertemente ácido, para medir el pigmento rojo con espectrofotómetro VIS y referirlo a una gama patrón de malvidina 3-glucósido. El pH fuertemente ácido es necesario para transformar la totalidad de los antocianos monómeros, a la forma roja flavilium. Las lecturas de absorptividad a 520 nm y se refirieron a la absorptividad molar de la malvidina 3-glucósido y se expresaron como mg antocianos/kg uva.

3.4.7 Componentes del color rojo (antocianos coloreados libres, color copigmentado, color polimérico) y de los antocianos decolorados por el SO₂

Se utilizó la metodología propuesta por Boulton (1996), para lo cual los vinos previamente fueron ajustados a pH 3,6 y filtrados con membrana (0,45µm de poro). Luego distintas fracciones de los vinos fueron tratadas con acetaldehído, para liberar los antocianos asociados a SO₂; con SO₃Na para decolorar los antocianos monoméricos y diluidas 1:20 con agua destilada para romper la copigmentación. Todas las fracciones, incluida la sin tratar, fueron medidas con espectrofotómetro VIS a 520 nm. Las fracciones de color se expresaron en unidades de DO₅₂₀ y quedaron determinadas así:

Color debido a antocianos copigmentados:	$[C] = (A^{acet} - A^{20})$
Color debido a antocianos polimerizados con taninos:	$[P] = A^{SO_2}$
Antocianos coloreados libres:	$[A] = [T] - ([C] + [P] + [I])$
Color total:	$[T] = A^{acet}$
Antocianos asociados a SO ₂ (incolores):	$[I] = (A^{520} - A^{acet})$

Para la preparación de las distintas fracciones se siguió la siguiente técnica:

A^{acet} : 20 µL de solución de acetaldehído 10% en agua (v/v) se agregaron a 2 mL de la muestra de vino en una cubeta de 10 mm. Después de 45 minutos se leyó la absorptividad a 520 nm en una cubeta de 1 mm. La lectura se multiplicó por diez para referirla a un paso óptico de 10 mm.

A^{20} : 100 µL de vino se agregaron a 1.900 µL de solución buffer (24 mL etanol puro, 176 mL agua destilada, 0,5 g bitartrato de potasio, ajustado a pH 3,6 con ClH o NaOH). Después de unos minutos se midió la absorptividad a 520 nm.

A^{SO_2} : 160 µL de solución de SO₂ 5% (SO₃Na en agua) se agregaron a 2 mL de la muestra de vino en una cubeta de 10 mm. Inmediatamente se midió la absorptividad a 520 nm.

A^{520} : Se colocó el vino en cubeta de 1 mm y se leyó la absorptividad a 520 nm. La lectura se multiplicó por diez para referirla a un paso óptico de 10 mm.

Las lecturas de las fracciones de vino que tuvieron agregado de otra solución, se corrigieron multiplicándolas por la dilución que causó dicho agregado.

La metodología usada no permitió medir las fracciones hemiacetal y chalcona (incolores) de los antocianos.

3.4.8 *Intensidad colorante y del matiz*

La intensidad colorante fue determinada según siguiendo la técnica indicada por Iland *et al.* (1993). En celdas de paso óptico de 1 mm se determinó, con espectrofotómetro VIS, la absorbancia a 520 nm y a 420 nm sin modificar el pH del vino. La intensidad colorante se expresó como la suma de la DO_{420} más la DO_{520} . El matiz se expresó como la razón entre de la DO_{420} y la DO_{520} .

3.5 *Determinación del perfil organoléptico de los vinos*

Los vinos resultantes del ensayo experimental se sometieron a una evaluación organoléptica por un grupo de 8 degustadores expertos en el Centro de Estudios Enológicos, de la Estación Experimental Mendoza del INTA. La evaluación se realizó 15 meses después de la elaboración. Se midieron los atributos del color - intensidad colorante y matiz -, del gusto - ácido, dulce y amargo- y las sensaciones táctiles - astringente, ardiente, untuoso y concentrado -. La sensación astringente se separó en tres componentes – áspero, secante y astringente propiamente dicho – adoptando las siguientes definiciones propuestas por Gawel *et al.* (2000):

- Áspero (“particulate”): sensación de partículas raspando contra las superficies internas de la boca, cuando se mueve el vino dentro de ella.
- Seco (“drying”): sensación de falta de lubricación o desecación en la boca.
- Astringente propiamente dicho (“harsh”): sensación desagradable de crispación.

Las variables se expresaron en una escala numérica del 0 al 5, donde el 0 representó la ausencia y el 5 el máximo de sensación. El valor de cada variable para cada vino se expresó como la media aritmética de las notas de todos los degustadores.

3.6 *Tratamiento estadístico de los datos*

La evolución de las variables observadas durante las vinificaciones “madres” se graficaron ajustándoles curvas suavizadas, mediante el procedimiento de ajuste por cuadrados mínimos de distancias ponderadas que permite revelar patrones de comportamiento subyacentes en los datos, minimizando la variabilidad debida al error experimental.

Las mediciones del experimento fueron sometidas, variable por variable, al análisis de la varianza, complementado con la prueba múltiple de medias de Tukey. Las diferencias se expresaron con un nivel de confianza $\geq 95\%$. El conjunto de mediciones de todas las variables se analizó por los procedimientos multivariantes de componentes principales y análisis discriminante, este último con la opción de regresión paso a paso “forward”. Para todos estos análisis se utilizó el programa estadístico Statgraphics Plus, v. 5.0 (Statistical Graphics Corp., Estados Unidos).

Capítulo 4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Evolución de los componentes fenólicos extraídos durante la maceración

Las observaciones de las variaciones del color total y de los polifenoles totales, en las vinificaciones “madres” de Cabernet Sauvignon y Malbec, permitieron establecer los patrones de extracción de cada variedad. Debido a que los contenidos de polifenoles totales están estrechamente asociados con los de taninos y los de color total con los de antocianos, estos patrones expresan indirectamente la extracción de estas sustancias. La Figura 4.1 muestra cómo evolucionaron estos parámetros durante los 21 días que duraron las maceraciones.

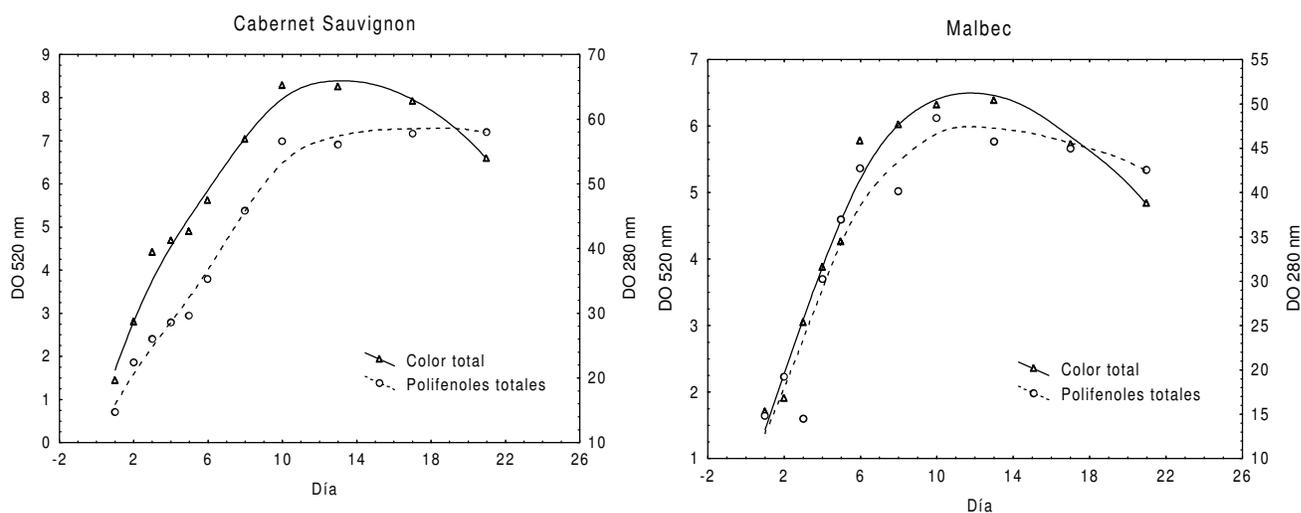


Figura 4.1: Evolución del color rojo y de los polifenoles totales durante la maceración de vinos Cabernet Sauvignon y Malbec (ajuste por cuadrados mínimos de distancias ponderadas). *Evolution de la couleur rouge et des polyphenols totaux pendant la maceration des vins Cabernet Sauvignon et Malbec (ajusté par les carrés minimaux des distances ponderés).*

En la vinificación de Cabernet Sauvignon se pudo observar que el proceso de extracción, tanto de polifenoles totales, como de color total, siguió el patrón esperado de acuerdo a lo observado por Ribéreau-Gayon (1982). Siguiendo este razonamiento, se puede sostener que el contenido de color total alcanzó un máximo en el décimo día de maceración y luego comenzó a disminuir. El momento de máxima extracción de color se produjo 2 días más tarde que lo observado por ese autor. Esto puede haberse debido a que la temperatura del mosto encubado se mantuvo por debajo de los 15°C durante los primeros 3 días. Por otro lado, el contenido de polifenoles totales creció con un patrón logarítmico, pasando por una fase de extracción rápida, hasta el décimo día, para continuar con una fase mucho más lenta después.

A diferencia del Cabernet Sauvignon, la variedad Malbec mostró un comportamiento anómalo. Durante una primera etapa, hasta el décimo día, el patrón de extracción de color total y polifenoles totales fue similar al de Cabernet. Luego la caída del contenido de color fue muy pronunciada y también se produjo una caída en el contenido de polifenoles totales. Esta caída inesperada hace presumir que en este vino se produjo una oxidación de sus compuestos fenó-

licos, durante la etapa posfermentativa de la maceración. Debe tenerse en cuenta que el Malbec fermentó muy aceleradamente. Ya al 6º día se habían agotado la mayor parte de sus azúcares, lo que disminuyó la producción de CO_2 , que actúa como protector de las oxidaciones. Por otro lado la uva Malbec presentaba un pequeño ataque de podredumbre de los racimos, lo que pudo significar algún aporte de laccasa.

El proceso oxidativo sufrido por el vino Malbec durante la etapa posfermentativa de la maceración queda de manifiesto en la Figura 4.2, que muestra las evoluciones de la intensidad colorante y el matiz, de ambos vinos durante la maceración.

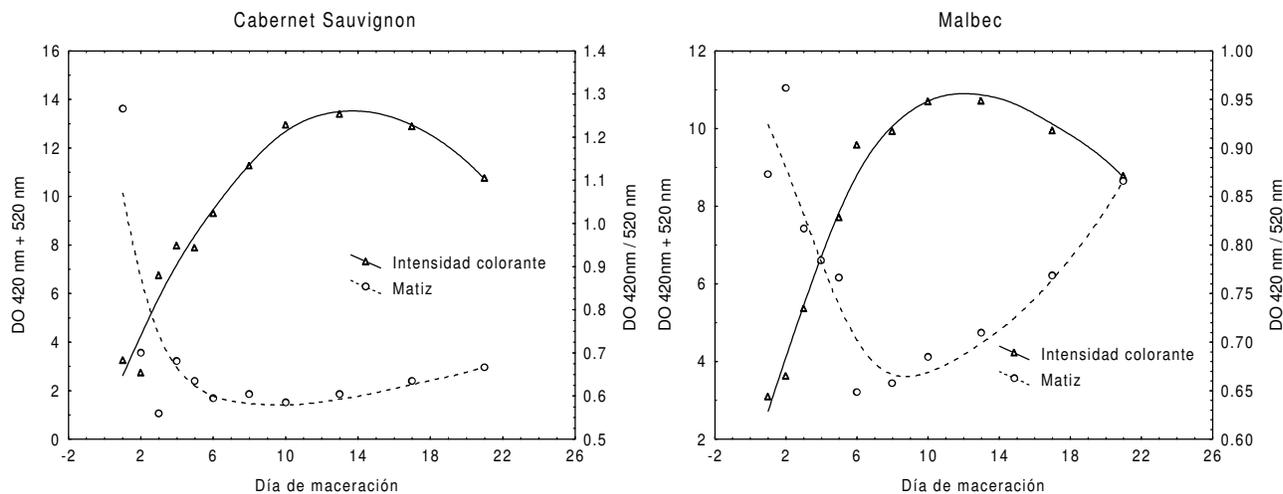


Figura 4.2: Evolución de la intensidad colorante y del matiz durante la maceración de vinos Cabernet Sauvignon y Malbec (ajuste por cuadrados mínimos de distancias ponderadas). *Evolution de l'intensité coloée et de la nuance pendant la maceration des vins Cabernet Sauvignon et Malbec (ajusté par les carrés minimaux des distances ponderés).*

En el Cabernet Sauvignon, el matiz alcanzó su mínimo valor al 7º día, y luego comenzó a aumentar, pero muy levemente. En el Malbec, en cambio luego de alcanzarse el mínimo de matiz, éste aumentó aceleradamente. Al final de la maceración el Malbec alcanzó un valor de 0,87 de matiz, comparado con el de 0,65 que alcanzó el Cabernet. Esto indica una apreciable degradación del color rojo y la aparición de tonalidades amarillas en el Malbec, luego del 10º día.

También se examinó la evolución de los componentes del color antocianico durante las vinificaciones. Los patrones de evolución aparecen en las Figuras 4.3 y 4.4. En estos gráficos de doble eje de ordenadas se indica por un lado la evolución del color total y por el otro la evolución de los colores libre, copigmentado y poliméricos expresados como una proporción del color total.

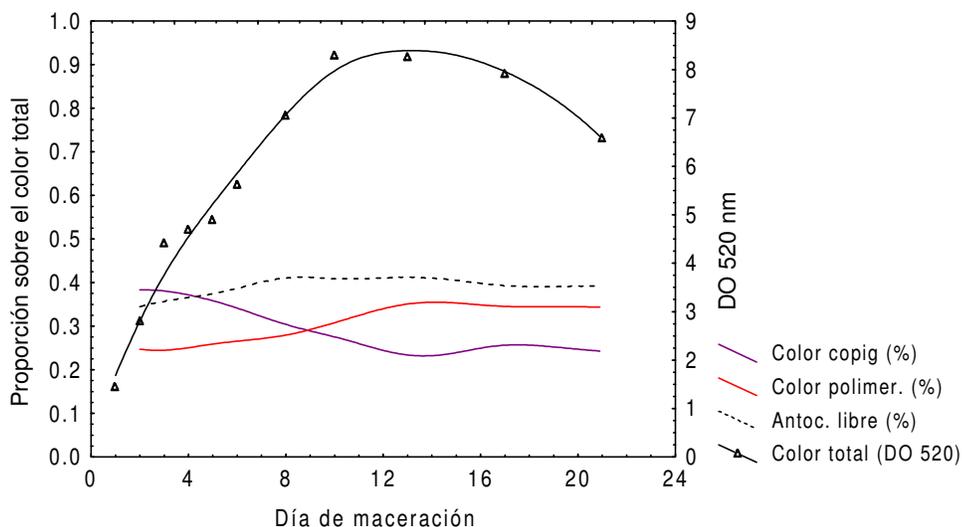


Figura 4.3: Evolución del color y de sus componentes - color copigmentado, color polimérico y antocianos libres coloreadas -, durante la maceración, de vinos Cabernet Sauvignon (ajuste por cuadrados mínimos de distancias ponderadas). *Evolution de la couleur et de ses composants –couleur copigmenté, couleur polymérique et anthocyanes libres colorés-, pendant la macération, des vins Cabernet Sauvignon (ajusté par les carrés minimaux des distancias ponderés).*

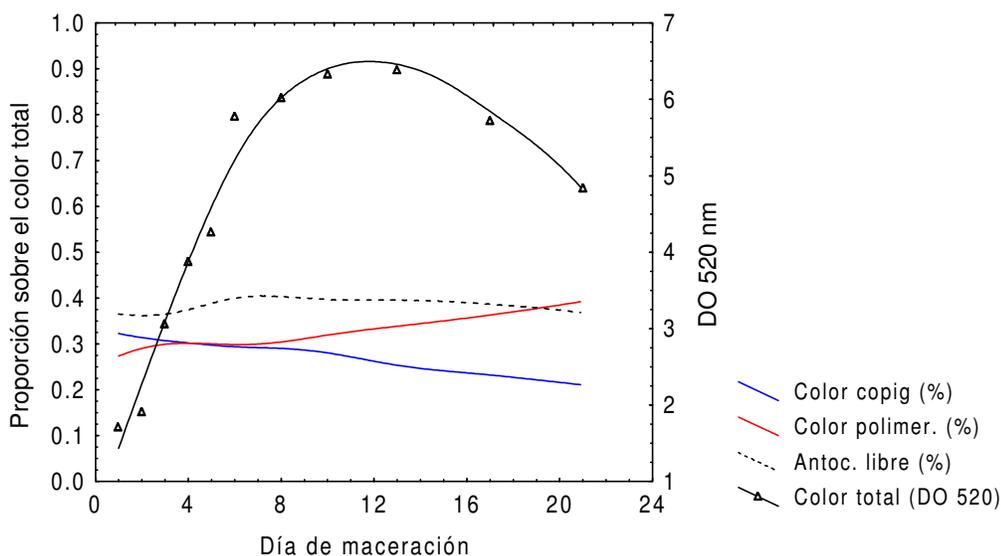


Figura 4.4: Evolución del color y de sus componentes - color copigmentado, color polimérico y antocianos libres coloreados -, durante la maceración, de vinos Malbec (ajuste por cuadrados mínimos de distancias ponderadas). *Evolution de la couleur et de ses composants –couleur copigmenté, couleur polymérique et anthocyanes libres colorés-, pendant la macération, des vins Malbec (ajusté par les carrés minimaux des distancias ponderés).*

La máxima proporción de color copigmentado se observó al principio de la maceración en ambas variedades. En el caso de Cabernet Sauvignon, en el 2º día el color copigmentado re-

presentó alrededor del 40% del total, mientras el color libre, poseía cerca del 35% y el polimérico el 25%. Durante toda la maceración la proporción de antocianos libres aumentó levemente. En cambio, el color copigmentado disminuyó sensiblemente, siendo suplantado en su participación por el color polimérico. En el día 20 las proporciones fueron: antocianos libres 40%, color copigmentado 25% y color polimérico 35%. La evolución del Malbec, a pesar de haber sufrido un proceso oxidativo, fue muy similar, manteniéndose más o menos estable la proporción de antocianos libres, mientras las proporciones de color copigmentado y polimérico intercambiaban sus valores, bajando el color copigmentado y subiendo el polimérico. Al segundo día, las proporciones en Malbec fueron: antocianos libres 38%, color copigmentado 34%, color polimérico 28%; mientras en el día 20 fueron: antocianos libres 38%, color copigmentado 20%, color polimérico 40%. Las tasas de aumento del color polimérico fueron más pronunciadas en el Malbec, lo que podría estar relacionado con la oxidación que sufrió. Los grados de copigmentación de ambas variedades, al final de la vinificación, concordaron con los niveles observados por Boulton (1999a) en Pinot Noir, en California. En cuanto al color polimérico, la proporción del 35% alcanzada por el Cabernet Sauvignon concuerda con lo observado por Mayen *et al.* (1994), aunque estos autores encontraron valores tan altos sólo luego de que el vino había sido estacionado por 3 meses.

La sustitución proporcional del color copigmentado por el color polimérico apoya la hipótesis de que la copigmentación de los antocianos es un paso previo a su condensación con los taninos proantocianídicos. Lo observado, sin embargo, no es una prueba concluyente en este sentido, pues podría deberse a otras causas como la existencia de velocidades de extracción y de adsorción diferentes para los antocianos copigmentados, que para los condensados de tanino-antocianos. Actualmente, la certeza o falsedad de esta hipótesis no ha sido probada efectivamente (Boulton, 2001).

4.2 Perfil tánico y características del color de los vinos con maceraciones corta, media y extendida

A partir de los experimentos en los que se probaron los tiempos de maceración de 5, 10 y 20 días, en Cabernet Sauvignon y Malbec, se obtuvieron los resultados que figuran en las Tablas 4.1 y 4.2 y en la Figura 4.5. En ellos se indican los contenidos de taninos, catequinas, antocianos y polifenoles totales que alcanzaron los vinos de los distintos tratamientos.

Tabla 4.1: Composición fenólica de vinos Cabernet Sauvignon elaborados con distintos tiempos de maceración (las letras distintas indican diferencias en la prueba de Tukey para un valor de $p \leq 0,05$). *Composition phenolique des vins Cabernet Sauvignon elaborés avec différentes temps de maceration (les lettres différentes indiquent différences dans la proube a Tukey pour un valeur de $p \leq 0,05$).*

Tiempo de maceración en días	Proantocianidinas totales mg/L	Catequinas mg/L	Antocianos totales mg/L	Indice de polifenoles totales (IPT) DO 280 nm
5	2.732 a	131 a	403 a	35 a
10	3.573 b	197 b	726 b	49 b
20	3.791 b	213 b	594 b	57 c

Tabla 4.2: Composición fenólica de vinos Malbec elaborados con distintos tiempos de maceración (las letras distintas indican diferencias en la prueba de Tukey para un valor de $p \leq 0.05$). *Composition phenolique des vins Malbec élaborés avec différents temps de macération (les lettres différentes indiquent différences dans la proube a Tukey pour un valeur de $p \leq 0,05$).*

Tiempo de maceración en días	Proantocianidinas totales mg/L	Catequinas mg/L	Antocianos totales mg/L	Indice de polifenoles totales (IPT) DO nm
5	2.409 a	138 a	398 a	40 a
10	3.014 b	183 b	562 b	48 c
20	2.404 a	162 ab	408 a	45 b

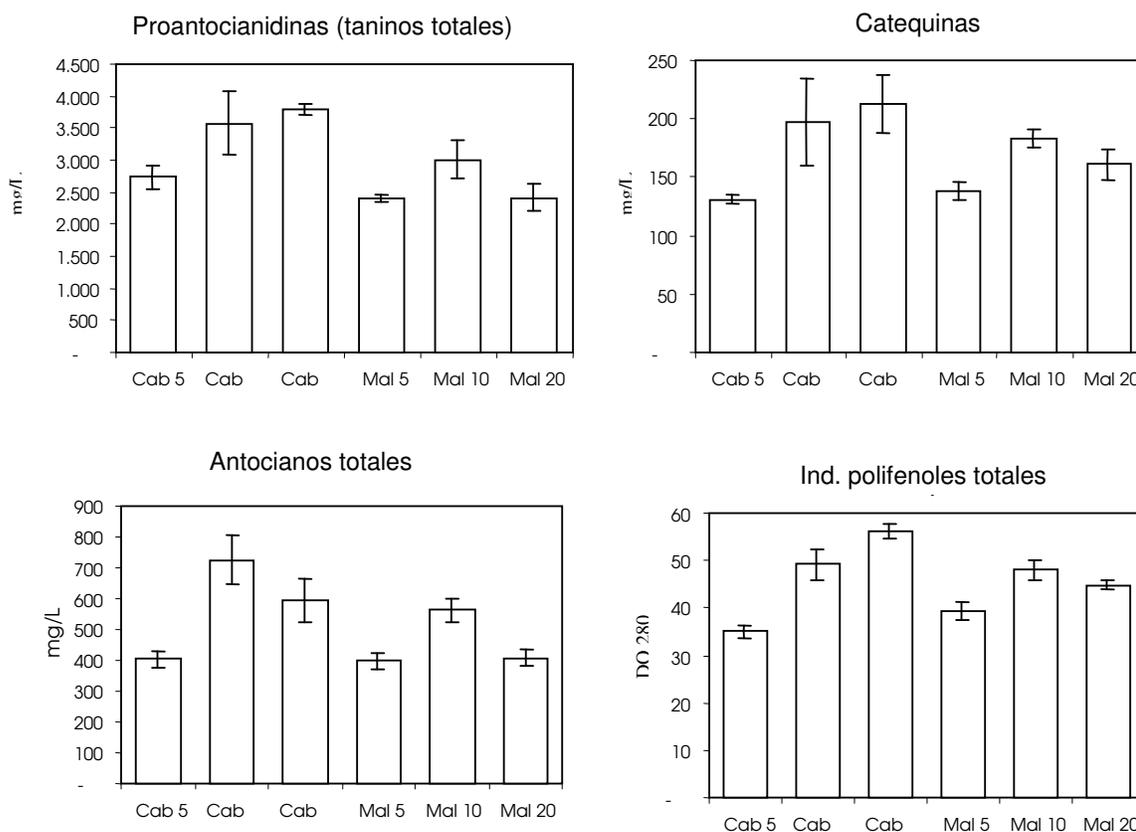


Figura 4.5: Contenidos de proantocianidinas, catequinas, polifenoles totales y antocianos totales de vinos Cabernet Sauvignon y Malbec, macerados durante 5, 10 y 20 días (las barras verticales indican ± 1 desviación típica). *Contenus des proanthocyanidines, catéchine, polyphenols totaux et anthocyanes totaux des vins Cabernet Sauvignon et Malbec, avec macérations de 5, 10 et 20 jours (les barres inquent ± 1 ecarte tipique).*

Puede observarse que los vinos Cabernet Sauvignon con maceraciones media, de 10 días, y extendida, de 20 días, presentaron contenidos de antocianos, catequinas, taninos y polifenoles totales superiores a los provenientes de la maceración corta, de 5 días. Los vinos con maceraciones media y extendida difirieron entre sí sólo en sus contenidos de polifenoles totales, que fueron más altos para el más macerado. Los vinos con 10 días de maceración tuvieron la tendencia a ser más coloreados y los de 20 días a ser más tánicos. Los vinos Malbec con maceración media, de 10 días, mostraron contenidos superiores de taninos, catequinas y polifenoles

totales y una tendencia a ser más coloreados, que los de 5 días. Los Malbec de 20 días, como consecuencia de la oxidación sufrida, disminuyeron sus contenidos de taninos, catequinas, antocianos y polifenoles totales casi hasta llegar a los valores de los de 5 días.

Comparando entre sí las dos variedades, para cada tiempo de maceración, los Cabernet Sauvignon siempre dieron vinos más coloreados y más tánicos que los Malbec.

A partir de la reserva tecnológica que poseían las uvas en el momento de la cosecha (Tabla 4.3), es posible conocer cuánto color pudo extraer y retener cada tipo de maceración, en cada variedad.

Tabla 4.3: Componentes fenólicos de los hollejos y dimensiones de las uvas Cabernet Sauvignon y Malbec. *Composantes phenolics des pellicules et dimensions des baies des raisins Cabernet Sauvignon et Malbec.*

	Cabernet S.	Malbec
Peso medio de la baya g	1,01	1,43
Peso relativo medio de las semillas con respecto a la baya	6,4%	3,5%
Diámetro medio de la baya mm	12,30	13,84
Antocianos mg/kg uva	1.033	1.240
Proantocianidinas (taninos) hollejo mg/kg uva	1.806	1.509
Catequinas hollejo mg/kg uva	246	265
<u>Reserva tecnológica:</u>		
Antocianos mg/L mosto a obtener	1.343	1.612
Proantocianidinas mg/L de vino a obtener	2.348	1.962
Catequinas mg/L vino a obtener	320	345

En Cabernet Sauvignon, el tratamiento de 10 días de maceración fue el que logró una mayor extracción y retención de los antocianos, con un 54% de la reserva tecnológica. El tratamiento de 20 días logró un 44% y el de 5 días un 30%. En Malbec el tratamiento de 10 días extrajo y retuvo un 35%, mientras los tratamientos de 5 y 20 días lograron un 25% cada uno.

La composición tánica alcanzada por los vinos, en lo referido a taninos astringentes (reactivos frente a la gelatina), no astringentes (no reactivos a la gelatina) y asociados a polisacáridos, se muestra en las Tablas 4.4 y 4.5 y en la Figura 4.6.

Tabla 4.4: Características de los taninos de vinos Cabernet Sauvignon elaborados con distintos tiempos de maceración (las letras distintas indican diferencias en la prueba de Tukey para un valor de $p \leq 0,05$). *Caractéristiques des tannins des vins Cabernet Sauvignon élaborés avec différents temps de macération (les lettres différentes indiquent différences dans la proube a Tukey pour un valeur de $p \leq 0,05$).*

Tiempo de maceración en días	Taninos totales (proantocianidinas) mg/L	Taninos astringentes (precipitados por gelatina) mg/L	Taninos no astringentes (no precipitados por gelatina) mg/L	Taninos asociados a polisacáridos (precip. por alcohol) mg/L
5	2.732 a	2.407 a	325 b	17 a
10	3.573 b	3.344 b	230 a	477 b
20	3.791 b	3.455 b	336 b	331 ab

Tabla 4.5: Características de los taninos de vinos Malbec elaborados con distintos tiempos de maceración (las letras distintas indican diferencias en la prueba de Tukey para un valor de $p \leq 0.05$). *Caractéristiques des tannins des vins Malbec élaborés avec différents temps de macération (les lettres différentes indiquent différences dans la proube a Tukey pour un valeur de $p \leq 0,05$).*

Tiempo de maceración en días	Proantocianidinas totales (taninos totales) mg/L	Taninos astringentes (precipitados por gelatina) mg/L	Taninos no astringentes (no precipitados por gelatina) mg/L	Taninos asociados a polisacáridos (precip. por alcohol) mg/L
5	2.409 a	2.135 a	275 b	213 a
10	3.014 b	2.697 b	317 b	147 a
20	2.414 a	2.229 ab	184 a	386 a

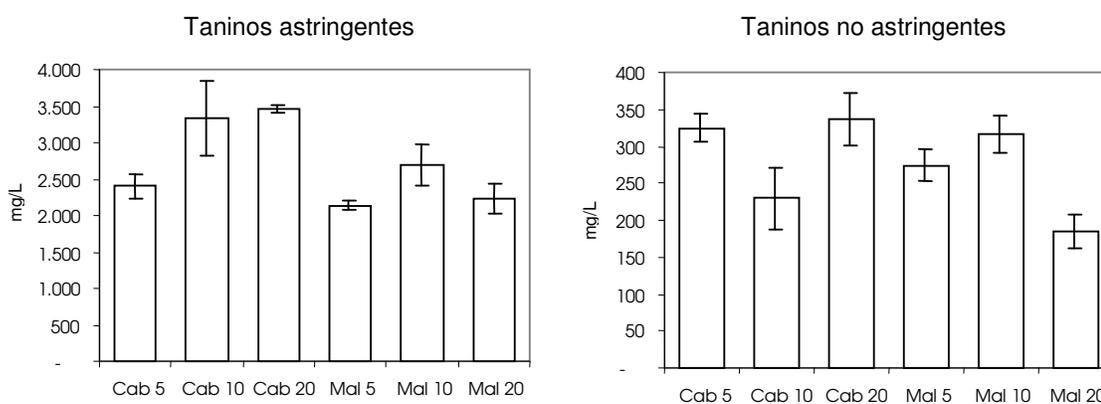


Figura 4.6 Contenidos de taninos astringentes y no astringentes de vinos Cabernet Sauvignon y Malbec, elaborados con maceraciones de 5, 10 y 20 días (las barras verticales indican ± 1 desviación típica). *Contenus en tannins astringeantes et non astringeantes des vins Cabernet Sauvignon et Malbec, élaborées avec des macérations de 5, 10 et 20 jours (les barres inquent ± 1 ecarte tipique).*

En Cabernet Sauvignon la maceración media, de 10 días, produjo vinos con mayores contenidos de taninos astringentes y menores de taninos no astringentes. En cambio la maceración extendida, de 20 días, si bien provocó un aumento de los taninos totales con respecto a las maceraciones corta y media, también produjo una disminución de los taninos no astringentes, hasta valores muy cercanos a los obtenidos con una maceración corta, de 5 días. Esta disminución de astringencia, a pesar del aumento global del tanino, puede haberse debido al acomplejamiento de los taninos astringentes con los polisacáridos de la uva y de la pared levaduriana de acuerdo con lo observado por Saucier (1997). Esto es de esperarse que ocurra cuando existe un contacto prolongado entre el vino y sus borras. La medición de taninos asociados a polisacáridos, mediante su precipitación con alcohol etílico, no mostró esta particularidad. Esto podría deberse que los polisacáridos no tienen predilección por asociarse con algún tipo de tanino en especial. La gelatina en cambio, dado que es una proteína globular como la de la saliva, se ve afectada específicamente por los taninos que causan la astringencia, representados por moléculas grandes, muy polimerizadas y galoiladas, provenientes en mayor medida de la semilla (Sarni-Manchado *et al.*, 1999a; Sarni-Manchado *et al.*, 1999b).

En el caso de Malbec, la oxidación sufrida durante la maceración extendida, de 20 días, provocó una caída muy apreciable, tanto de los taninos astringentes, como de los no astringentes. Este comportamiento puede haber estado asociado al proceso oxidativo sufrido por estos vinos.

Con respecto de los componentes de color de cada tipo de vino, en las tablas 4.6 y 4.7 se incluyen las magnitudes alcanzadas por el color libre, copigmentado y polimérico, los antocianos ligados a SO₂, la intensidad colorante y el matiz.

Tabla 4.6: Componentes del color de vinos Cabernet Sauvignon elaborados con distintos tiempos de maceración (las letras distintas indican diferencias en la prueba de Tukey para un valor de $p \leq 0,05$). *Composantes de la couleur des vins Cabernet Sauvignon élaborés avec différentes temps de maceration (les lettres différentes indiquent différences dans la proube a Tukey pour un valeur de $p \leq 0,05$).*

Tiempo de maceración en días	Color total 9° mes DO 520 nm	Color libre 9° mes DO 520 nm	Color polimérico 9° mes DO 520 nm	Color copigmentado 9° mes DO 520 nm	Antocianos unidas a SO ₂ 9° mes DO 520 nm	Intensidad colorante 4° mes DO 420 + 520 nm	Intensidad colorante 9° mes DO 420 + 520 nm	Matiz 4° mes DO 420 / 520 nm	Matiz 9° mes DO 420 / 520 nm
5	3,43 a	1,20 a	1,80 a	0,00 a	0,43 a	8,13 a	5,10 a	0,63 a	0,70 a
10	5,52 b	2,45 b	2,63 b	0,11 a	0,32 a	12,40 b	8,70 b	0,64 a	0,67 a
20	4,95 b	2,14 b	2,34 b	0,15 a	0,32 a	11,63 b	7,90 b	0,66 a	0,71 a

Tabla 4.7: Componentes del color de vinos Malbec elaborados con distintos tiempos de maceración (las letras distintas indican diferencias en la prueba de Tukey para un valor de $p \leq 0,05$). *Composantes de la couleur des vins Malbec élaborés avec différentes temps de maceration (les lettres différentes indiquent différences dans la proube a Tukey pour un valeur de $p \leq 0,05$).*

Tiempo de maceración en días	Color total 9° mes DO 520 nm	Color libre 9° mes DO 520 nm	Color polimérico 9° mes DO 520 nm	Color copigmentado 9° mes DO 520 nm	Antocianos unidas a SO ₂ 9° mes DO 520 nm	Intensidad colorante 4° mes DO 420 + 520 nm	Intensidad colorante 9° mes DO 420 + 520 nm	Matiz 4° mes DO 420 / 520 nm	Matiz 9° mes DO 420 / 520 nm
5	3,74 a	1,64 a	1,80 a	0,06 a	0,24 a	8,5 a	6,03 a	0,72 a	0,72 a
10	4,95 b	2,11 b	2,30 b	0,15 a	0,38 b	10,57 b	7,77 b	0,73 a	0,70 a
20	3,94 a	1,86 ab	1,87 a	0,00 a	0,21 a	9,13 a	6,73 a	0,80 a	0,80 a

En Cabernet Sauvignon las maceraciones más largas de 10 y 20 días produjeron vinos con más color total, libre y polimérico, sin un aumento en el matiz. Existió una tendencia a una leve disminución de las variables del color en los vinos de 20 días con respecto a los de 10 días, que no fue significativa. En el Malbec en cambio, en la maceración más prolongada de 20 días los distintos componentes del color rojo cayeron, con respecto a los valores alcanzados con 10 días. Esto se vió acompañado con una fuerte tendencia en el aumento del matiz.

En ambas variedades puede observarse como ya en el 9° mes de estacionamiento el componente predominante del color rojo estaba dado por el color polimérico aportado por los condensados de taninos y antocianos, los cuales representaban en todos los vinos valores cercanos al 50% del color total. También puede observarse cómo al llegar a ese momento casi no existía color copigmentado.

4.3 Características organolépticas de los vinos con maceraciones corta, media y prolongada

Los resultados obtenidos en el análisis sensorial de los vinos con distintos tiempos de maceración se muestran en las Tablas 4.8 y 4.9 y en la Figura 4.7. Allí aparecen las sensaciones visuales, gustativas y táctiles bucales que fueron percibidas por los degustadores, en una escala arbitraria de 0 a 5. El valor 0 indica la falta de percepción y el 5 la máxima percepción.

Tabla 4.8: Características sensoriales - gustativas y visuales - en vinos Cabernet Sauvignon con distintos tiempos de maceración, en valores convencionales de 0 a 5 (las letras distintas indican diferencias significativas en la prueba de Tukey para una $p \leq 0,05$). *Caractéristiques sensorielles –gustativs et visuelles- des vins Cabernet Sauvignon avec différentes temps de maceration, en valeurs conventionales 0 a 5 (les lettres différentes indiquent différences dans la proube a Tukey pour un valeur de $p \leq 0,05$).*

Tiempo de maceración en días	Áspero	Seco	Astringente	Untuoso	Ardiente	Concentrado	Ácido	Amargo	Coloreado	Matiz percibido
5	1,1 a	1,0 a	1,3 a	1,5 a	2,1 a	1,9 a	2,3 a	2,0 a	2,2 a	2,1 a
10	1,9 b	2,3 b	2,6 b	2,7 b	1,9 a	3,3 b	1,9 a	2,0 a	3,9 b	3,6 b
20	1,8 b	2,3 b	2,6 b	2,7 b	1,9 a	3,2 b	1,7 a	1,7 a	3,6 b	3,3 b

Tabla 4.9: Características sensoriales - gustativas y visuales - en vinos Malbec con distintos tiempos de maceración, en valores convencionales de 0 a 5 (las letras distintas indican diferencias significativas en la prueba de Tukey para una $p \leq 0,05$). *Caractéristiques sensorielles –gustativs et visuelles- des vins Malbec avec différentes temps de maceration, en valeurs conventionales 0 a 5 (les lettres différentes indiquent différences dans la proube a Tukey pour un valeur de $p \leq 0,05$).*

Tiempo de maceración en días	Áspero	Seco	Astringente	Untuoso	Ardiente	Concentrado	Ácido	Amargo	Coloreado	Matiz percibido
5	1,4 a	1,3 a	1,2 a	1,6 a	1,8 a	1,7 a	1,7 a	1,6 a	2,8 a	2,3 a
10	1,5 a	1,8 a	1,8 a	2,4 b	1,8 a	2,9 b	1,7 a	1,6 a	3,9 b	3,3 b
20	1,4 a	2,0 a	1,5 a	1,7 ab	1,7 a	2,3 ab	1,6 a	1,6 a	3,1 ab	2,3 a

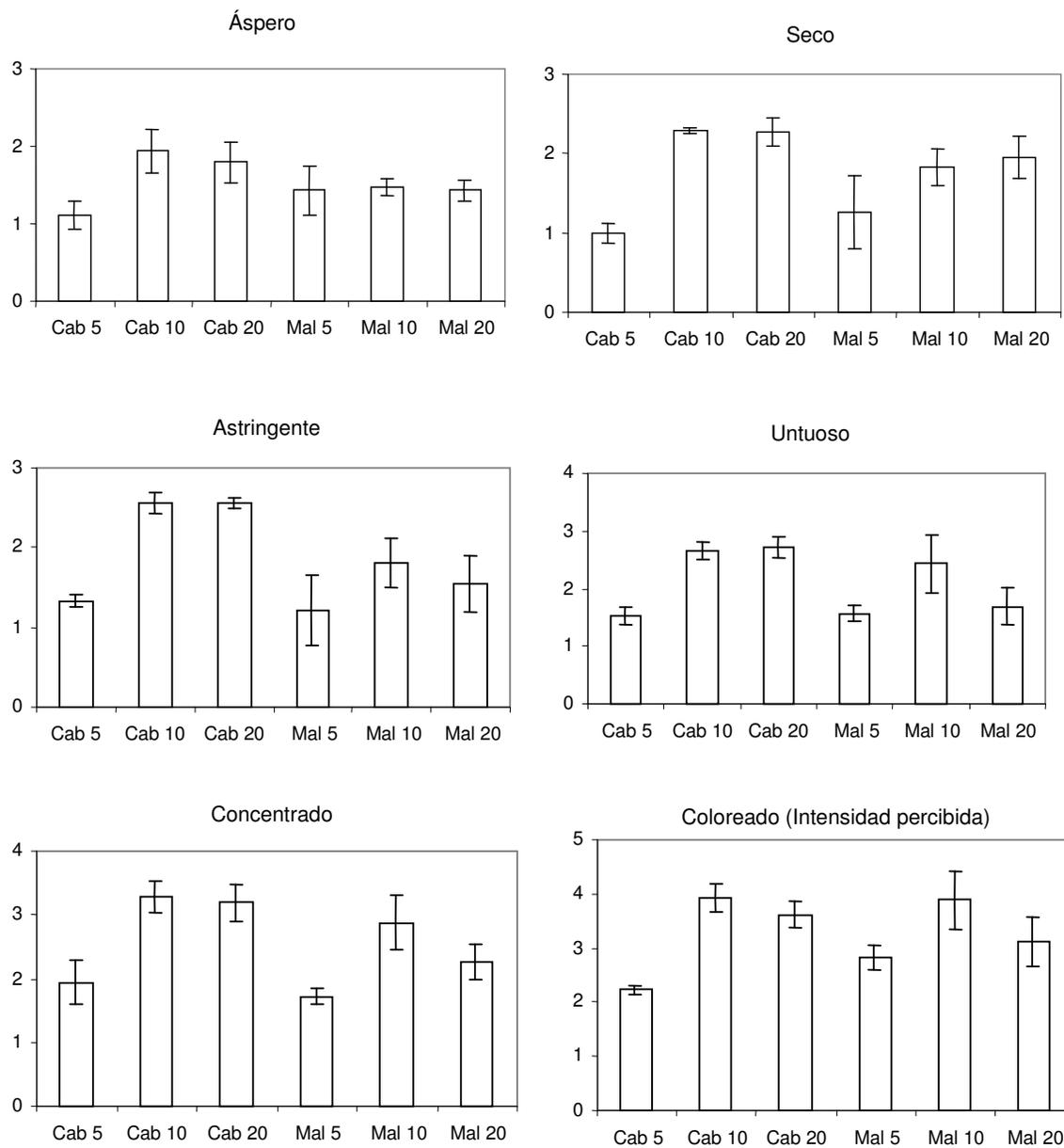


Figura 4.7: Características organolépticas – gustativas y visuales – de vinos Cabernet Sauvignon y Malbec con maceraciones de 5, 10 y 20 días (las barras verticales indican ± 1 desviación típica). *Caractéristiques organoleptiques –gustatifs et visuelles- des vins Cabernet Sauvignon et Malbec avec macérations de 5, 10 et 20 jours (les barres inquent ± 1 ecarte tipique).*

Puede observarse que los vinos Cabernet Sauvignon con maceraciones media, de 10 días, y extendida, de 20 días, no difirieron entre sí, pero fueron muy distintos a los de maceraciones cortas, de 5 días. La mayor extracción de taninos que lograron estos vinos de 10 y 20 días se asoció con una percepción más alta de astringencia, aspereza y secante, lo cual coincide con lo observado por numerosos autores (Cravero, 1996; Brossaud, 1999; Brossaud *et al.*, 2001). No obstante esto, estas sensaciones, que tienen connotaciones hedónicas indeseables, no superaron casi el valor medio de calificación de 2,5. En cambio, que en estos mismos vinos las sen-

saciones de untuoso, concentrado y coloreado, con connotaciones favorables, tuvieron notas superiores. Sorprendentemente, la alta percepción de estas sensaciones también estuvo asociada con el alto contenido de taninos, antocianos y polifenoles extraídos. Los vinos de 5 días resultaron con percepciones bajas en todos los atributos, dando la sensación de aguados.

Los vinos Malbec de 10 días resultaron bastante similares, en lo que respecta a las sensaciones visuales y bucales táctiles a los Cabernet de 10 y 20 días, aunque resultaron un poco menos secos, ásperos y astringentes. Comparando los Malbec entre sí, los de 10 días fueron muy superiores en atributos a los Malbec de 5 días. Los de 20 días resultaron intermedios entre los de 5 y los de 10, lo que pone de manifiesto la degradación que sufrieron.

Es notable cómo las percepciones de astringente, untuoso y concentrado que aparecen en la Figura 4.7 muestran distribuciones muy similares, para las distintas variedades y tiempos de maceración, que la de polifenoles totales y taninos totales que aparecen en la Figura 4.5.

La síntesis del perfil organoléptico de los vinos se muestra como un gráfico radial en las Figuras 4.8 y 4.9. Allí puede observarse cómo los vinos Cabernet de 10 y 20 días y los Malbec de 10 días se destacan por los vértices deseables de color, concentración y untuosidad y que en los Cabernet estos atributos se acompañan con sensaciones moderadas de astringente y seco.

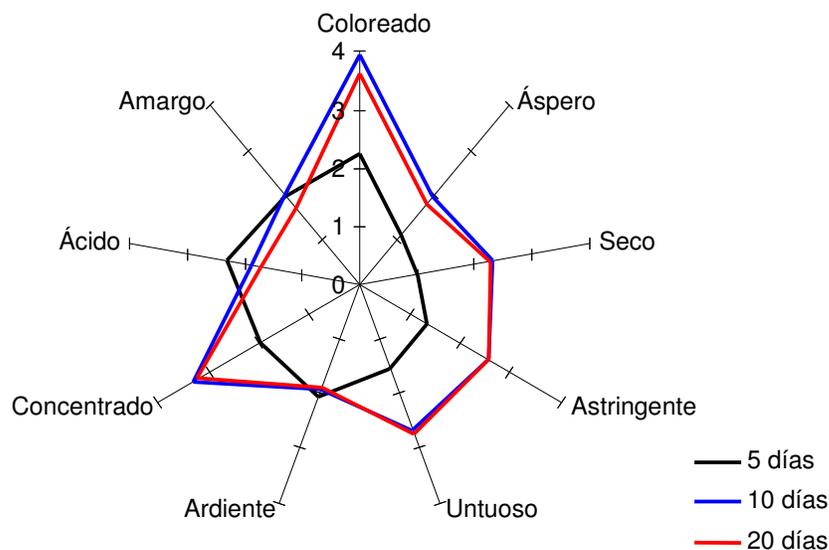


Figura 4.8: Perfil de sensaciones bucales en vinos Cabernet Sauvignon con distinto tiempo de maceración. *Profil des sensations en bouche des vins Cabernet Sauvignon avec différentes temps de macération.*

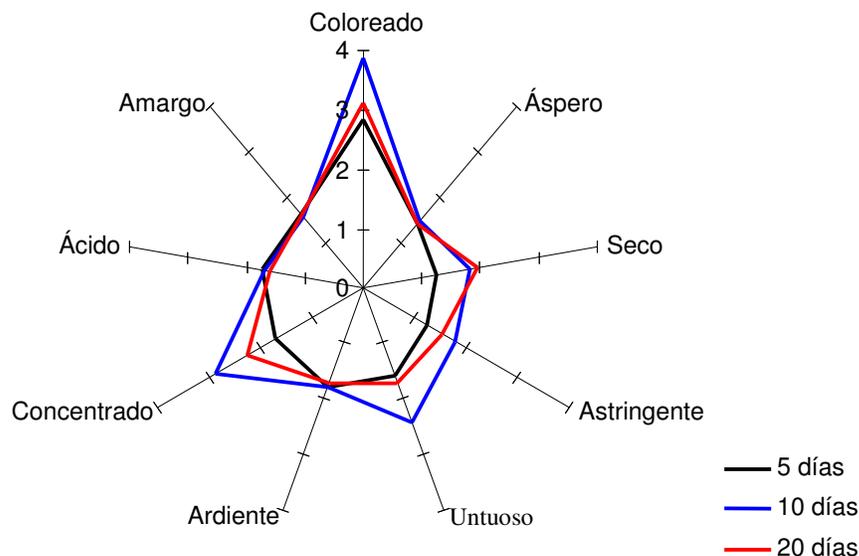


Figura 4.9: Perfil de sensaciones bucales en vinos Malbec con distinto tiempo de maceración.
Profil des sensations en bouche des vins Malbec avec différents temps de macération.

4.4 Relaciones entre los perfiles fenólicos y las características organolépticas de los vinos

Ya en el punto anterior se puso de manifiesto cómo se percibía una asociación entre algunas de las variables químicas que caracterizan al perfil fenólico de los vinos y las características organolépticas percibidas por los degustadores. En la Tabla 4.10 se muestran las correlaciones más destacadas que pudieron observarse entre estos distintos tipos de variables.

Tabla 4.10: Valores de correlación de Pearson entre variables organolépticas y químicas medidas en los ensayos de tiempos de maceración en Cabernet Sauvignon y Malbec (sólo se indican las correlaciones altas, $r \geq 0,7$). *Valeurs de la corrélation à Pearson entre les variables organoleptiques et chimiques mesurés dans les essais de temps de macération avec Cabernet Sauvignon et Malbec (seulement s'indiquent les corrélations hautes $r \geq 0,7$).*

V. organolépticas \ V. químicas	Áspero	Astringente	Seco	Untuoso	Concentrado	Coloreado	Matiz a la vista
Color libre			0,77	0,76	0,72	0,80	0,77
Color polimérico	0,70	0,81	0,75	0,87	0,86	0,81	0,87
Color total	0,71	0,80	0,78	0,90	0,88	0,88	0,91
Intensidad colorante	0,78	0,88	0,79	0,82	0,84	0,76	0,86
DO 420	0,81	0,82	0,86	0,79	0,83	0,84	0,82
Índice de polifenoles	0,71	0,82	0,86	0,79	0,80	0,77	0,75
Taninos totales		0,87		0,79	0,79		0,76
Taninos astringentes		0,89		0,80	0,81		0,77
% Taninos no astringentes			-0,71				

En general puede observarse que las variables que denotan sensaciones bucales táctiles, tanto las que tienen connotaciones agradables (concentrado, untuoso) como las que son desagradables (áspero, astringente), muestran correlaciones altas con las variables químicas.

bles (astringente, áspero, seco) están correlacionadas positivamente con los contenidos globales de fenoles, de taninos y de antocianos. Además, el carácter secante está correlacionado negativamente con la proporción de taninos no astringentes, que mide la cantidad de taninos no precipitables por la gelatina respecto al total de taninos. Este resultado es coherente con lo observado por Sarni-Manchado *et al.* (1999a; 1999b) en el sentido que los taninos que precipitan las proteínas salivares y la gelatina tienen similares características químicas (son más polimerizados y más galoilados).

Con respecto a las sensaciones visuales son destacables las correlaciones positivas que se dan entre la percepción de coloreado y los contenidos de colores libre, polimérico y total y la intensidad colorante. También es alta la correlación positiva entre el matiz percibido y el color amarillo medido como DO_{420} .

Tomando las variables del perfil fenólico y las organolépticas medidas para cada vino, fue posible realizar un análisis de componentes principales (ACP) para verificar la múltiple asociación entre ellas y las características generales de los distintos vinos. En la Figuras 4.10 y 4.11 se ilustran los resultados de este análisis.

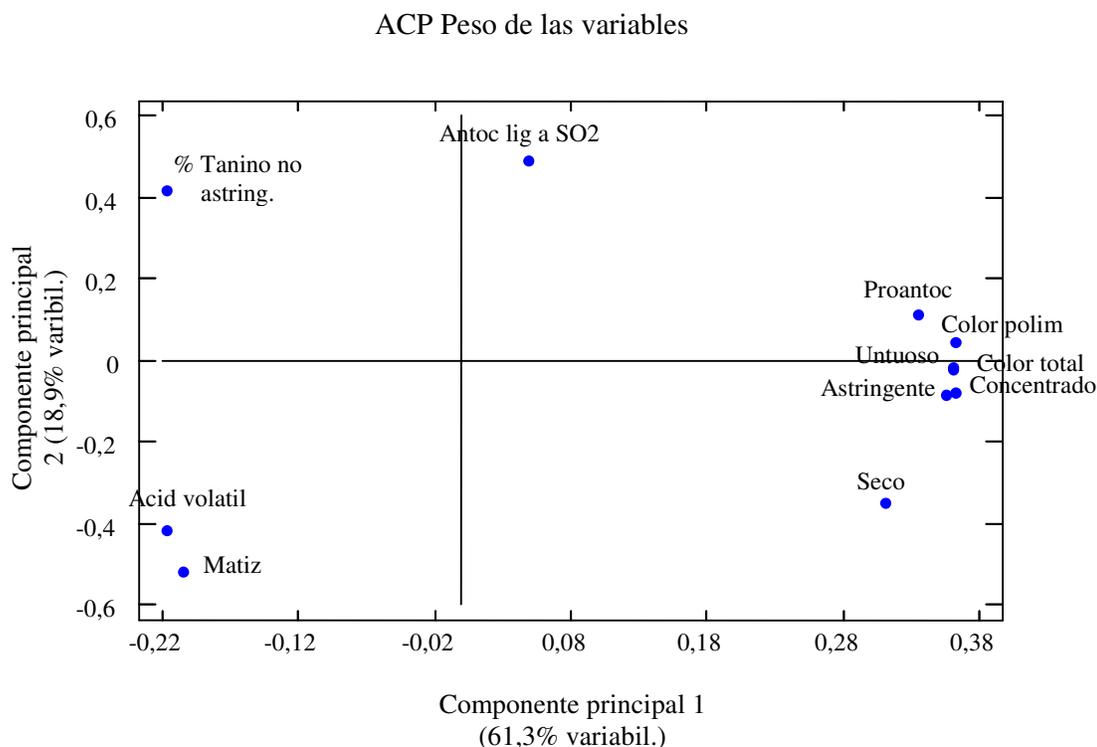


Figura 4.10: Análisis de componentes principales (CP) del perfil fenólico de vinos Cabernet Sauvignon y Malbec elaborados con 5, 10 y 20 días de maceración: peso de las variables que forman los CP 1 y CP 2. *Analyse en composants principaux de le profil phénolique des vins Cabernet Sauvignon et Malbec avec macérations de 5, 10 et 20 jours: poids des variables qui forment les CP 1 et CP 2.*

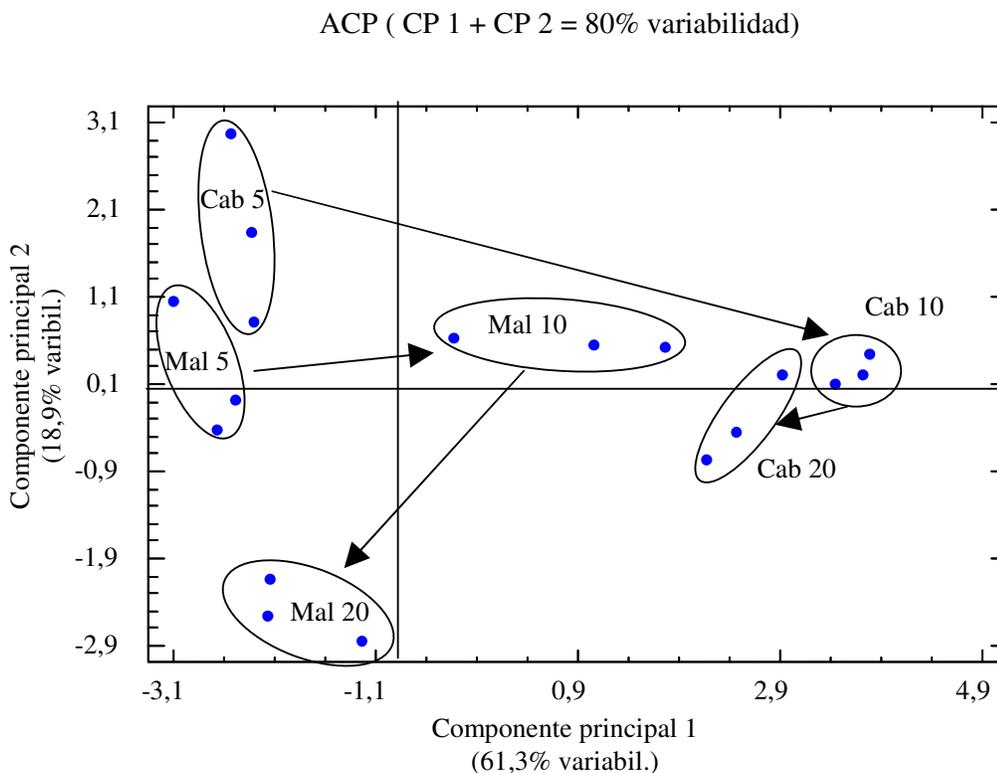


Figura 4.11: Análisis de componentes principales (CP) del perfil fenólico de vinos Cabernet Sauvignon y Malbec elaborados con 5, 10 y 20 días de maceración: ubicación espacial de los casos con respecto a los CP 1 y CP2. *Analyse des composants principaux de le profil phénolique des vins Cabernet Sauvignon et Malbec avec macerations de 5, 10 et 20 jours: localisation spatiale des cases en référence a les CP 1 et CP 2.*

Se puede observar que el Componente 1, se formó principalmente con las variables color polimérico, color total, proantocianidinas (taninos totales), concentrado, untuoso, astringente y seco, asociadas positivamente entre ellas, y parcialmente por el porcentaje de taninos no astringentes asociado negativamente con las otras variables. Este componente explicó alrededor del 61% de la variabilidad de los datos. Por su parte, el Componente 2 se formó principalmente por las variables matiz y acidez volátil, asociadas positivamente y antocianos ligados a SO_2 asociado negativamente con las otras. También el porcentaje de taninos no astringentes contribuyó parcialmente a la formación del Componente 2 asociado positivamente a los antocianos ligados a SO_2 y negativamente con la acidez volátil y el matiz. Este componente explicó cerca del 20% de la variabilidad total. Los Componentes 1 y 2, en conjunto, explicaron el 80% de la variabilidad de los datos.

En relación con los vinos, puede observarse que a medida que aumentó el tiempo de maceración, ambas variedades mostraron un patrón de cambios semejante, pero con algunas particularidades. Así, el Cabernet Sauvignon partió, con 5 días de maceración, de vinos con un contenido de taninos y color muy bajo, pero no astringentes, con muchos antocianos libres y poco oxidados, migró a vinos muy coloreados y muy tánicos, con 10 días de maceración, y llegó a vinos un poco menos coloreados y tánicos que los anteriores, pero algo más oxidados. El Malbec mostró un comportamiento similar, pero no alcanzó nunca vinos tan coloreados y tánicos y, con el tiempo de maceración de 20 días, cayó en una apreciable oxidación.

4.5 Evolución de los componentes fenólicos durante la conservación del vino

Los tiempos de maceración a que fueron sometidos los vinos durante su elaboración les otorgaron diferentes estructuras fenólicas, y éstas les proporcionaron distintas capacidades para envejecer. Analizando cómo evolucionaron los vinos durante los primeros 9 meses de estacionamiento, se puede observar que el contenido de polifenoles totales no varió apreciablemente en ninguno de los tratamientos (Figura 4.12). El pequeño aumento observado en algunos casos es atribuible a errores experimentales.

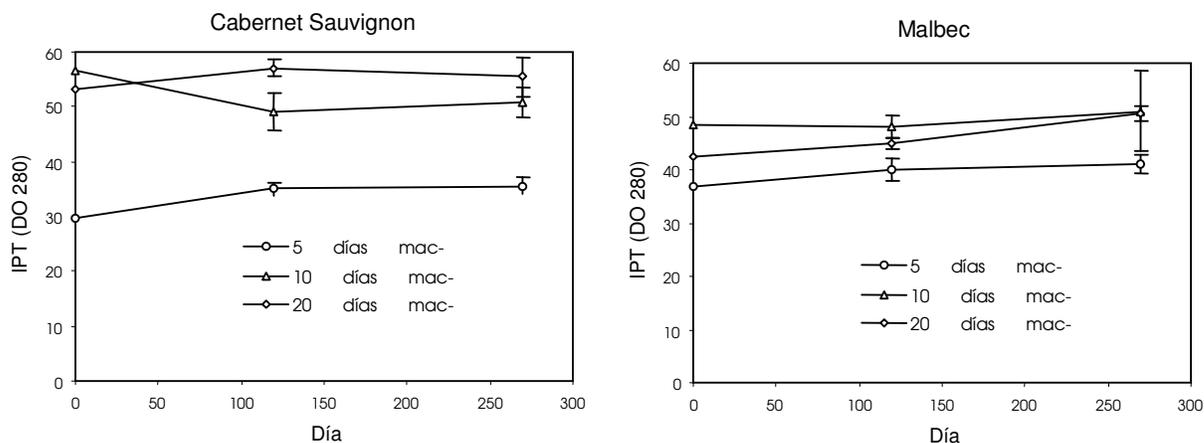


Figura 4.12: Evolución del contenido de polifenoles durante la conservación, de vinos Cabernet Sauvignon y Malbec con distinto tiempo de maceración (las barras verticales indican ± 1 desviación típica). *Evolution du contenu en polyphenols pendant l'élevage des vins Cabernet Sauvignon et Malbec avec différents temps de macération (les barres indiquent ± 1 écarte typique).*

La intensidad colorante, por otro lado, disminuyó perceptiblemente, sobre todo a partir del 4º mes de conservación, como consecuencia de la degradación de los antocianos (Figura 4.13). Todos los tratamientos disminuyeron con un ritmo similar y la intensidad colorante al fin del 9º mes estaba en relación directa con la intensidad que habían logrado durante la vinificación.

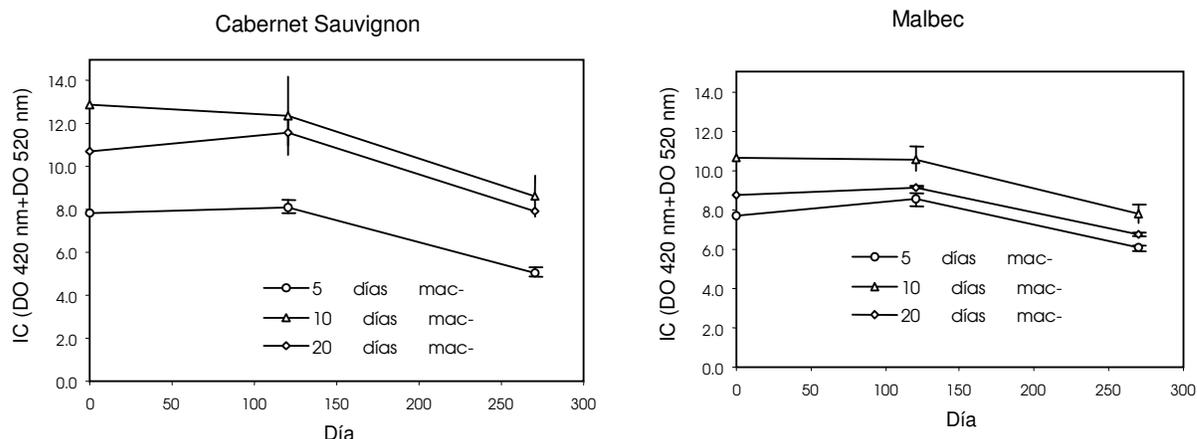


Figura 4.13: Evolución de la intensidad colorante durante la conservación, de vinos Cabernet Sauvignon y Malbec con distinto tiempo de maceración (las barras verticales indican ± 1 desviación típica). *Evolution de l'intensité colorée pendant l'élevage des vins Cabernet Sauvignon avec différent temps de macération (les barres inquent ± 1 ecarte tipique).*

Si se analiza la evolución del matiz (Figura 4.14), se puede observar que los vinos Cabernet Sauvignon, que no se habían oxidado durante la vinificación, sí sufrieron un proceso de pardeamiento bastante perceptible durante toda la etapa de conservación. En cambio, los vinos Malbec, resultaron más capaces de mantener la tonalidad lograda en la vinificación, aún en el caso de los vinos con maceraciones de 20 días, los cuales se habían oxidado notoriamente durante la maceración. Incluso, en algunos de estos vinos, en los primeros 4 meses de conservación su matiz bajó.

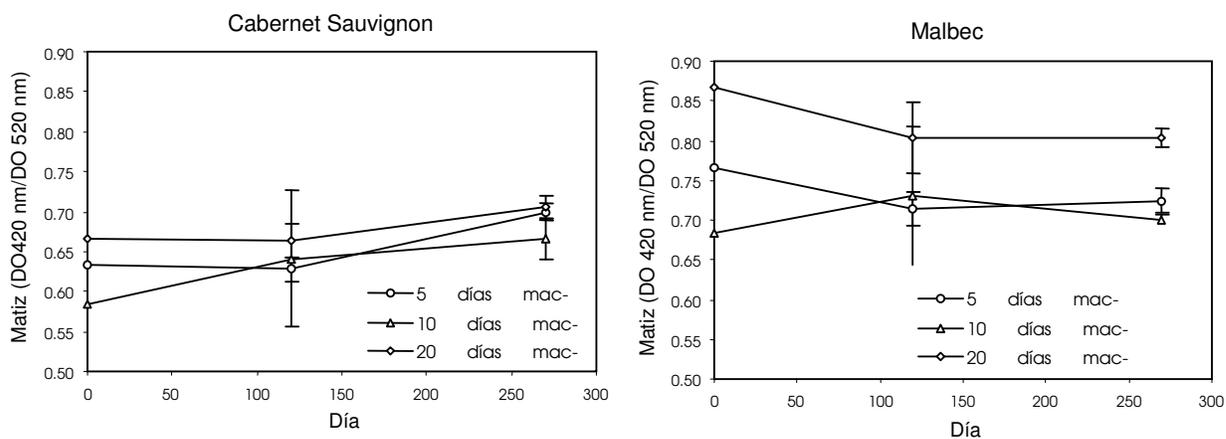


Figura 4.14: Evolución del matiz durante la conservación, de vinos Cabernet Sauvignon y Malbec con distinto tiempo de maceración (las barras verticales indican ± 1 desviación típica). *Evolution de la nuance pendant l'élevage des vins Cabernet Sauvignon avec différent temps de macération (les barres inquent ± 1 ecarte tipique).*

Debe tenerse en cuenta que las medidas de la intensidad colorante y del matiz, se construyen, la primera sumando las absorbancias en los colores rojo (DO_{520}) y amarillo (DO_{420}) y la segunda dividiendo el amarillo sobre el rojo. La absorbancia en el color rojo es un indicador de la cantidad de pigmentos antocianos bajo sus distintas formas coloreadas, por lo que es de esperar que ésta absorbancia tienda a disminuir durante la conservación, a medida que se degradan los antocianos. En la Figura 4.15 puede observarse que esto precisamente es lo que ocurrió con todos los vinos sin importar qué cantidad inicial de color rojo hubieran tenido.

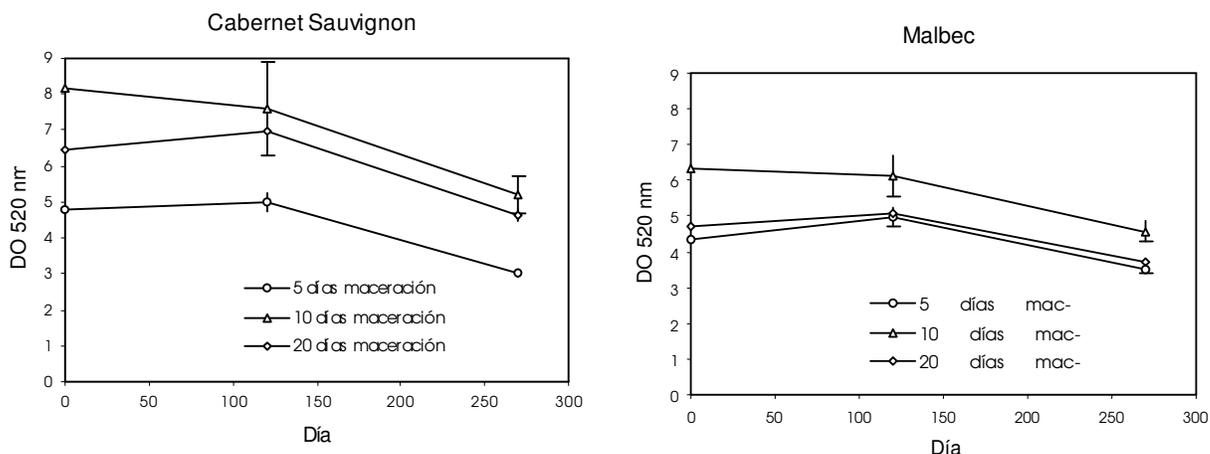


Figura 4.15: Evolución del color rojo, durante la conservación, de vinos Cabernet Sauvignon y Malbec con distinto tiempo de maceración (las barras verticales indican ± 1 desviación típica). *Evolution de la couleur rouge pendant l'élevage des vins Cabernet Sauvignon avec différent temps de macération (les barres inquent ± 1 ecarte tipique).*

El color amarillo, en cambio, tiene dos componentes importantes. Por un lado, forma parte del espectro de absorción de los antocianos, de manera que los vinos que tienen una gran cantidad de antocianos, también tienen una gran absorción de luz en el amarillo. Por otro lado, el color amarillo se desarrolla notoriamente en los fenoles que se oxidan a formas quinónicas. Por lo tanto, al medir el color amarillo durante la conservación de un vino, una disminución del mismo indica sobre todo una degradación de los antocianos, mientras un aumento indica un incremento de las formas fenólicas oxidadas. La Figura 4.16 muestra la evolución que sufrió el color amarillo, en los vinos ensayados. Puede observarse que todos los vinos presentaron una disminución a un ritmo muy parecido, lo que indicaría sobre todo una degradación de los antocianos y no la aparición de fenoles oxidados. Esto es lógico si se tiene en cuenta que los vinos fueron conservados en vasijas de vidrio al abrigo del aire.

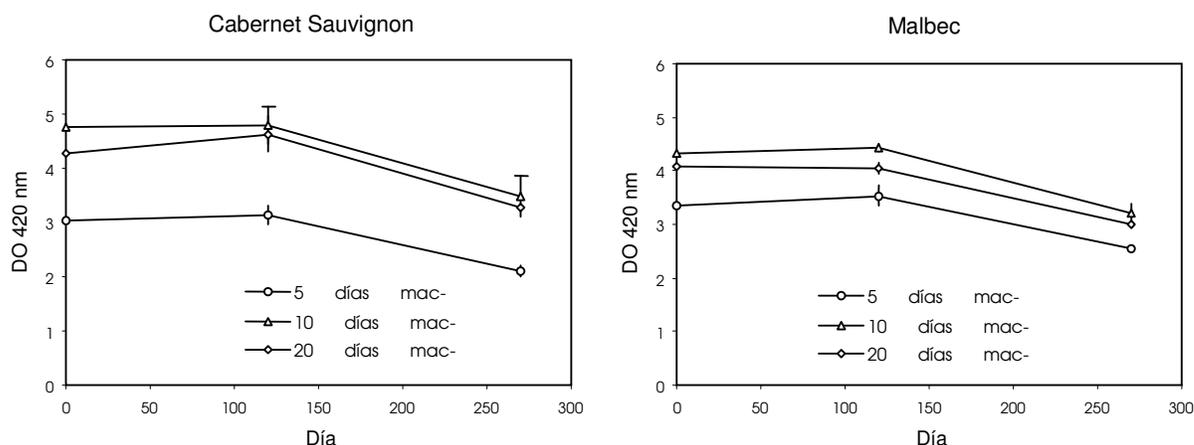


Figura 4.16: Evolución del color amarillo, durante la conservación, de vinos Cabernet Sauvignon y Malbec con distinto tiempo de maceración (las barras verticales indican ± 1 desviación típica). *Evolution de la couleur jaune pendant l'élevage des vins Cabernet Sauvignon avec différent temps de macération (les barres inquent ± 1 ecarte tipique).*

Con respecto a la evolución que sufrieron las distintas formas antocianicas coloreadas, en la Figura 4.17 se puede observar que a medida que se degradaban los antocianos, estimados como color total, disminuían los antocianos libres y los copigmentados en casi todos los vinos y aumentaban, los antocianos polimerizados con taninos y los antocianos incoloros asociados al SO_2 . Los antocianos copigmentados, luego de 9 meses de conservación, disminuyeron en su casi totalidad. No hubo grandes diferencias de comportamiento entre las distintas variedades y tiempos de maceración, no obstante, el aumento relativo del color polimérico fue más notorio en los vinos con una maceración de 5 días.

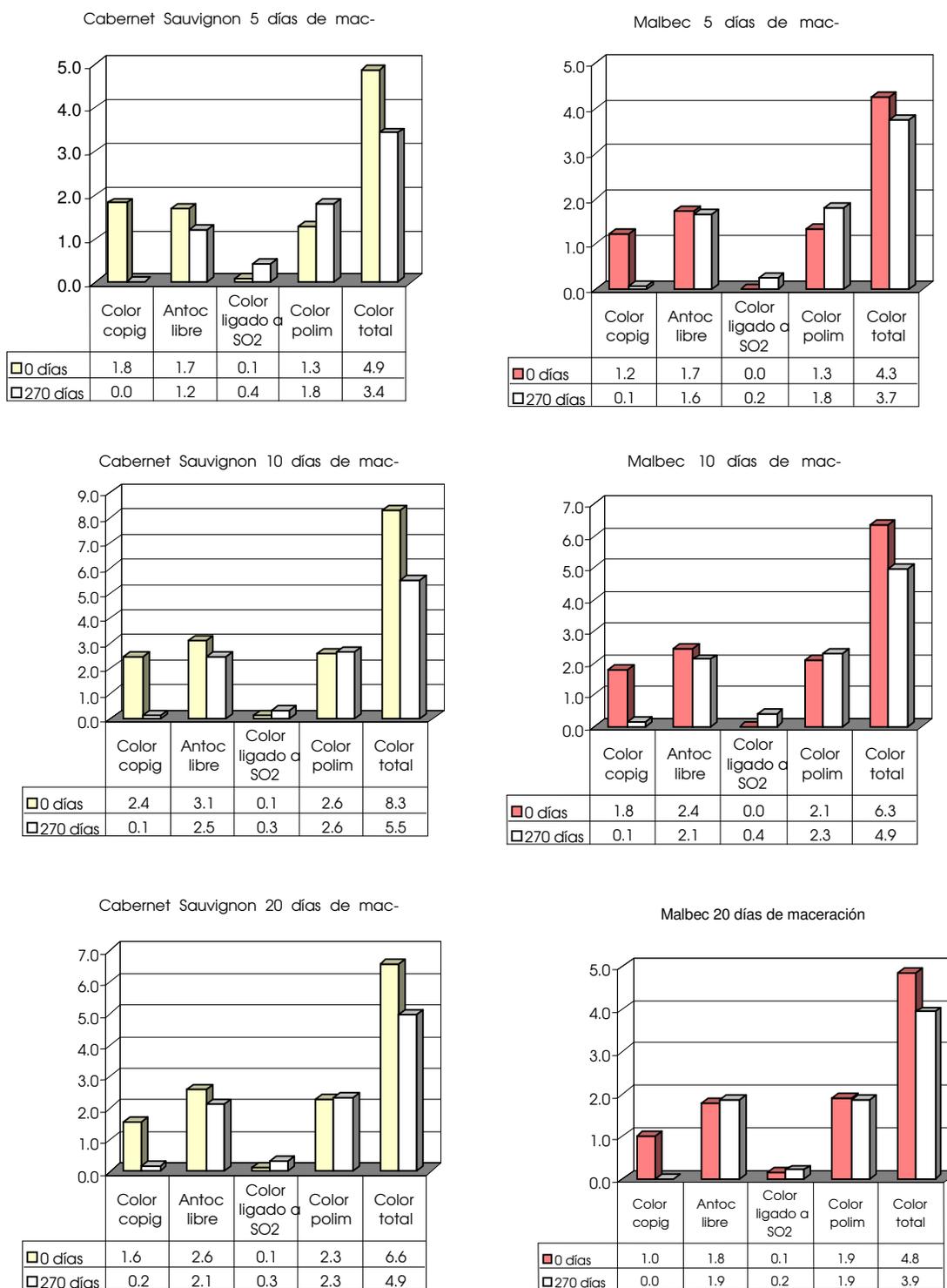


Figura 4.17: Evolución de los componentes del color, medidos como DO_{520} , durante la conservación de vinos Cabernet Sauvignon y Malbec con distinto tiempo de maceración. *Evolution des composants de la couleur, mesurés comme DO_{520} , pendant la conservation des vins Cabernet Sauvignon et Malbec avec différentes temps de maceration.*

4.6 Discriminación de las variedades de acuerdo a su perfil fenólico

El análisis discriminante consiguió diferenciar los vinos de las variedades Cabernet Sauvignon y Malbec, sobre la base de su perfil fenólico, independientemente del tiempo de maceración con que habían sido elaborados. El examen, con la variante de selección de variables por el método “forward”, logró un 100% de aciertos, utilizando tan sólo dos variables, el color polimérico y los taninos astringentes. Mediante el análisis quedó definida la función discriminante:

$$F_1 = -43,26 + 70,54 \cdot b_1 + 0,0034 \cdot b_2$$

Donde b_1 : Color polimérico/Color total y b_2 : Tanino astringente (mg/L)

Utilizando esta función, los vinos Cabernet Sauvignon y Malbec se pudieron definir por los siguientes conjuntos:

$$\{Cabernet\} = \langle x \mid F_{1(x)} > 0 \rangle$$

$$\{Malbec\} = \langle x \mid F_{1(x)} < 0 \rangle$$

La Figura 4.18 representa los valores de taninos astringentes y la proporción de color polimérico sobre el total que obtuvo cada vino. Allí puede observarse cómo los vinos de las variedades Cabernet y Malbec se separaron perfectamente por un límite, más allá del cuál sólo fue posible encontrar a una de las dos variedades.

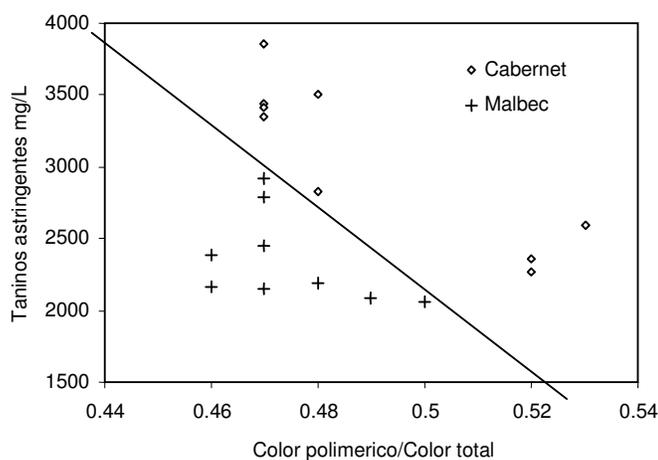


Figura 4.18: Discriminación de las variedades Cabernet Sauvignon y Malbec de acuerdo a su perfil polifenólico. *Discrimination des cépages Cabernet Sauvignon et Malbec d'accord a ses profils polyphenolics.*

Capítulo 5 CONCLUSIONES

La variedad Cabernet Sauvignon sigue un patrón de extracción de antocianos y taninos durante la maceración acorde con lo indicado por la bibliografía. La magnitud del color rojo alcanza un máximo cerca del 10° día y luego sufre una caída que, en maceraciones extendidas de 20 días, puede significar una pérdida de alrededor de un 10% con respecto al máximo. Los taninos aumentan su contenido aceleradamente hasta el 10° día y luego continúan creciendo muy lentamente. En maceraciones largas de 20 días el aumento en su contenido no es significativo. Los vinos Cabernet Sauvignon obtenidos con maceraciones clásica, de 10 días, y extendida, de 20 días, resultan muy superiores en cuanto a los contenidos de antocianos, color polimérico y taninos que los de maceraciones cortas, de 5 días. Estos mayores contenidos provocan una más intensa apreciación visual del color y de las sensaciones bucales de concentración y untuosidad. Los vinos de 10 y 20 días también resultan más ásperos, astringentes y secantes que los de 5 días, pero estas sensaciones no son predominantes y aportan a los vinos un componente importante de su estilo. Los atributos logrados por los vinos de 10 y 20 días los sitúan dentro del estilo clásico de los vinos argentinos. Entre los vinos de 10 días y los de 20 existen pocas diferencias. Los de 20 tienen una cantidad mayor de polifenoles totales y de taninos no astringentes. Estas diferencias se acompañan con una tendencia a percibir sensaciones de aspereza y amargo levemente inferiores. La mejora en los atributos de los vinos de 20 días puede deberse al acomplejamiento de taninos y polisacáridos que ocurre en una mayor extensión en las maceraciones posfermentativas. Estas mejoras se logran con un pequeño sacrificio en la magnitud del color rojo.

La variedad Malbec, con un pequeño ataque de podredumbre de los racimos, sigue un patrón de extracción de antocianos y taninos parecido al de Cabernet Sauvignon hasta el 10° día pero luego ambos muestran una caída pronunciada, como consecuencia de un deterioro oxidativo. Una de las causas de esta oxidación puede ser la presencia de enzimas oxidativas aportadas por los hongos de la podredumbre. No puede descartarse, sin embargo, que la propia variedad sea más sensible a estas oxidaciones. La maceración de 10 días resulta óptima para el Malbec. Los vinos se destacan por su mayor contenido en polifenoles totales, antocianos, color polimérico y taninos. Estos atributos provocan sensaciones de concentración y untuosidad destacadas y similares a las de los Cabernet Sauvignon de 10 y 20 días. En el Malbec de 10 días las sensaciones de secante, áspero y astringente son menores que en los Cabernet, lo cual es típico de esta variedad. Los Malbec de 5 días resultan muy pobres en atributos y los de 20 días con atributos intermedios entre los de 5 y los de 10 días, debido a la degradación sufrida.

En ambas variedades la pérdida en los contenidos de antocianos copigmentados se ve acompañada por un aumento proporcional en los contenidos de antocianos polimerizados, tanto durante la maceración, como durante los primeros meses de estacionamiento del vino. Se hace necesario realizar más investigación para probar si existen relaciones de causa-efecto entre ambos fenómenos y para conocer las condiciones que optimicen la obtención de color polimérico, que representa el componente mayoritario del color en los vinos estacionados.

Durante el estacionamiento en vasijas de vidrio todos los vinos Cabernet Sauvignon y Malbec, sin importar el tiempo de maceración con que hayan sido elaborados, sufren una degradación en sus contenidos de polifenoles totales, antocianos y taninos. El ritmo de degradación de cada compuesto es similar para los distintos vinos, sin importar qué cantidad inicial de ese compuesto hayan tenido.

En los vinos de ambas variedades los contenidos de polifenoles totales y de taninos están correlacionados positivamente con las sensaciones de aspereza, astringencia, secante y concen-

tración. La sensación de secante está asociada además, negativamente, con la proporción de taninos no precipitables con gelatina sobre el total de taninos. La sensación de untuosidad, que está contrapuesta a la astringencia, se correlaciona, sin embargo, en los vinos con las mismas variables referidas al contenido de polifenoles y taninos. Esta aparente contradicción precisa una mayor investigación para aclarar el rol que juegan los distintos tipos de tanino, los copolímeros de taninos y antocianos y los complejos taninos-polisacáridos en la astringencia y la untuosidad de los vinos.

La espectrometría VIS y UV, como método instrumental de análisis, resulta suficientemente potente como para permitir una la apreciación del perfil fenólico y diferenciar los vinos Cabernet Sauvignon, de los Malbec, independientemente del tiempo de maceración con que hayan sido elaborados.

AGRADECIMIENTOS

Deseo extender mi agradecimiento más sincero a:

Mi director de tesis el Ing. Agr. Ms. Sc. Carlos Catania y a mi co-director el Dr. Ing. Agr. Hernán Ojeda por su guía y apoyo durante mi trabajo.

La bodega Lagarde y a su enólogo el Lic. Enol. Fabián Gardino por permitirme utilizar a sus vinos como objeto de estudio.

Los Ing. Agr. Susana Albornoz y Hector Scarsi que guiaron y facilitaron mi trabajo en el Laboratorio de Fenoles de la EEA Mendoza del INTA.

El Ing. Agr. Humberto Frigerio que me permitió desinteresadamente utilizar el Laboratorio de la Cátedra de Enología de la F. C. Agrarias de la U.N.Cuyo.

La Ing. Agr. Silvia Paladino que me prestó su invaluable sentido crítico y me guió en la redacción del trabajo.

Al director de la EEA Mendoza del INTA que apoyó el financiamiento del proyecto.

A la Enol. Silvia Avagnina y a los auxiliares Alberto Sosa y Ramón Funes del Centro de Estudios Enológicos de la EEA Mendoza del INTA por ayudarme tanto en el manejo de mis experimentos.

BIBLIOGRAFIA

- Amrani Joutei, K.; Glories, Y. y Mercier M.; 1994: Localisation des tanins dans la pellicule de baie de raisin. *Vitis* 33 : 133-138.
- Amrani Joutei, K. y Glories, Y.; 1994: Étude en conditions modèles de l'extractibilité des composés phénoliques des pellicules et des pépins de raisins rouges. *J. Int. Sci. Vigne Vin.* 28, 4:303-317.
- Amrani Joutei, K. y Glories, Y.; 1996: Isolement des protoplastes de pellicules de raisin et optimisation de leur rendement. *Jour. Intern. Sci. Vigne Vin.* 30, 1: 41-45.
- Asselin, C.; Brossaud, F.; Cheynier, V. y Moutounet, M.; 1999: Influence de la température et de la durée de macération sur la composition en flavonoïdes et incidence sur les caractéristiques sensorielles des vins de Cabernet franc de divers terroirs en Val de Loire. Contribution pour une définition objective de la typicité. *Bulletin de l'O.I.V.* 72 (821-822):517-531.
- Auw, J.M.; Blanco, V.; O'Keefe, S.F. y Sims, C.A.; 1996: Effect of processing on the phenolics and colour of Cabernet Sauvignon, Chambourcin, and Noble wines and juices. *Am. J. Enol. Vitic.* 47:279-286.
- Asen, S.; Stewart, R.N. y Norris, K.H.; 1972: Co-pigmentation of anthocyanins in plant tissues and its effect on color. *Phytochem.* 11:1139-1144.
- Baranac, J.M.; Petranovic, N.A. y Dimitric-Marcokovic, J.M.; 1996: Spectrophotometric study of anthocyan copigmentation reactions. *J. Food. Sci.* 44:1333-1336.
- Baranowski, E.S. y Nagel, C.W.; 1983: Kinetics of malvidin-3-glucoside condensation in wine model systems. *J. Food. Sci.* 48:419-429.
- Bate-Smith, E.C.; 1954: Astringency in Foods. *Food* 23:124.
- Bate-Smith, E.C.; 1973: Haemanalysis of tannins: The concept of relative astringency. *Phytochem.* 12:907-9.
- Boulton, R.; 1995: Red wines. en: Fermented Beverage Production. *Lea, A.G.H., and Piggot, J.R. (Eds.), Blackie Academic and Professional, Chapman y Hall, London.* pp. 121-158.
- Boulton, R.; 1996: A method for the assessment of copigmentation in red wines. *Am. J. Enol. Vitic.* 47:346.
- Boulton, R.; 1999a: Copigmentation in Pinot Noir Wines. 2nd Joint Burgundy-California-Oregon Winemaking Symposium. UC Davis. Cooperative Extension.
- Boulton, R.; 1999b: El fenómeno de la copigmentación en los vinos tintos. Seminario Internacional "Hacia la Enología del Siglo XXI", INTA y Facultad de Ciencias Agrarias, UNCuyo, Argentina.
- Boulton, R.; 2001: The Copigmentation of Anthocyanins and its Role in the Color of Red Wine: A Critical Review. *Am. J. Enol. Vitic.* 52:2, 67-87.
- Brossaud, F.; 1999: Composition en flavonoïdes des baies et des vins de *Vitis vinifera* var. Cabernet franc. Etude des descripteurs analytiques et sensoriels en relation avec l'effet terroir en moyenne Vallée de la Loire. Rennes, France, L'Ecole Nationale Supérieure Agronomique, 1999, 344 pp.

- Brossaud, F.; Cheynier, V. y Noble, A.C.; 2001: Bitterness and astringency of grape and wine polyphenols. *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 7 (1) 33-39.
- Brouillard, R.; 1982: Chemical Structure of Anthocyanins. en: Anthocyanins as Food Colors P. Markakis (Ed.), pp 1-40. Academic Press. New York
- Brouillard, R. y Delaporte, B.; 1977: Chemistry of anthocyanin pigments. 2. Kinetic and thermodynamic study of proton transfer, hydration, and tautomeric reactions of malvidin 3-glucoside. *J. Am. Chem. Soc.* 99:8461-8468.
- Brouillard, R.; Mazza, G.; Saad, Z.; Albrecht-Gray, A.M. y Cheminat, A.; 1989: The copigmentation reaction of anthocyanins: A microprobe for the structural study of aqueous solutions. *J. Am. Chem. Soc.* 111:2604-2610.
- Brouillard, R. y Lang, J.; 1990: The hemiacetal-cis-chalcone equilibrium of malvin, a natural anthocyanin. *Can. J. Chem.* 68:755-761.
- Cheynier, V.; Moutounet, M. y Sarni-Manchado, P.; 1998: Les composés phénoliques. En : Oenologie, fondements scientifiques et technologiques. C. Flanzy, Paris, Lavoissier Tec&Doc (Eds), pp 124-164.
- Cravero, M. C. Y Bosso, A.; 1996: Incidenza della durata di macerazione e del tenore in etanolo sull'estrazione dei polifenoli durante la macerazione. *Quaderni della Scuola di Specializzazione in Viticoltura ed Enologia, Univ. Torino*. Italy, 1996, (20) 17-43.
- Dangles, O.; Saito, N. y Brouillard, R.; 1993: Anthocyanin intramolecular copigment effect. *Phytochem.* 34:119-124.
- Davies, A.J. y Mazza, G.; 1993: Copigmentation of simple and acylated anthocyanins with colorless phenolic compounds. *J. Agric. Food. Chem.* 41:716-720.
- Dacey, M.; 1996: The Effect of Cold Maceration With and Without Sulphur Dioxide on Pinot Noir Wine. *M. Appl. Sci. Thesis, Lincoln University, New Zealand*.
- Doco, T.; Williams, P.; Moutounet, M. y Pellerin, P.; 2000: Les polisaccharides du vin. *Bulletin de l'O.I.V.* (837-838): 785-792.
- Dubordieu, D.; Hadjinicolau, D. y Ribéreau-Gayon, P.; 1981: Les polysaccharides solubles du moût: une méthode simple d'appréciation; evolutione au cours de la maturation; incidence sur les opérations fermentaires. *Conn. Vigne et Vin*, 15:29-40.
- Furtado, P.; Figueiredo, P.; Chaves das Neves, H. y Pina, F.; 1993: Photochemical and thermal degradation of anthocyanins. *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* 75:113-118.
- Gawel, R.; Oberholster, A. y Leigh-Francis, I.; 2000: A "Mouth-feel Weel": terminology for communicating the mouth-feel characteristics of red wine. *Aus. J. Grape and Wine Research* 6, 203-207.
- Haslam, E.; 1980: In Vino Veritas: Oligomeric procyanidins and the ageing of red wines. *Phytochem.* 19:2577-2582.
- Hoshino, T.; 1991: An approximate estimate of self-association constants and the self-stacking conformation of malvin quinoidal bases studied by ¹H NMR. *Phytochem.* 30:2049-2055.
- Hoshino, T.; 1992: Self-association of flavylum cations of anthocyanidin 3,5-diglucosides studied by circular dichromism and ¹H NMR. *Phytochem.* 31:647-653.

- Iland, P.; Ewart, A. y Sitters, J.; 1993: Techniques for chemical analysis and stability tests of grape juice and wine. *Kitchener Press Pty. Ltd., Adelaide, Australia.*
- Kantz, K. y Singleton, V.L.; 1991: Isolation and determination of polymeric polyphenols in wines using Sephadex LH-20. *Am. J. Enol. Vitic.* 42:309-315.
- Kovac, V.; Alonso, E.; Bourzeix, M. y Revilla, E.; 1992: Effect of several enological practices on the content of catechins and proanthocyanidins of red wines. *J. Agric. Food. Chem.* 40:1953-1957.
- Lee, T.; Hin, M.; Ough, C. y Berg, H.; 1977: Effects of fermentation variables on the color and sensory quality of Pinot Noir wines. *Proc. 3rd Aust. Wine Ind. Tech. Conference. Albany, pp 77.*
- Maury, C.; Sarni-Manchado, P.; Lefevre, S.; Ceynier, V. y Moutounet, M.; 2001: Influence of Fining with Different Weight Gelatins on Proanthocyanidin Composition and Perception of Wines. *Am. J. Enol. Vitic.* 52,2:140-145.
- Mayen, M.; Merida, J. Y Medina, M.; 1994: Free Anthocyanins and Polimeric Pigments During the Fermentation and Post-fermentation of Musts from Cabernet Sauvignon and Tempranillo Grapes. *Am. J. Enol. Vitic., Vol. 45, N° 2.*
- Mazza, G. y Brouillard, R.; 1987: Recent developments in the stabilization of anthocyanins in food products. *Food. Chem.* 25:207-225.
- Mazza, G.; 1995: Anthocyanins in grapes and grape products. *Crit. Rev. Food Sci. Nut.* 35:341-371.
- Mazza, G. y Brouillard, R.; 1990: The mechanism of co-pigmentation of anthocyanins in aqueous solutions. *Phytochem.* 29:1097-1102.
- Mc. Murrough, I. y Mc Dowell, J.; 1978: Chromatographic separation and automated analysis of flavanols. *Anal. Biochem.,* 91:92-100.
- Merida, J.; Moyano, L.; Millan, C. y Medina, M.; 1991: Extraction of phenolic compounds in controlled macerations of Pedro Ximenez grapes. *Vitis* 30:117-127.
- Merlin, J.; Statou, A. y Brouillard, R.; 1985: Investigation of the in vivo organisation of anthocyanins using resonance raman microspectrometry. *Phytochem.* 24. 7: 1575-1581.
- Moutounet, M.; Rigaud, J.; Souquet, J.M. y Ceynier, V.; 1996: Caractérisation structurale des tanins de la baie de raisin. *Bulletin de L'O.I.V.,* 783-784:433-443.
- Moutounet, M.; 2000: Apuntes del Curso de Tecnología Enológica. *Maestría de Viticultura y Enología, FCA-UNCuyo, ENSA-Montpellier, INTA Mendoza. Argentina.*
- Noble, A.C.; 1990: Bitterness and astringency in wine. en: Rouseff, R. L. (Ed.): Bitterness in Foods and Beverages. *Ed. Developments in Food Science. USA.*
- Ojeda, H.; 1999: Influence de la contrainte hydrique sur la croissance du péricarpe et sur l'évolution des phénols des baies de raisin (*Vitis vinifera* L.) cv. Syrah. *Thèse de Doctorat, Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Montpellier.*
- Oszmianski, J.; Romeyer, F.M.; Sapis, J.C. y Macheix, J.J.; 1986: Grape seed phenolics: Extraction as affected by some conditions occurring during wine processing. *Am. J. Enol. Vitic.* 37:7-12.

- Ough, C.S. y Amerine, M.A.; 1988: Methods for Analysis of Musts and Wines. Edit. John Wiley & Sons, New York. pp 208-210.
- Parley, A.; 1997: The Effect of Pre-fermentation Enzyme Maceration on Extraction and Color Stability in Pinot Noir. *Thesis submitted for the degree of Ms. Sci. Lincoln University. New Zealand*
- Peleg, H.; Gacon, K.; Schlich P. y Noble, A. C.; 1999: Bitterness and astringency of flavan-3-ol monomers, dimers and trimers. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 79 1123-1128.
- Peynaud, E.; 1984: Knowing and Making Wine. *John Wiley & Sons, New York*.
- Price, S.F.; Breen, P.J.; Valladao, M. y Watson, B.T.; 1995a: Cluster sun exposure and quercetin in Pinot noir grapes and wine. *Am. J. Enol. Vitic.* 46:187-194.
- Price, S.F.; Watson, B.T. y Valladao, M.; 1995b: Vineyard and winery effects on wine phenolics - flavanols in Oregon Pinot noir. en: Proceedings of the Ninth Australian Wine Industry Technical Conference, Adelaide. *Stockley, C.S., Sas, A.N., Johnstone, R.S., and Lee, T.H. (Eds.). pp. 93-97.*
- Ramey, D.; Bertrand, A.; Ough, C.S.; Singleton, V.L. y Sanders, E.; 1986: Effects of skin contact temperature on Chardonnay must and wine composition. *Am. J. Enol. Vitic.* 37:99-106.
- Ribéreau-Gayon, P. y Stonestreet, E.; 1965: *Bull. Soc. Chim. Fr.* pp 2649-2652.
- Ribéreau-Gayon, P. y Stonestreet, E.; 1966: *Chim. Anal.* 48:188-196.
- Ribéreau-Gayon, P.; 1982: The Anthocyanins of Grapes and Wines, en: Anthocyanins as Food Colours. *Editado por P. Markakis, Academic Press, New York. Pp. 209-243.*
- Ribéreau-Gayon, P.; Pontallier. P. y Glories, Y.; 1983: Some interpretations of colour changes in young red wines during their conservation. *J. Sci. Fd. Agric.* 34:505-516.
- Ribéreau-Gayon, P. y Glories, Y.; 1986: Phenolics in grapes and wines. en: Proceedings of the sixth Australian Wine Industry Technical Conference, Adelaide. *Lee, T. (Ed.). pp 247-256.*
- Sarni-Manchado, P.; Cheynier, V. y Moutounet, M.; 1999a: Interactions of grape seed tannins with salivary proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 47(1): 42-47.
- Sarni-Manchado, P.; Deleris, A.; Avallone, S.; Cheynier, V. y Moutounet, M.; 1999b: Analysis and Characterization of Wine Condensed Tannins Precipitated by Proteins Used as Fining Agent in Enology. *Am. J. Enol. Vitic.* 50(1): 81-86.
- Saucier, C.; 1997: Les tanins du vin: Etude de leur stabilité colloïdale. *Thesis, Université Bordeaux II, Francia.*
- Saucier, C.; Glories, Y. y Rous, D.; 2000: Interactions tanins-colloïdes: nouvelles avancées concernant la notion de bons et mauvais tanins. *Rev. Oenol.* 94:9-10.
- Schmidt, J.O. y Noble, A.C.; 1983: Investigations of the effect of skin contact time on wine flavour. *Am. J. Enol. Vitic.* 34:135-138.

- Scudamore-Smith, P.D.; Hooper, R.L. y McLaren, E.D.; 1990: Colour and phenolic changes of Cabernet Sauvignon wine made by simultaneous yeast/bacterial fermentation and extended pomace contact. *Am. J. Enol. Vitic.* 41:57-67.
- Singleton, V.L. y Draper, D.E. ; 1964: The transfer of polyphenolic compounds from grape seeds into wines. *Am. J. Enol. Vitic.* 45:34-40.
- Sims, C.A. y Bates, R.P.; 1994: Effects of skin fermentation time on the phenols, ellagic acid sediment and sensory characteristics of a red *Vitis rotundifolia* wine. *Am. J. Enol. Vitic.* 45:56-62.
- Somers, T.C. y Evans, M.E.; 1974: Wine quality: Correlations with colour density and anthocyanin equilibria in a group of young red wines. *J. Sci. Fd. Agric.* 25:1369-1379.
- Somers, T.C. y Evans, M.E.; 1977: Spectral evaluation of young red wines: Anthocyanin equilibria, total phenolics, free and molecular SO₂, and "chemical age". *J. Sci. Fd. Agric.* 28:279-287.
- Somers, T.C. y Evans, M.E.; 1979: Grape pigment phenomena: Interpretation of major colour losses during vinification. *J. Sci. Fd. Agric.* 30:623-633.
- Somers, T.C. y Evans, M.E.; 1986: Evolution of red wines I. Ambient influences on colour composition during early maturation. *Vitis* 25:31-39.
- Somers, T.C. y Verette, E.; 1988: Phenolic Composition of Natural Wine Types en: Modern Methods of Plant Analysis, Wine Analysis. *Linskens, H.F., and Jackson, J.F., Eds., Springer-Verlag, Berlin. pp 219-257.*
- Somers, T.C. y Westcombe, L.G.; 1982: Red wine quality: The critical role of SO₂ during vinification and conservation. *Aust. Grapegrow. Winemaker* 220:68-74.
- Timberlake, C.F. y Bridle, P.; 1967: Flavylum salts, anthocyanidins and anthocyanins II. - Reactions with sulphur dioxide. *J. Sci. Fd. Agric.* 18:479-485.
- Timberlake, C.F. y Bridle, P.; 1976: Interactions between anthocyanins, phenolic compounds, and acetaldehyde and their significance in red wines. *Am. J. Enol. Vitic.* 27:97-105.
- Wulf, L.W. y Nagel, C.W.; 1978: High-Pressure liquid chromatographic separation of anthocyanins of *Vitis vinifera*. *Am. J. Enol. Vitic.* 29:42-49.
- Yokotsuka, K.; Sato, M.; Ueno, N. y Singleton, V.L.; 1996: Color and sensory changes in Merlot red wine during prolonged pomace contact. *Am. J. Enol. Vitic.* 47:356.
- Zironi, R., Buiatti, S. y Celotti, E.; 1992: Evaluation of a new colorimetric method for the determination of catechins in musts and wines. *Wein – Wissenschaft, Wiesbaden*, 47:1:7.
- Zoecklein, B.; 1991: An overview of maceration during red winemaking. *Aust. & N.Z. Wine Ind. J.*, 6:265-267.

INDICE DE ILUSTRACIONES

Figura 2.1: Principales fenoles de la uva.	3
Figura 2.2: Ésteres hidroxicinnámicos de la uva.	4
Figura 2.3: Estructura del ácido gálico.	4
Figura 2.4: Estructura de la 2 fenil benzopirona.	5
Figura 2.5: Flavonoles de la uva.	5
Figura 2.6: Estructura química de las antocianidinas (forma flavilium).....	6
Figura 2.7: Antocianidinas de la uva en forma de catión flavilium.	6
Figura 2.8: Efecto batocromo en los antocianos.	7
Figura 2.9: Principales 3-flavanoles monómeros de la uva.	8
Figura 2.10: Tipos de uniones entre monómeros presentes en los proantocianidinas de la uva.	9
Figura 2.11: Evolución del contenido de antocianos y polifenoles totales durante la maceración de un vino tinto según Ribéreau-Gayon (1982).....	12
Figura 2.12: Equilibrios de los antocianos en soluciones acuosas (Brouillard y Dalaprote, 1977).	15
Figura 2.13: Distribución de los equilibrios de las principales formas de malvidina-3-monoglucósido en función del pH, a 25°C (Brouillard y Delaporte, 1977).	17
Figura 2.14: Compuesto de adición bisulfito-antocianina incoloro.	18
Figura 2.15: Autoasociación de malvidina-3-glucosa cumarato.....	20
Figura 2.16: Adición antociano-tanino y compuestos formados.	21
Figura 2.17: Reacción de adición tanino - antociano y compuesto formado (Haslam, 1980). .	22
Figura 2.18 Condensación tanino-antociano mediante un puente etanal (Timberlake y Bridle, 1976).	22
Figura 2.19 Esquema de la oxidación de las proantocianidinas.	23
Figura 2.20 Modelo del comportamiento coloidal de los taninos.....	25
Figura 3.1: Evolución de la fermentación –densidad y temperatura- durante las vinificaciones “madres” de Cabernet Sauvignon y Malbec.	27
Figura 4.1: Evolución del color rojo y de los polifenoles totales durante la maceración de vinos Cabernet Sauvignon y Malbec (ajuste por cuadrados mínimos de distancias ponderadas).	32
Figura 4.2: Evolución de la intensidad colorante y del matiz durante la maceración de vinos Cabernet Sauvignon y Malbec (ajuste por cuadrados mínimos de distancias ponderadas).	33
Figura 4.3: Evolución del color y de sus componentes - color copigmentado, color polimérico y antocianos libres coloreadas -, durante la maceración, de vinos Cabernet Sauvignon (ajuste por cuadrados mínimos de distancias ponderadas).	34

Figura 4.4: Evolución del color y de sus componentes - color copigmentado, color polimérico y antocianos libres coloreados -, durante la maceración, de vinos Malbec (ajuste por cuadrados mínimos de distancias ponderadas).	34
Figura 4.5: Contenidos de proantocianidinas, catequinas, polifenoles totales y antocianos totales de vinos Cabernet Sauvignon y Malbec, macerados durante 5, 10 y 20 días (las barras verticales indican ± 1 desviación típica).	36
Figura 4.6 Contenidos de taninos astringentes y no astringentes de vinos Cabernet Sauvignon y Malbec, elaborados con maceraciones de 5, 10 y 20 días (las barras verticales indican ± 1 desviación típica).	38
Figura 4.7: Características organolépticas – gustativas y visuales – de vinos Cabernet Sauvignon y Malbec con maceraciones de 5, 10 y 20 días (las barras verticales indican ± 1 desviación típica)	41
Figura 4.8: Perfil de sensaciones bucales en vinos Cabernet Sauvignon con distinto tiempo de maceración	42
Figura 4.9: Perfil de sensaciones bucales en vinos Malbec con distinto tiempo de maceración	43
Figura 4.10: Análisis de componentes principales del perfil fenólico de vinos Cabernet Sauvignon y Malbec elaborados con 5, 10 y 20 días de maceración: peso de las variables que forman los CP 1 y CP 2.....	44
Figura 4.11: Análisis de componentes principales del perfil fenólico de vinos Cabernet Sauvignon y Malbec elaborados con 5, 10 y 20 días de maceración: ubicación espacial de los casos con respecto a los CP 1 y CP2.....	45
Figura 4.12: Evolución del contenido de polifenoles durante la conservación, de vinos Cabernet Sauvignon y Malbec con distinto tiempo de maceración (las barras verticales indican ± 1 desviación típica).	46
Figura 4.13: Evolución de la intensidad colorante durante la conservación, de vinos Cabernet Sauvignon y Malbec con distinto tiempo de maceración (las barras verticales indican ± 1 desviación típica).	47
Figura 4.14: Evolución del matiz durante la conservación, de vinos Cabernet Sauvignon y Malbec con distinto tiempo de maceración (las barras verticales indican ± 1 desviación típica).	47
Figura 4.15: Evolución del color rojo, durante la conservación, de vinos Cabernet Sauvignon y Malbec con distinto tiempo de maceración (las barras verticales indican ± 1 desviación típica).	48
Figura 4.16: Evolución del color amarillo, durante la conservación, de vinos Cabernet Sauvignon y Malbec con distinto tiempo de maceración (las barras verticales indican ± 1 desviación típica).	49
Figura 4.17: Evolución de los componentes del color, medidos como DO_{520} , durante la conservación de vinos Cabernet Sauvignon y Malbec con distinto tiempo de maceración.....	50
Figura 4.18: Discriminación de las variedades Cabernet Sauvignon y Malbec de acuerdo a su perfil polifenólico.....	51

INDICE DE TABLAS

Tabla 2.1: Contenidos de 3-flavanoles monómeros, proantocianidinas oligómeras y proantocianidinas polímeras en bayas de Cabernet Franc (Cheynier <i>et al.</i> , 1998). En mg de catequina/kg de bayas.	10
Tabla 2.2: Características diferenciales de los proantocianidoles presentes en la película y la semilla de la baya de uva (Moutounet <i>et al.</i> , 1996).	10
Tabla 2.3: Constantes termodinámicas para las transformaciones estructurales de malvidina-3-monoglucosido en solución acuosa 0,2 M a 25°C (Brouillard y Delaporte, 1977).	16
Tabla 4.1: Composición fenólica de vinos Cabernet Sauvignon elaborados con distintos tiempos de maceración (las letras distintas indican diferencias en la prueba de Tukey para un valor de $p \leq 0,05$).	35
Tabla 4.2: Composición fenólica de vinos Malbec elaborados con distintos tiempos de maceración (las letras distintas indican diferencias en la prueba de Tukey para un valor de $p \leq 0,05$).	36
Tabla 4.3: Componentes fenólicos de los hollejos y dimensiones de las uvas Cabernet Sauvignon y Malbec.	37
Tabla 4.4: Características de los taninos de vinos Cabernet Sauvignon elaborados con distintos tiempos de maceración (las letras distintas indican diferencias en la prueba de Tukey para un valor de $p \leq 0,05$).	37
Tabla 4.5: Características de los taninos de vinos Malbec elaborados con distintos tiempos de maceración (las letras distintas indican diferencias en la prueba de Tukey para un valor de $p \leq 0,05$).	38
Tabla 4.6: Componentes del color de vinos Cabernet Sauvignon elaborados con distintos tiempos de maceración (las letras distintas indican diferencias en la prueba de Tukey para un valor de $p \leq 0,05$).	39
Tabla 4.7: Componentes del color de vinos Malbec elaborados con distintos tiempos de maceración (las letras distintas indican diferencias en la prueba de Tukey para un valor de $p \leq 0,05$).	39
Tabla 4.8: Características sensoriales - gustativas y visuales - en vinos Cabernet Sauvignon con distintos tiempos de maceración, en valores convencionales de 0 a 5 (las letras distintas indican diferencias significativas en la prueba de Tukey para una $p \leq 0,05$).	40
Tabla 4.9: Características sensoriales - gustativas y visuales - en vinos Malbec con distintos tiempos de maceración, en valores convencionales de 0 a 5 (las letras distintas indican diferencias significativas en la prueba de Tukey para una $p \leq 0,05$)	40
Tabla 4.10: Valores de correlación de Pearson entre variables organolépticas y químicas medidas en los ensayos de tiempos de maceración en Cabernet Sauvignon y Malbec (sólo se indican las correlaciones altas, $r \geq 0,7$)	43