
PIRANOANTOCIANOS, NUEVOS PIGMENTOS EN LOS VINOS TINTOS

Aspectos científicos e implicancias tecnológicas

Federico Casassa - Carlos Catania.

Centro de Estudios de Enología - EEA Mendoza INTA.

Resumen

El universo del color de los vinos tintos es complejo, dentro del mismo actúan diversos compuestos que provienen de la uva y otros que son formados durante los procesos de vinificación y añejamiento de los vinos. Las continuas investigaciones en torno al desarrollo del color en los vinos, aportan cada vez más luz sobre el tema. El presente trabajo nos entrega un interesante compendio sobre el estado de los conocimientos actuales sobre este tema.

Abstract

Red wines colour universe is complex, where many factors and different compounds derived from grapes, and many others produced during winemaking and ageing process, take part. Constant researches about wine colour development, throw light on this subject. This work gives us an interesting summary about current state of knowledge about this subject.

Palabras claves: pigmentos de los vinos, antocianos, fenoles, taninos, vitisinas, piranoantocianos.

Key words: wines pigment, anthocyanins, phenols, tannins, vitisin, pyranoanthocyanins.

INTODUCCIÓN

Cuenta *Raymond Brouillard*, que en su juventud, cuando aún no descubría los misterios del color del vino, fue testigo del hallazgo de un pequeño tesoro: en una húmeda cava parisina, yacían varias botellas de prestigiosos *Pinot Noir* de *La Romanée-Conti* y *Pommard*, cuya fecha de embotellado variaba entre los años 1920 y 1930. Pero no fue la edad de las botellas ni el estoicismo con el cual estos vinos resistieron los embates de la temperatura y el tiempo lo que sorprendió al investigador. Al destaparlos fluyó, luego de casi 5 décadas de espera, un líquido aún brillante, que ofrecía tímidamente algunos reflejos rojizos, a pesar de la evidente pérdida y cambio del color original. (18).

Los antocianos de las bayas de *Vitis vinifera* L., responsables del futuro color rojo del vino, se encuentran entre los más simples químicamente dentro de las plantas superiores. Otras, como petunias, orquídeas y *berries*, han desarrollado estructuras antociánicas muy complejas a partir de cadenas laterales que "cubren" físicamente la porción aglicona de la molécula (43,49), con propiedades bio-físico-químicas diferentes a las de los antocianos de las uvas. La simplicidad estructural de los antocianos de *Vitis vinifera* y la algunas veces extensa



permanencia del color rojo del vino es lo que se ha dado en llamar últimamente “La Segunda Paradoja Francesa” (18).

Los antocianos son quizás las moléculas más reactivas presentes en mostos y vinos, y como tales, son difíciles de estabilizar. No siempre es posible predecir la intensidad de color de los vinos tintos jóvenes teniendo en cuenta solo la composición antociánica de las uvas: altos contenidos polifenólicos en general y antociánico en particular, no dan necesariamente origen a vinos coloreados; los antocianos monoméricos, una vez liberados al medio por las operaciones de vendimia y en las etapas subsiguientes de vinificación, se ven, en mayor o menor medida, implicados en asociaciones moleculares débiles (el llamado fenómeno de copigmentación¹), y en reacciones químicas.

Entre las bebidas (agua, té, cerveza, vino, café, leche, jugos en general), el vino tinto es la única cuyas propiedades organolépticas mejoran con el tiempo, durante el fenómeno de añejamiento. En el vino joven, los antocianos desaparecen luego de algunos meses, dando origen a nuevos pigmentos resultantes de reacciones físico-químicas que ocurren espontáneamente, y que permiten la conservación de los tonos rojos por un tiempo variable de años. Estas reacciones pueden, al menos parcialmente, ser favorecidas por el enólogo a lo largo de todo el proceso de elaboración. Ciertos vinos de renombre mundial (los mencionados *Pinots Noir* de la Borgoña francesa, algunos *Brunello di Montalcino*, o *Riojas* españoles) son conocidos por conservar su color por un tiempo mas o menos considerable. La pregunta es: cual es la particularidad química de estos vinos que les permite añejar bien?

1. Los Antocianos – Relevancia química

Las antocianidinas son fenoles flavonoides presentes en las vacuolas de las células del hollejo de las bayas de *Vitis vinifera*. También se encuentran en la pulpa de las cvs. tintoreras (*Alicante Bouchet*, *Teinturier*) (36). Su extracción, en el curso la fase prefermentativa y de maceración, es determinante del estilo y la calidad final del vino, como se evidencia a partir de las correlaciones positivas entre el color y la calidad global del vino (55,103). La estructura básica de la antocianidina comprende un anillo A, derivado del floroglucinol, unido a un anillo flavilium C, el cual a su vez esta unido al anillo fenólico B. El anillo flavilium posee una carga positiva situada sobre el átomo de oxígeno, la cual está deslocalizada en todo el heterociclo (C), e incluso en los ciclos adyacentes (A y B). Es precisamente la deslocalización de ésta carga positiva la responsable de la interacción con la luz y por lo tanto, de que la molécula presente color rojo (120).

Tabla N°1: Antocianidinas y antocianos de *Vitis vinifera*. Signo + indica presencia y - ausencia.

| Antocianidinas (aglicona) | Antocianos | | | | Ésteres de los ácidos | | |
|---------------------------|------------------|------------------|-----------|-----------------|-----------------------|------------|---------|
| | R ₁ | R ₂ | Polaridad | 3-monoglucósido | acético | p-cumárico | cafeico |
| cianidina | OH | H | Alta | + | + | + | - |
| peonidina | OCH ₃ | H | Baja | + | + | + | + |
| delfinidina | OH | OH | Muy alta | + | + | + | - |
| petunidina | OCH ₃ | OH | Media | + | + | + | - |
| malvidina | OCH ₃ | OCH ₃ | Muy baja | + | + | + | + |

(Adaptado de Zamora, F. 2003).

¹ En una próxima edición de Revista Enología se tratará en profundidad el fenómeno de copigmentación de los vinos tintos y su influencia en la estabilización de la materia colorante.



Los antocianos son esencialmente monómeros 3-monoglucósidos polihidroxilados y/o metoxilados de 5 agliconas: malvidina, peonidina, petunidina, cianidina y delphinidina. Las cvs. *no viníferas* (ej. *Vitis labrusca*), contienen además 3,5 diglucósidos de las 5 agliconas (86), y en otras frutas y flores otros azúcares distintos de la glucosa (ribosa), pueden encontrarse sustituidos en estas posiciones. Unido al grupo glicosídico, se encuentran acilando a la molécula residuos de ácido acético, *p*-cumárico o cafeico (65). La esterificación de los azúcares con éstos ácidos produce la estabilización de la molécula y de su capacidad colorante en el vino, debido a fenómenos de autocopigmentación (54). Ciertas cvs. como *Pinot Noir* y *Sangiovese*, carecen de antocianos acilados (117), con la consiguiente consecuencia estructural desde el punto de vista de la estabilidad de los mismos. Además de la influencia de la cv. en la extractabilidad (91), el perfil antociánico de una misma cv. puede variar de acuerdo con el año climático (21), la exposición lumínica del viñedo (59), y por ciertas prácticas culturales como la fertilización nitrogenada (59) y el raleo de racimos (50). Durante la maduración de la baya, la acumulación de malvidina 3-glucósido resulta poco afectada por condiciones medioambientales, en tanto que la cianidina 3-glucósido parece ser el antociano más afectado por estos factores (59).

Se conocen 17 formas antociánicas principales en *Vitis vinifera* (14) (Tabla N° 1); aunque recientemente, utilizando técnicas de HPLC-DAD-MS, se ha determinado en vinos *Tempranillo*, a nivel de trazas, la presencia de 3,5 y 3,7 diglucósidos (1), sugiriendo que la ocurrencia de antocianos diglucósidos no está solo circunscripta a las cvs. americanas. Investigaciones recientes han demostrado además la ocurrencia de la reacción de esterificación de la función glucosa de los antocianos con ácido láctico y *p*-cumárico, dando origen a nuevos antocianos acilados en el vino, y que no estaban presentes originalmente en la uva (1).

Los antocianos se diferencian por el nivel de hidroxilación y/o metilación de su anillo fenólico 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 a los azúcares (65).

De acuerdo al número de hidroxilos presentan distinta polaridad. La cantidad de grupos hidroxilo y su vecindad con el anillo fenólico, tiene importantes efectos sobre la propensión de la molécula a oxidarse. El aumento de la cantidad de hidroxilos y/o metoxilos en el núcleo B va acompañado de un efecto batocrómico (aumento en la λ de máxima de absorción).

La malvidina 3-glucósido es el antociano predominante en la uva (14,85), y además el más estable (46): el grupo metilo en la posición 3 del anillo fenólico, por su volumen, ejerce una protección contra el ataque nucleofílico del agua sobre la posición 4 del cation flavilium (47), y evita la formación de radicales a partir de ella (Fig. N°1).

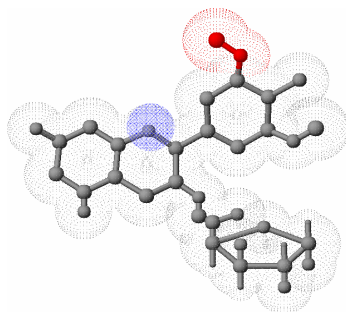


Fig. N°1: Estructura tridimensional de la malvidina 3-glucósido. En rojo se indica el grupo metilo. En azul, la carga positiva del cromóforo.

1.1. La estructura molecular

2.1. La estructura molecular de los antocianos y su influencia en la estabilidad del color

Una propiedad emergente de los antocianos de *Vitis vinifera*, y que los distingue del resto de los antocianos del género, es la presencia de un hidroxilo libre en la posición 5 del anillo A (en la Fig. N°2 señalado en el recuadro amarillo). Es justamente este último el que permite el desarrollo de cierto tipo de pigmentos, durante la maduración y crianza del vino (18). Ello explica también la escasa



estabilidad y la mala evolución del color en los vinos de las especies americanas o de híbridos productores directos, en las cuales la mayoría de los antocianos se hallan como diglucósidos. Si bien la presencia de una función glucosa en la posición 5 de la molécula aumenta momentáneamente su estabilidad (87), el mismo impedimento esteárico de la molécula de glucosa (y la ausencia de un hidroxilo reactivo), en esta posición, imposibilitaría la intervención de éste tipo de antocianos en reacciones de cicloadición.

Tanto en soluciones modelo como en vinos, ha sido demostrado que la presencia del anillo A floroglucinol, es absolutamente necesaria en la molécula para la formación de pigmentos estables (18,31). Por otra parte, las sustituciones en la posición 4 también resultan en un aumento de la estabilidad de la molécula resultante (108). En la figura N°2 se presenta un esquema de la molécula y la influencia de cada sitio de la misma en las reacciones que involucran el color del vino.

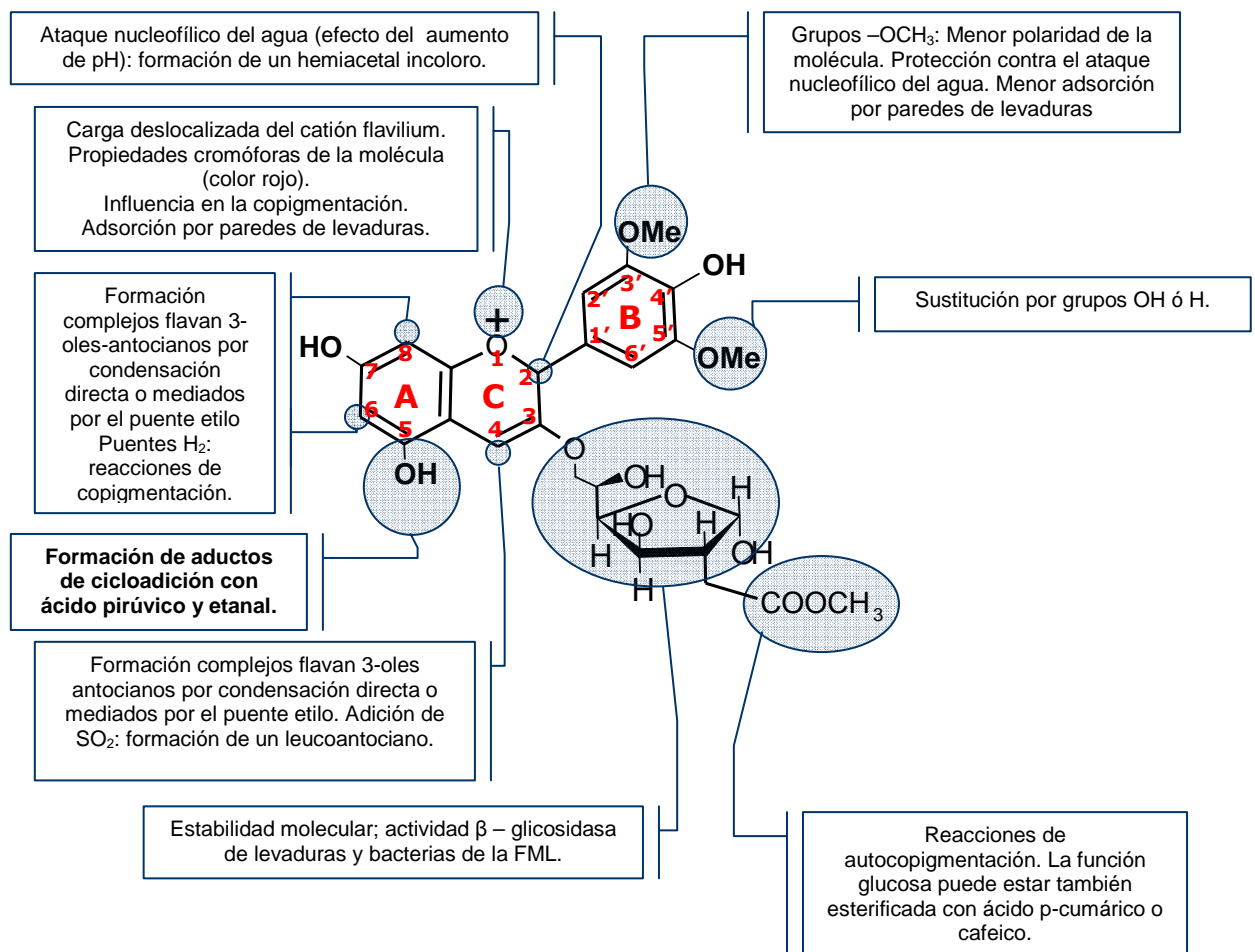


Fig. N°2: Influencia estructural de la malvidina 3-O-(6-O-p-acetil)-glucósido en la evolución y estabilidad potencial del color del vino. 2006.

En función del pH, los antocianos se presentan bajo 4 formas en equilibrio. En el rango de pH del vino, las dos formas predominantes son la base carbinol o hemiacetal incoloro (75-80 %), y la forma flavilium (20-25 %), de color rojo. Las formas restantes corresponden a bases quinoidales que solo predominan a valores de pH mayores (85).



2. Reacciones de añejamiento

Previo a la estiba en botella, algunos vinos tintos pasan por un período de añejamiento, usualmente en barricas de roble. Durante este período, numerosas reacciones de polimerización, tanto oxidativas como no oxidativas, tienen lugar entre antocianos y otros fenoles, principalmente flavanoles (o dicho de manera general, taninos) (58,105). Se asiste a una disminución en la absorbancia a 520 nm, en el rango de los rojos, y a un paralelo aumento de la correspondiente a 420 nm, en el rango de los naranjas y pardos (104,120) (Fig. N°3). En un vino tinto joven, la casi totalidad del color está dada por antocianos monoméricos, pero luego de un año, al menos el 50 % del color percibido puede ser debido a pigmentos antociánicos de tipo poliméricos. Comparados con los antocianos monoméricos, estos pigmentos son menos afectados por el pH, la temperatura y el SO₂, por lo que otorgan estabilidad al color del vino (85,105). La inclusión de los antocianos en estos polímeros, ayuda a la molécula a permanecer en solución, y la torna mucho menos reactiva. Con el transcurso del tiempo, la polimerización progresa, estos agregados aumentan en tamaño y eventualmente se vuelven insolubles y precipitan, con la consecuente disminución de la intensidad de color del vino (97).

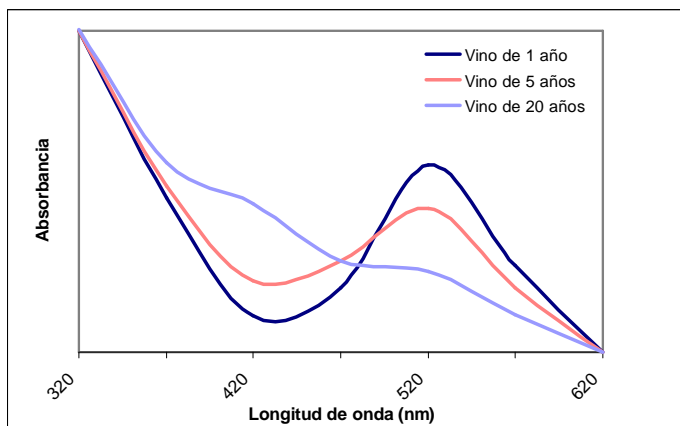


Fig. N°3: Evolución a lo largo del tiempo del espectro de absorción completo de un vino tinto. Adaptado de Zamora, F. 2003.

Se ha demostrado que los cambios más rápidos en la composición colorante del vino ocurren durante el primer año luego de la fermentación (1,67,77,90,105). Esta fase es muy diferente de la posterior estiba en botella, cuando el vino ya está protegido del contacto con el aire. Las reacciones de condensación entre antocianos y flavanoles se pueden agrupar en dos grandes grupos: aquellas en las que no interviene el acetaldehído, de naturaleza anaeróbica, y aquellas en las cuales es necesaria su presencia, de naturaleza esencialmente oxidativa.

2.1. Condensación entre antocianos y flavanoles

3.1.1. Condensación directa

a) **Adiciones Antociano-Tanino (A⁺-T):** consiste en una adición en la cual la forma flavilium del antociano actúa como electrófilo (con carga positiva) y se une a un flavanol que actúa como nucleófilo (105). Inicialmente se forma una unión Antociano-Tanino (A-T) incolora (83), pero una posterior oxidación de la molécula dará lugar a la forma flavilium combinada (A⁺-T), que posee color rojo. Esta reacción es por el momento una hipótesis ya que si bien existen ciertas evidencias que parecen demostrar su ocurrencia (16,83), aún no se ha identificado la estructura química de los productos de su reacción. Este mecanismo podría explicar porqué en el caso de maceraciones prolongadas se asiste a una disminución del color total, el cual se recupera en parte luego del descube, con los trasiegos subsiguientes y durante el período de crianza, debido a la intervención del oxígeno (46,85).



b) **Adiciones Tanino-Antociano (T-A⁺)**: estas reacciones se fundamentan en la capacidad de las procianidinas (T-T), de formar un carbocatión a partir de la ruptura de la unión interflavánica en medio ácido (51,85). Este actuaría como electrófilo atacando las posiciones 6 ú 8 del antociano, que en forma de base carbinol, actuaría como nucleófilo (36,45). En esta reacción, los monómeros, es decir las catequinas, no reaccionan, ya que no pueden dar lugar al carbocatión. El producto resultante, al contener al antociano en su forma carbinol, es inicialmente incoloro; no obstante, en función del pH del medio, se establecerá un equilibrio con las otras formas coloreadas (25,44). En soluciones modelo, los dímeros (T-A⁺) muestran capacidad de copigmentación (92), y a diferencia de las condensaciones A⁺-T, su ocurrencia ha sido demostrada en vinos (82). Este tipo de reacción no requiere la presencia de oxígeno y por lo tanto puede tener lugar tanto en el tanque como en la botella.

La cinética de formación de los productos de condensación entre antocianos y flavanoles no está aún bien establecida, presentan tonalidades incoloras o ligeramente rojizas, similares a la de la malvidina 3-glucósido (92). Parecen ser sensibles a la degradación oxidativa por efecto de la temperatura (32), degradación que progresa más rápidamente a valores más bajos de pH (25,32).

3.1.2. Condensación mediada por el puente etilo

El etanal o acetaldehído es un compuesto natural del vino: su origen es tanto microbiano (fase prefermentativa y especialmente como producto intermediario de la fermentación alcohólica), como oxidativo (a partir del etanol a través de la oxidación acoplada de los *o*-dihidroxifenoles) (115). La aplicación de la microoxigenación ha probado favorecer la producción de acetaldehído (7) y por tanto las reacciones en las cuales interviene (7,36,60). Los elagitaninos procedentes de la barrica de roble (o de chips de roble), actúan facilitando la hidropoxidación del etanol y también favorecen la producción de acetaldehído (112).

La reacción entre antocianos y taninos mediada por el acetaldehído fue propuesta por primera vez en 1976 por *Timberlake y Bridle* (109). En los últimos años también se ha demostrado la presencia de dímeros T-T e incluso de dímeros A-A de malvidina 3-glucósido mediados por acetaldehído (6).

La cinética de formación de estos compuestos parece ser relativamente rápida y presentan una λ máxima de absorción en el rango de los 540 nm lo que le otorga a la molécula tonalidades rojo-azuladas o violáceas (5,9,32,38,109,111). Esta coloración ha sido atribuida por algunos autores como resultado de un fenómeno de copigmentación intermolecular (31).

Si bien la contribución en el color de los vinos tintos añejos parece ser discutida, las combinaciones antociano-flavanol tornan menos hidrofóbicos a los taninos (119), y ejercen un efecto favorable en la evolución de la astringencia del vino, al disminuir gradualmente la misma (32,51,82,85,112).

De manera general, las reacciones de condensación entre antocianos y flavanoles parecen verse favorecidas en condiciones de pH bajo (entre 3,30 y 3,50), por:

- Mayor proporción de antocianos en su forma flavilium (roja) (44).
- Mantenimiento de un mayor y más regular potencial redox durante el añejamiento (necesario para producir oxígeno activado).
- Mayor protección de los antocianos al favorecerse el fenómeno de copigmentación (4,17,20,35).
- El carbocatión interviniente en las reacciones tipo T-A se forma solo en medio ácido (52,85).



- La formación del cation acetaldehído activado, necesario para el establecimiento del puente etilo, se ve facilitada en condiciones de pH ácido (38,42).

Sin embargo, últimamente se ha puesto en duda la contribución real de este tipo de pigmentos en el color de los vinos tintos añejos (32,95). Tales suposiciones se basan en tres puntos: 1) las condensaciones flavanol-antociano directas o mediadas por acetaldehído, dan lugar a oligómeros grandes y con tendencia a continuar polimerizándose para luego precipitar finalmente luego de un tiempo (32,33,118), 2) son sólo parcialmente resistentes a la decoloración por el SO₂ y poco resistentes al aumento del pH (5,32,92), y 3) presentan tonalidades rojo-azuladas (λ máx.: 540 nm), las que obviamente están ausentes en vinos de más de 6 años. No obstante lo anterior, se verá más adelante que parte de este tipo de compuestos podrían jugar un rol como precursores de otros pigmentos más estables.

2.2. Formación de aductos por cicloadición. Piranoantocianos

Los piranoantocianos son aductos de colores rojo anaranjado, resultantes de reacciones de condensación sobre los antocianos, los que se modifican para dar lugar a oligómeros estables a partir de sustituciones en la posición C-4. No están presentes en la uva, sino que se forman en el curso de la fermentación alcohólica y en las etapas subsiguientes de elaboración (8,90). Su concentración en el vino es mucho menor que la de otros pigmentos, pero dado que son poco sensibles al pH, la práctica totalidad de estos aductos participan en el color del mismo (120). Su contribución real al color del vino podría ser mayor que la resultante de la comparación directa de su concentración, por lo cual, el favorecimiento de su síntesis, puede resultar de gran interés tecnológico (8,57,66,80,90). Su nombre deriva de la inclusión en la molécula original, de un cuarto anillo pirano. Todos estos aductos presentan un comportamiento espectral similar, con rangos máximos de absorción que oscilan entre 495 y 520 nm, es decir, menor que el correspondiente a los antocianos (efecto hipsocrómico) (1,3,5,74,102). También presentan un pico de absorción en la región de 420 nm, lo que explica porqué estas moléculas presentan tonalidades anaranjadas (8,40). La inclusión del C-4 del antociano en el anillo pirano, provoca un impedimento esteárico y torna más estable a la molécula frente a la decoloración por efecto del SO₂ (5,12,96,111), el aumento del pH (5,38,88,101), la degradación oxidativa (8), e incluso la temperatura (96). La deslocalización electrónica generada en el cromóforo por la inclusión del anillo pirano, altera las propiedades eléctricas (5), al disminuir la polaridad de los aductos resultantes (111). En un estudio con vinos *Tempranillo* en el cual se practicaron adiciones de SO₂ en iguales dosis pero en distintos momentos de la elaboración del mismo vino (desde 2 semanas hasta 66 semanas luego de molienda), se comprobó que estas adiciones producían un efecto detrimental cada vez menor en el color total, lo que indicaría una preponderancia creciente, conforme progresa la vida del vino, de cierto tipo de pigmentos resistentes a la decoloración por efecto del SO₂ (80).

Además de ser estructuralmente más estables que los antocianos, los piranoantocianos son poco adsorbidos por las paredes celulares de la levadura debido a que se forman en la mitad/final de la FA, cuando las paredes se encuentran ya saturadas por antocianos.

2.2.1. Vitisinas

La **vitisina A** (Fig. N°3), se forma por cicloadición de una molécula de ácido pirúvico sobre una molécula de antociano, y fue uno de los primeros pigmentos de tipo oligomérico identificado en el vino (8,10,57,116). Se ha demostrado también su presencia en vinos Oporto, en donde parece formarse en mayor proporción



que en vinos tintos elaborados tradicionalmente (10,90). La vitisina A se forma rápidamente y es uno de los piranoantocianos que se detecta precozmente en vinos jóvenes luego de la fermentación alcohólica (84). Antocianos acilados y no acilados parecen presentar igual reactividad frente al ácido pirúvico (88), aunque vitisinas formadas a partir de antocianos acilados parecen mostrar menor estabilidad en el vino (90). No obstante, considerando que la malvidina 3-glucósido es el antociano predominante, las vitisinas formadas a partir de la misma son las más abundantes (71). En soluciones modelo de vino, la formación de la vitisina A ocurre más rápidamente en condiciones de pH comprendidos entre 2,7 y 3, en tanto que a pH's mayores o menores que dicho rango se forman menores concentraciones (88); al parecer, en estas condiciones es máxima la concentración de ácido pirúvico disociado. Con respecto a la temperatura, la máxima tasa de producción se alcanza en el rango comprendido entre 10 y 15°C, mientras que temperaturas mayores (32°C) favorecen la formación de pigmentos poliméricos (88). Presenta un límite de detección visual muy bajo (0,034 mg.L⁻¹), en comparación con el de la malvidina 3-glucósido (0,138 mg.L⁻¹), o el de los pigmentos poliméricos (0,939 mg.L⁻¹) (102). Muestra además una muy baja tasa de degradación (11,61), y una alta estabilidad (90), habiéndose determinado que más de la mitad de su contenido hipotético inicial (55%), permanece aún presente en vinos de 15 años (102). Esto se explica en parte por la ya mencionada alta estabilidad de la molécula frente al ataque nucleofílico, como al hecho de que la misma es uno de los pocos pigmentos que se puede generar constantemente a lo largo de toda la vida del vino, siempre y cuando existan en el medio antocianos monoméricos y ácido pirúvico disponibles (74).

Se ha demostrado igualmente que el ácido pirúvico ejerce un cierto efecto protector sobre los antocianos (malvidina 3-glucósido), frente a valores crecientes de pH (88).

La **vitisina B** (Fig. N°3), se forma por cicloadición de una molécula de acetaldehído sobre una molécula de antociano. El acetaldehído reacciona preferentemente con los antocianos acetilados (1), y en menor medida con los cumarilados.

Dentro de esta familia de compuestos, las vitisinas se caracterizan por un comienzo de formación relativamente precoz, a diferencia de otros piranoantocianos. Así, durante la FA, e independientemente de la cepa de levadura, la vitisina A se forma más rápidamente que la B, con picos de producción durante los 2-3 primeros días de fermentación, en el período comprendido entre 20-85 % de la utilización total de la glucosa (57). Esto es consistente con las concentraciones de ácido pirúvico excretadas por las levaduras en el inicio de la FA, cuando el medio es aún rico en nutrientes. La máxima concentración de ácido pirúvico se alcanza cuando se ha fermentado aproximadamente el 50 % del azúcar total (114), siendo en este momento también máxima la tasa de formación de la vitisina A. Hacia el final de la FA, cuando el medio se empobrece nutricionalmente, la levadura comienza a reutilizar parte del piruvato excretado y por lo tanto cae la tasa de formación de vitisina A (72). El contenido de ácido pirúvico en mostos depende también de la concentración de vitamina B₁ (tiamina), de la materia prima; una leve deficiencia de la misma provoca una fuerte acumulación de ácido pirúvico (118).

La vitisina B comienza a sintetizarse hacia el final de la FA (72). La producción de acetaldehído es proporcional a la cantidad de azúcar fermentado, que es mayor hacia el fin de la FA. Además, en éste momento, la influencia del SO₂ como factor secuestrante del acetaldehído es menor.

La formación de ambas vitisinas parece seguir una cinética antagónica, ya que el acetaldehído podría competir con el ácido pirúvico por la molécula de antociano (89).

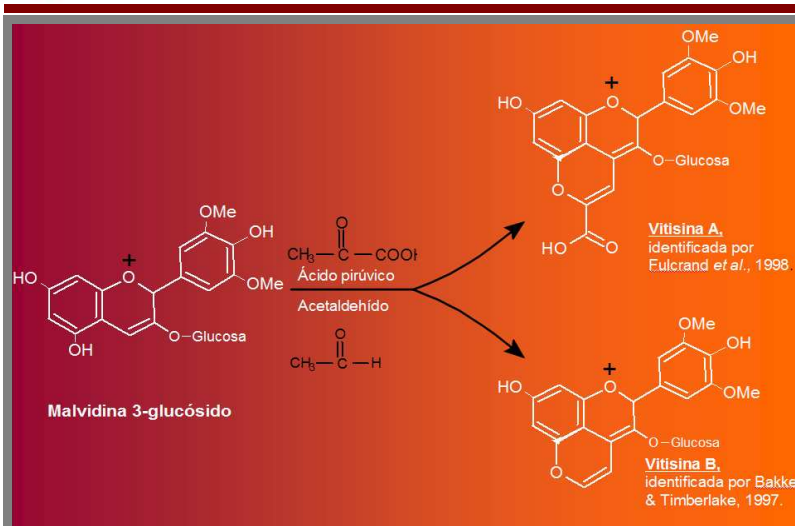


Fig. Nº4: Formación y estructura de las vitisinas A y B a partir de malvidina 3-glucósido, ácido pirúvico y etanal. La coloración de fondo de la imagen indica el cambio de color desde el típico de la malvidina hacia el correspondiente de las vitisinas A y B.

Los antocianos pueden reaccionar además con unidades flavanol-etilo (o vinilflavanol), procedentes de la despolimerización de polímeros de flavanoles (uniones entre flavanoles mediadas por el acetaldehído), o de la hidrólisis de condensaciones flavanol-etil-antociano. También pueden hacerlo con los vinilfenoles, procedentes de la descarboxilación de los ácidos hidroxycinnámicos. En el caso de los últimos, la formación de estos restos vinil podría producirse por vía enzimática (39), o bien química (99), lo que explicaría porqué la formación de este tipo de piranoantocianos se produciría luego de varios años de estiba en botella (80). Los aductos resultantes se presentan en la Figura Nº5.

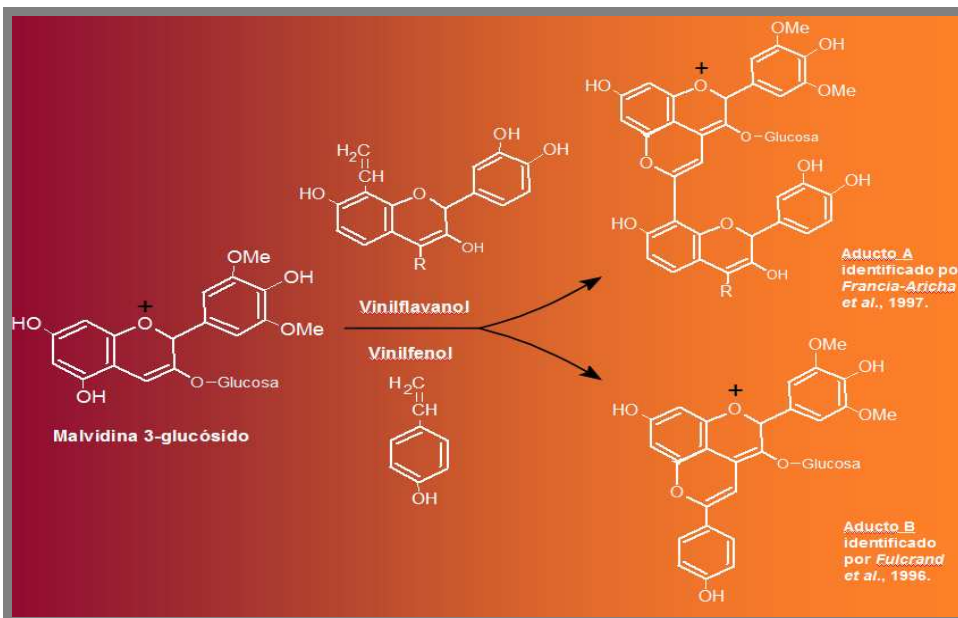


Fig. Nº5: Formación y estructura de los aductos A y B a partir de malvidina 3-glucósido, vinilfenol y vinilflavanol, respectivamente. La coloración de fondo de la imagen indica el cambio de color desde el típico de la malvidina hacia el correspondiente de los aductos A y B.



A partir de los derivados acetilados y *p*-cumarilados de la malvidina, se forman la acetil y *p*-cumaroil vitisina A (con ácido pirúvico), y la acetil y *p*-cumaroil vitisina B (con acetaldehído); lo mismo se cumple para los aductos formados a partir de los vinilfenoles (71).

Además de ácido pirúvico y acetaldehído, otras moléculas han sido identificadas como capaces de formar piranoantocianos: ácido α -cetoglutárico (40,62), ácido glioxílico (34,41), e incluso acetoina, acetona (15) y diacetilo (23). Este último, en combinación con los antocianos, da origen a los castavinoles, moléculas susceptibles de intervenir como reserva de materia colorante (85).

Es probable que otras moléculas con función aldehídica, como el benzaldehído o el formaldehído puedan participar también en estas reacciones, como ha sido demostrado en vinos Oporto adicionados de aguardientes vnicas (22,25).

2.2.2. Pinotinas

Se ha demostrado que los ácidos hidroxicinámicos por sí mismos (*p*-cumárico, cafeico, ferúlico o sinápico), o sus productos de descarboxilación (4-vinilfenoles), pueden reaccionar covalentemente con los antocianos, dando lugar a pigmentos de tipo piranoantociánico recientemente nombrados como Pinotinas (98,99). En las primeras investigaciones, se sugirió que la formación de aductos antocianos-vinilfenoles se producía por reacción directa de la malvidina 3-glucósido con los vinilfenoles (4-vinilfenol, 4-vinilcatecol, 4-vinilguaiacol, y 4-vinilsyringol) (39). Estos últimos se formaban vía descarboxilación enzimática por parte de *Saccharomyces cerevisiae*, de los ácidos *p*-cumárico, cafeico, ferúlico y sinápico respectivamente, lo que ocurría exclusivamente durante la fermentación. Posteriormente, en el curso de un estudio del perfil antociánico de vinos *Pinotage*, se observó que la concentración de Pinotina A era 10 veces superior en vinos de 5-6 años comparada con la de vinos jóvenes (menos de 1 año) (98). Esto sugirió que la reacción entre la malvidina 3-glucósido y el 4-vinilcatecol ocurría muy lentamente y requería años de crianza y estiba en botella para completarse (98,100). *Chatonnet et al.* (1993), estudiando la capacidad de diferentes cepas de *Saccharomyces cerevisiae* para descarboxilar el ácido cinámico, determinaron que ciertas moléculas, especialmente catequinas, epicatequinas y procianidinas oligoméricas, inhibían fuertemente la actividad descarboxilasa sobre el ácido *p*-cumárico (24). De ello se concluye que la actividad cinamato-descarboxilasa es muy poco activa durante la fermentación, y la síntesis enzimática de 4-vinilfenoles es poco significativa en relación a la formación de aductos antocianos-vinilfenoles.

Las Pinotinas son potencialmente atractivas como marcadores de añejamiento en los vinos, ya que su concentración aumenta constantemente durante la el almacenamiento, siempre que existan antocianos y ácidos hidroxicinámicos libres (99). Durante la crianza del vino, los últimos se forman constantemente a partir de la hidrólisis lenta de los ésteres tartáricos correspondientes (106).

2.2.3. Portisinas

Los vinos Oporto se elaboran deteniendo la fermentación alcohólica a partir de una fortificación con aguardiente vnic en el momento en que se ha fermentado aproximadamente la mitad del contenido azucarino inicial de la materia prima; se obtiene así un producto final con aproximadamente 19 % (v/v) de etanol (81). En vinos Oporto con un año de añejamiento, la vitisina, acetil-vitisina y *p*-cumaroil-vitisina A, resultaron los pigmentos predominantes, con una concentración 3-4 veces mayor que la correspondiente a los antocianos 3-monoglucósidos (62). *Romero et al.* (2000), analizando 32 vinos Oporto de entre 2 y 6 años de añejamiento, determinan que la vitisina A y compuestos afines son los principales y en algunos casos, los únicos derivados antociánicos presentes en éstos vinos (90). Se ha postulado además que altos contenidos de etanol podrían favorecer la síntesis de nuevos pigmentos (90). Esto demuestra la importancia de tales



pigmentos en la contribución del color en vinos Oporto durante la fase de añejamiento.

A su vez, dos nuevos pigmentos formados a partir de la vitisina A se han identificado en vinos Oporto de 2 años. El primero de ellos, derivado de la reacción de la vitisina A con un resto vinil-flavanol (proveniente del clivaje de condensaciones T-T ó A-T mediadas por acetaldehído), y con una λ máxima de absorción a 575 nm, presenta una coloración azul oscura, y aunque formado en muy pequeñas cantidades, resulta muy estable, por lo que sería susceptible de contribuir al cambio de color de estos vinos durante el añejamiento (63). El segundo, producto de la reacción entre la vitisina A y un resto vinil-fenol (proveniente de la descarboxilación del ácido ρ -cumárico), con una λ máxima de absorción a 535 nm, presenta tonalidades púrpura, alta estabilidad, y podría jugar un rol crucial como precursor a su vez de otros nuevos pigmentos, aún no determinados, durante la evolución del color (64).

2.2.4. Oaklinas

Si bien estos pigmentos son aductos de cicloadición, no son piranoantocianos propiamente dichos, ya que en el paso de ciclación interviene una unidad de catequina y no una molécula de antociano. Se conoce que algunos aldehídos aportados por la madera de roble (principalmente coniferaldehído y sinapaldehído), pueden servir de intermediarios en reacciones envolviendo antocianos y catequinas o incluso reaccionar directamente con unidades de catequinas (34,105). Las oaklinas son pigmentos de color rojo-ladrillo, con una λ máxima de absorción entre 480 y 520 nm; resultan de la reacción en medio ácido entre una unidad de catequina y residuos de coniferaldehído y sinapaldehído. Su formación parece favorecerse en condiciones de bajo pH y temperaturas elevadas (35°C), que permiten la formación de carbocationes a partir de estos dos aldehídos (107). Estos pigmentos primeramente se identificaron en soluciones modelo (28,107), y posteriormente en un vino portugués comercial de 4 años, se aisló el compuesto 11-guaiacil-catequin-pirilium, una de las principales oaklinas, sugiriendo además que pigmentos similares podrían originarse a partir de otros aldehídos (107).

Aun cuando las concentraciones de estos pigmentos son muy bajas en el vino, las oaklinas despliegan un intenso color rojo ladrillo y podrían jugar un papel importante en los cambios cromáticos durante el añejamiento de vinos en contacto con el roble (25).

3. Algunos factores condicionantes del contenido piranoantociánico del vino

Se relevan aquí algunos factores mencionados por la bibliografía como influyentes en el contenido final de este tipo de compuestos en el vino.

3.1. Momento de cosecha

González-San José et al. (2004), estudian en uvas cv. *Tempranillo* y *Cabernet Sauvignon* el efecto de 3 momentos de cosecha: la primera correspondiente a madurez tecnológica (225 g.L⁻¹ de azúcar), y la segunda (240 ± 2 g.L⁻¹) y tercera (242 ± 2 g.L⁻¹), 1 y 2 semanas después de madurez tecnológica, respectivamente. Luego de 18 meses de elaborados, los vinos obtenidos a partir de uvas cosechadas con contenidos azucarinos entre 240 y 242 g.L⁻¹, muestran los mayores contenidos de pigmentos de tipo piranoantociánicos y productos de condensación directa T-A. El retraso de la fecha de cosecha de 1 a 2 semanas con respecto a la madurez tecnológica, da lugar entonces a uvas con una composición más adecuada para la elaboración de vinos tintos de crianza. Si embargo, no se obtuvieron diferencias significativas en cuanto a la composición entre los vinos de la segunda y tercer cosecha. Estos autores concluyen que la



fecha intermedia sería la más adecuada, ya que se evitarían algunos efectos negativos propios del estado de sobremadurez (77).

3.2. Agregado exógeno de precursores

Se ha demostrado que el agregado exógeno a un vino tinto de ácido pirúvico (500 mg.L^{-1}), y acetaldehído (200 mg.L^{-1}), aumenta significativamente la concentración en el vino resultante, de vitisinas A y B respectivamente (74). La adición de ácido pirúvico a vinos Oporto, provoca la formación de altas concentraciones de vitisina A, superiores a 23 mg.L^{-1} (90). La adición de acetaldehído en dosis de 155 ppm a mitad de FA, afecta significativamente el patrón de polimerización de los antocianos en el vino, aunque de manera diferencial respecto del grado de glicosilación de la molécula: en vinos *Cabernet Sauvignon* esta adición aumenta la polimerización de monoglucósidos de malvidina, mientras que en vinos *Noble (Vitis rotundifolia)*, los diglucósidos no son igualmente afectados, probablemente debido al impedimento esteárico de la función glucosa en la posición 5 del antociano (56).

3.3. Cepa de levadura

La presencia de algunos estos aductos depende de la cepa de levadura utilizada en la vinificación y puede o no resultar en una contribución significativa a la preservación del color del vino. *Saccharomyces cerevisiae* produce más del doble de vitisina A y entre 2 y 3 veces más vitisina B que *Saccharomyces uvarum* (71). Estudios en vinos *Tannat* fermentados con 8 cepas de levaduras distintas, determinaron que la contribución al color de derivados antociánicos de tipo malvidina 3-glucósido-vinilcatecol y vinilguaiacol, difería de manera significativa entre algunas de las cepas ensayadas (66). La elección de la cepa de levadura influye entonces en la mantención y/o mejoramiento del color del vino, no solo por la mayor o menor capacidad de fijar antocianos en la pared celular de la misma (73,110), o por su posible actividad β -glicosidasa, sino porque la cantidad final de éstos aductos puede variar según la cepa utilizada en la FA.

3.4. SO_2

Tiene influencia directa sobre la producción de vitisina A regulando la concentración de ácido pirúvico a partir de la formación del complejo de adición pirúvico-bisulfito. Durante la FA y especialmente hacia el final de esta, parte del piruvato excretado por la levadura queda inutilizado por la reutilización del mismo por parte de la célula. Concentraciones de entre $50\text{-}80 \text{ mg.L}^{-1}$ de SO_2 total permiten potencialmente mayores niveles de piruvato secuestrado; en vinos fermentados con distintas concentraciones de SO_2 , la mayor concentración extracelular de pirúvico se da para dosis elevadas de SO_2 . Sin embargo, dosis de más 100 mg.L^{-1} de SO_2 , a pesar de aumentar la concentración de antocianos monoméricos, llevan a una menor formación de pigmentos poliméricos (26,30,53), por lo que salvo casos de materia prima en estado sanitario deficiente o pH superior a 3,8-3,9, deberían ser evitadas.

3.5. O_2

A concentraciones normales de SO_2 , tanto durante la FA como en el añejamiento, se ha postulado que la concentración de oxígeno molecular libre activo es el factor más limitante en la síntesis de vitisina A (57), ya que su tasa de producción parece reducirse significativamente cuando el oxígeno es excluido del medio. Con respecto a la FA, aún en altas concentraciones de oxígeno que inhiben el metabolismo respiratorio del azúcar, *Saccharomyces cerevisiae* puede metabolizar por vía mitocondrial parte del oxígeno, excretando al medio oxígeno



activo (93). *Asenstorfer et al.* (2003), demuestran que las mayores tasas de producción de vitisina A ocurren cuando las concentraciones de oxígeno disuelto medidas en el mosto son bajas, coincidentemente cuando la producción de oxígeno activo por parte de la levadura es alta. Es este oxígeno activo más que el oxígeno molecular el que parece promover la síntesis de vitisina A (57).

Durante la etapa de añejamiento, en el rango de pH normal del vino, el oxígeno activo se forma muy lentamente, y es rápidamente consumido. Las lías presentan tasas de consumo potencial y una afinidad por el oxígeno mucho mayor que los polifenoles (37), y pueden consumir el oxígeno a tasas de 1-4 $\mu\text{mol/hora}$ por cada 10^{10} células, en un período comprendido entre los 2 meses y los 3 años (94). Esto también podría explicar el bajo potencial redox medido en vinos añejados en barricas sobre lías, el cual siempre resulta inferior al de un vino testigo mantenido sin lías (113); los componentes liberados por la autólisis de la levadura, y el consumo de oxígeno por parte de las mismas, podrían disminuir el paso de oxidación necesario para la formación de algunos de estos aductos.

Se ha demostrado que una oxigenación controlada de 5 mL.L^{-1} durante 7 meses aumenta significativamente la concentración de pigmentos de tipo piranoantocianicos en comparación con un vino testigo no oxigenado (7). Estudios llevados a cabo en Chile, aplicando microoxigenación en vinos bajo dos modalidades (T1: $100 \text{ mL.L}^{-1}.\text{mes}^{-1}$ desde el final de FA hasta el comienzo de FML, y desde el término de esta y hasta el cuarto mes de ensayo $12,5 \text{ mL.L}^{-1}.\text{mes}^{-1}$ y T2: $200 \text{ mL.L}^{-1}.\text{mes}^{-1}$ y $25 \text{ mL.L}^{-1}.\text{mes}^{-1}$ en igual período que T1), y comparándolos con un testigo sin tratar, encuentran concentraciones de vitisina A significativamente superiores en el vino T2, aunque no registran diferencias en este aducto entre el testigo y T1 (76).

3.6. Enzimas pectolíticas

Parecen tener un efecto positivo en las concentraciones de vitisina A y B. *Revilla et al.* (2001), prueban dos enzimas pectolíticas de extracción de color, en dos dosis (valores mínimos y máximos recomendados por el fabricante), al momento del encubado en vinos *Tempranillo* (84). Luego de 2 años de estiba en botella, los vinos tratados con la dosis máxima muestran mayores concentraciones de vitisinas y de productos de condensación malvidina 3-glucósido-catequinas (estos últimos, posibles precursores de piranoantocianos). Postulan también un efecto positivo de las enzimas de extracción en el aumento de la copigmentación.

Contrastando con lo anterior, *Bakker et al.* (1999), probando dos enzimas pectolíticas en mostos base para vinos Oporto, encuentran que el porcentaje total de vitisina A no varía entre el control y los vinos enzimados. Concluyen que el uso de estos aditivos solo afecta cuantitativamente el monto total de antocianos, que resulta superior en uno de los vinos enzimados, aunque no el tipo de antociano extraído (13).

3.7. Fermentación maloláctica (FML)

Las bacterias de la FML son capaces de metabolizar el ácido pirúvico, por lo que la ocurrencia de la FML provoca la detención de la síntesis de vitisina A (57).

3.8. "Blends" o cortes

Bartolomé et al. (2005), estudian el efecto de cortes (con 25 y 10 % v/v), de vinos *Graciano* (GRA) y *Cabernet Sauvignon* (CS) sobre el contenido de antocianos, piranoantocianos y compuestos fenólicos de vinos base *Tempranillo* (TEM). Los cortes en ambos porcentajes se comparan con el vino base y se analizan luego de 23 meses de estiba en botella a $13 \text{ }^\circ\text{C}$. En los blends, los antocianos monoméricos y flavanoles muestran una mayor tasa de desaparición que los correspondientes al vino base, la cual resulta independiente de la cv. (GRA o CS) y



de la proporción usada en el blend. Esto es explicado por los autores a partir de una mayor tasa de formación de pigmentos oligo y poliméricos estables en los vinos de corte (105,109). En cuanto a la concentración de vitisina A, esta resulta superior en el corte TEM-CS que en el TEM-GRA, pero a su vez el primero muestra una caída más pronunciada en la concentración hacia el final del período de estiba. La concentración de flavanoles en los 4 blends resulta mayor que la correspondiente al vino base. La relación antociano: flavanol parece influenciar el progreso de ciertas reacciones de condensación, por lo que se concluye que el aumento en la concentración de flavanoles en los cortes, podría explicar las mayores tasas de desaparición de antocianos monoméricos en éstos vinos. En el caso de la cv. *Graciano*, se demuestra científicamente sus propiedades como vino de corte, fundamentando la su participación tradicional en los cortes de vino *Tempranillo* con Denominación de Origen (68,69). Se ha sugerido también que la concentración final de pigmentos piranoantociánicos de vinos monovarietales obtenidos a partir de distintas cvs. está relacionada con la concentración particular de precursores (principalmente antocianos), propios de la cv. (70)

3.9. Sistema de añejamiento

Del Alamo Sanza et al. (2006) estudian la influencia de 3 factores de añejamiento (duración, tipo –barricas o chips- y origen de la madera –francés, americano, húngaro-), sobre el perfil antociánico de vinos *Tempranillo*. Durante los 5 primeros meses encuentran un rápido aumento en la concentración de vitisina A, tanto para los vinos añejados en barricas de roble como para los mantenidos en contacto con chips, en comparación con el vino testigo sin añejamiento. Sin embargo, luego de 15 meses, los vinos en contacto con barricas presentan las mayores concentraciones de vitisina A, en tanto que los mantenidos en contacto con chips presentan valores inferiores incluso al tratamiento testigo (29).

Zamora et al. (2006), realizan una microoxigenación durante 3 meses ($3 \text{ mg.L}^{-1} \cdot \text{mes}^{-1}$) sobre un vino *Cabernet Sauvignon*, seguidos de una estancia en barricas de roble durante 8 meses y comparan los efectos de esta técnica con el mismo vino añejado en barricas durante igual lapso pero sin microoxigenación previa. Al final del periodo de análisis, no encuentran diferencias significativas en las concentraciones de vitisinas A y B, vinilcatequin y vinilfenol-malvidina, pero si en la de los aductos catequin-etil-malvidina, que resultan significativamente superiores en el vino microoxigenado (60).

3.10. Concentraciones finales. Participación en el color

La concentración media máxima de vitisina A en 12 vinos *Cabernet Sauvignon* a los 6 meses de elaborados fue de $5,5 \pm 2,9 \text{ mg.L}^{-1}$ (102). Se ha determinado que en vinos *Tempranillo* a los 15 meses de elaborados, los pigmentos de tipo piranoantociánicos pueden alcanzar el 19 % de la contribución total del color (80). En vinos de la misma variedad pero de 1 año de edad, esta fracción representó el 8 % de la materia seca colorante (111). Contrastando con lo anterior, *Winterhalter et al.* (2003), utilizando el concepto de actividad del color, determinan que el mayor impacto en el color de vinos *Pinotage* de 6 años, corresponde a pigmentos de tipo polimérico (93 %), mientras que la vitisina A solo aporta 5 % del color visible total (102). No obstante, destacan la relevancia química de la vitisina A debido a su alta estabilidad, baja degradación y como posible precursor de pigmentos poliméricos.

Algunos vinos rosados carecen de pigmentos oligoméricos o productos de condensación T-A directos o mediados por acetaldehído, posiblemente debido a la baja concentración de (+) catequina, (-) epicatequina y dímeros de procianidinas encontrados en tales vinos (79). El color de vinos rosados para base champagne elaborados a partir de la cv. *Grenache* se debe principalmente a pigmentos piranoantociánicos, ya que representan entre el 68 y 76 % del contenido total de



pigmentos relevados en éstos vinos; la vitisina A, que constituye el 30,8% del total de pigmentos cuantificados, resulta el piranoantociano más abundante (78).

Cinco piranoantocianos distintos han sido aislados de orujos de uva luego de la fermentación alcohólica (3), demostrando que los hollejos y partes sólidas del racimo pueden fijar estos compuestos.

Finalmente, a diferencia de las condensaciones tanino-antocianos directas o mediadas por acetaldehído, que dan lugar a oligómeros grandes y con tendencia a precipitar, los aductos de cicloadición son moléculas pequeñas, que parecen mostrar muy baja capacidad de polimerizarse (38); ello se explicaría por el bloqueo esteárico del C-4. De esta modo, se mantendrían más fácil en solución durante de la estiba en botella, aumentando su concentración de manera constante (74). Además se pueden incorporar simultáneamente en pigmentos poliméricos (102), por lo que, de manera similar a la copigmentación, los piranoantocianos harían las veces de reservorios de color polimérico.

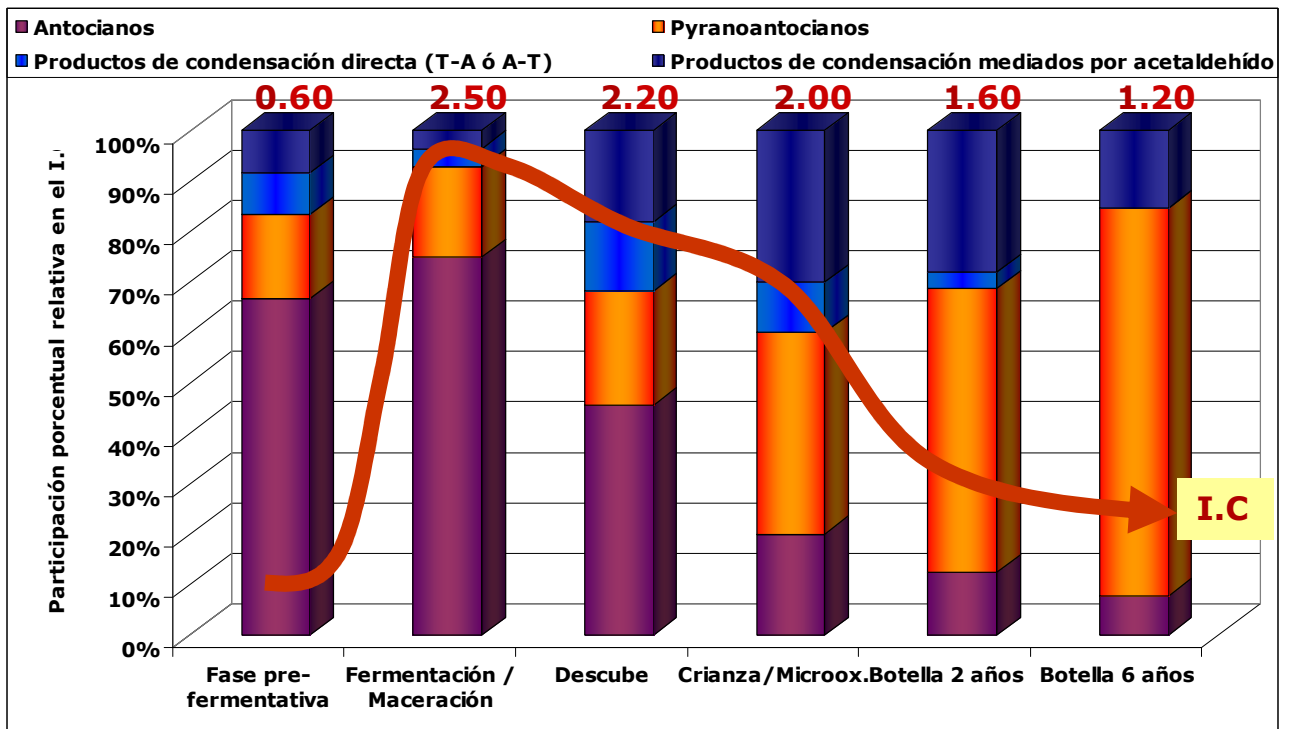


Fig. N°6: Participación hipotética relativa en el I.C. (420+520+620) de las principales familias de pigmentos y cambios observados durante las fases de elaboración y crianza de un vino tinto.

De acuerdo con la simplificación anterior, los pigmentos de tipo piranoantocianicos comenzarían a formarse de manera temprana, durante la fase pre-fermentativa, si bien es la extracción de antocianos monoméricos la que predomina en ésta etapa. Condiciones de acidez elevadas y pH bajo favorecerían en parte la formación de estos pigmentos así como condensaciones T-A (de tonos azulados). Similar efecto cumplirían dosis de SO_2 de entre 50 y 80 mg.L^{-1} . La aplicación de maceraciones pre-fermentativas en frío, principalmente en presencia de CO_2 , favorecen la extracción de malvidina 3-glucósido (2,48,53,75), principal antociano involucrado en estas reacciones de cicloadición. Además estimularían la ocurrencia de la copigmentación, al ser el medio eminentemente acuoso (20). La aplicación de dicha práctica podría favorecer la formación de aductos de cicloadición, al menos de manera indirecta.

Durante la maceración y el descube la participación porcentual de los piranoantocianos al color permanece estable; ya en la etapa de crianza en barricas o microoxigenación, el aumento de la concentración de acetaldehído, formado a partir de la oxidación del etanol, parece aumentar su participación, si



bien son los productos de condensación tanino-antociano mediados por el acetaldehído los que predominan en ésta etapa. En la etapa de estiba en botella tanto a los 2 como a los 6 años, se puede ver que son justamente estos pigmentos los responsables de gran parte del color observable del vino. Esto se explica en parte por 1) la gran estabilidad de estos compuestos principalmente frente al aumento del pH 2) la práctica total desaparición de antocianos de tipo monoméricos y 3) la desaparición de productos de condensación directa y la menor participación de los productos de condensación mediados por el acetaldehído. Aparentemente, los productos de condensación, sean mediados por acetaldehído o bien combinaciones directa T-A/A-T, terminarían por precipitar completamente con el tiempo, luego de 6-8 años. Sin embargo, como ya se ha aclarado, la hidrólisis de ciertas condensaciones flavanol-etil-antociano, podría en parte dar origen a restos vinilflavanol, precursores de piranoantocianos (7), lo que ayudaría también a explicar la mayor preponderancia de estos pigmentos en vinos añejos.

4. Consideraciones finales

De lo anterior se puede concluir que si el objetivo es elaborar un vino con un potencial de guarda considerable, luego de 6-8 años serían estos pigmentos los responsables del impacto visual del producto. Como se ha sugerido, la formación de los mismos es al parecer en parte manejable. Durante la FA, es necesario favorecer la actividad levaduriana con un buen plan de nutrición, ya que la levadura metaboliza el O_2 disponible en O_2 activo, que interviene en el paso de ciclación de la molécula. Un apropiado manejo del sombrero (especialmente delestâges), y la presencia en el mosto/vino de agentes que promuevan la producción de O_2 activo, como el empleo de elagitaninos (112), pueden complementar lo anterior. Sería de suma influencia positiva para la estabilización futura de la materia colorante, lograr altas producciones de vitisinas A y B durante la FA y no dejar limitada su formación únicamente a la crianza y botella. En uvas sanas y en condiciones de pH normales, el empleo de dosis de 50-80 mg.L⁻¹ de SO_2 total permitirían mayores niveles de ácido pirúvico durante la FA, manteniéndolo disponible para la producción de vitisina A (57).

El favorecimiento de las reacciones de copigmentación y autocopigmentación, entendidas estas como un "pool de protección" de los antocianos frente al aumento del pH, permiten disponer de una mayor concentración de antocianos monoméricos (principalmente malvidina 3-glucósido y sus derivados acilados), necesarios para las reacciones de polimerización (17,19). Las correcciones tempranas de acidez podrían en parte favorecer su síntesis así como la de ciertas condensaciones flavanol-etil-antociano, las que pueden posteriormente hidrolizarse en restos vinilflavanol, precursores de algunos de éstos compuestos. La composición química original de la materia prima (fundamentalmente acidez, pH, cationes y potencial polifenólico: podría el *terroir* afectar el añejamiento?), la etapa pre-fermentativa, la elección de la cepa de levadura, dosis de SO_2 y condiciones de temperatura y disponibilidad de O_2 bajo las cuales se gestione la crianza, determinarán el contenido total de estos pigmentos en el vino terminado.

Abreviaturas usadas en el texto:

cv. ó cvs.: cultivar o cultivares.

FA: Fermentación alcohólica.

FML: Fermentación Maloláctica.

λ: Longitud de onda.

T: Tanino.

A: Antociano.



NDLR: Si desea contactarse con alguno de sus autores comuníquese por favor con enologia@revistaenologia.com

BIBLIOGRAFÍA

1. **Alcalde-Eón, C., Escribano-Bailón, M., Santos-Buelga, C., Rivas-Gonzalo, J. (2005).** Changes in the detailed pigment composition of red wine during maturity and ageing. A comprehensive study. *Anal. Chim. Acta.* In Press.
2. **Álvarez, I., Aleixandre, J., García, M., Lizama, V. (2005).** Impact of prefermentative maceration on the phenolic and volatile compounds in Monastrell red wines. *Anal. Chim. Acta.* In Press.
3. **Amico, V., Napoli, E., Renda, A., Ruberto, G., Spatafora, C., Tringali, C. (2004).** Constituents of grape pomace from the Sicilian cultivar "Nerello Mascalese". *Food Chem.* 88: 599-607.
4. **Asen, S., Stewart, R., Norris, K. (1972).** Copigmentation of anthocyanins in plant tissues and its effects on color. *Phytochem.* 11: 1139-1144.
5. **Asenstorfer, R., Lee, D., Jones, G. (2006).** Influence of structure on the ionisation constant of anthocyanins and anthocyanin-like wine pigments. *Anal. Chim. Acta.* 563: 10-14.
6. **Atanasova, V., Fulcrand, H., Le Guernevé, C., Cheynier, V., Moutounet, M. (2002).** Structure of a new dimeric acetaldehyde malvidina 3-glucoside condensation product. *Tetrah. Letters.* 43: 6151-6153.
7. **Atanasova, V., Fulcrand, H., Cheynier, V., Moutounet, M. (2002).** Effect of oxygenation on polyphenol changes occurring in the course of wine-making. *Anal. Chim. Acta.* 458: 15-27.
8. **Bakker, J., Bridle, P., Honda, P., Kuwano, H., Saito, N., Terehara, N., Timberlake, C. (1997).** Isolation and identification of a new anthocyanin occurring in some red wines. *Phytochem.* 44: 1375-1382.
9. **Bakker, J., Picinelli, A., Bridle, P. (1993).** Model wine solution: colour and composition changes during aging. *Vitis.* 32: 111-118.
10. **Bakker, J. (1985).** Studies on the colors and pigments of port-wines. Ph. D. Dissertation, The University of Bristol.
11. **Bakker, J., Bridle, P., Bellworthy, S., García-Viguera, C., Reader, H., Watkins, S. (1998).** Effect of sulfur dioxide and must extraction on color, phenolic composition and sensory quality of red table wine. *J. Sci. Food Agric.* 78: 297-307.
12. **Bakker, J., Timberlake, C. (1997).** Isolation, identification, and characterization of new color-stable anthocyanins occurring in some red wines. *J. Agric. Food Chem.* 45: 35-43.
13. **Bakker, J., Bellworthy, S., Reader, H., Watkins, S. (1999).** Effect of enzymes during vinification on color and sensory properties of port wines. *Am. J. Enol. Vitic.* 50: 271 - 276.
14. **Baldi, A., Romani, A., Mulinacci, N., Vincieri, F., Casseta, B. (1995).** HPLC/MS application to anthocyanins of *Vitis vinifera*. *J. Agric. Food Chem.* 43: 2104-2109.
15. **Benabdeljalil, C., Cheynier, V., Fulcrand, H., Hakiki, A., Mosaddak, M., Moutounet, M. (2000).** Mise en évidence de nouveaux pigments formés par réaction des anthocyanes avec des métabolites de levure. *Sci. Des Alim.* 20: 203-220.
16. **Bishop, P., Nagel, C. (1984).** Characterization of the condensation product of malvidin 3,5 diglucoside and catechin. *J. Agric. Food Chem.* 32: 1022-1026.
17. **Boulton, R. (2001).** The copigmentation of anthocyanins and its role in the color of red wine: a critical review. *Am. J. Enol. Vitic.* 52: 67-87.



18. **Brouillard, R., Chassaing, A., Fourgerousse, A. (2003).** Why are grape/fresh wine anthocyanins so simple and why is it that red color wine last so long? *Phytochem.* 64: 1179-1186
19. **Brouillard, R., Dangles, O. (1994).** Anthocyanin molecular interactions: The first step in the formation of new pigments during wine ageing? *Food Chem.* 51: 365-371.
20. **Brouillard, R., Mazza, G., Saad, Z., Albrecht-Gary, A., Cheminat, A. (1989).** The copigmentation reaction of anthocyanins: a microprobe for structural study of aqueous solutions. *J. Am. Chem. Soc.* 111: 2604-2610.
21. **Cacho, J., Fernández, P., Ferreira, V. Castells, J.(1992).** Evolution of five anthocyanidin-3-glucosides in the skin of the Tempranillo, Moristel, and Garnacha grape varieties and influence of climatological variables. *Am. J. Enol. Vitic.* 43: 244 - 248.
22. **Cardoso, C., Da Silva, R., Laureano, O. (1997).** Influência do teor em compostos voláteis da aguardente na cor do Vinho do Porto. *Actas do 3º Encontro de Química dos Alimentos (Alimentação Mediterrânica)*, 92-94, Faro.
23. **Castagnino, C., Vercauteren, J. (1996).** Castavinol, a new series of polyphenols from Bordeaux red wines. *Tetrah. Letters.* 37:7739-7742.
24. **Chatonnet, P., Dubourdiou, D., Boidron, J., Lavigne, V. (1993).** Synthesis of volatile phenols by *Saccharomyces cerevisiae* in wines. *J. Sci. Food Agric.* 62: 191-202.
25. **Curso de Actualización sobre compuestos fenólicos y color de los vinos tintos (2005).** INTA - Centro de Estudios de Enología. Mendoza, 23 de junio. Argentina.
26. **Dallas, C., Laureano, O. (1994a).** Effect of SO₂ on the extraction of individual anthocyanins and colour of wines prepared with three Portuguese grape varieties. *Vitis.* 33: 41-47.
27. **Darias-Martín, J., Boulton, R., Carrillo, M., Díaz, E. (2001).** Enhancement of red wine colour by pre-fermentation addition of copigments. *Food Chem.* 73: 217-220.
28. **De Freitas, V., Sousa, C., Silva, A., Santos-Buelga, C., Mateus, N. (2004).** Synthesis of a new catechin-pyrylium derived pigment. *Tetrah. Letters.* 45: 9349-9352.
29. **Del Alamo Sanza, M., Nevares Domínguez, I. (2006).** Wine aging in bottle from artificial systems (staves and chips) and oak woods. Anthocyanin composition. *Anal. Chim. Acta.* 563: 255-263.
30. **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.
31. **Escribano-Bailón, M., Dangles, O., Brouillard, R. (1996).** Coupling reactions between flavilium ions and catechin. *Phytochem.* 41: 1583-1592.
32. **Escribano-Bailón, M.T., Álvarez-García, M., Rivas-Gonzalo, J., Heredia, F., Santos-Buelga, C. (2001).** Colour and stability of pigments derived from the acetaldehyde-mediated condensation between malvidin 3-o-glucoside and (+)-catechin. *J. Agric. Food Chem.* 49: 1213-1217.
33. **Es-Safi, N., Fulcrand, H., Cheynier, V., Moutounet, M. (1999).** Studies on the acetaldehyde-induced condensation of (-) epicatechin and malvidin 3-o-glucoside in a model solution system. *J. Agric. Food Chem.* 47: 2096-2102.
34. **Es-Safi, N., Le Guernevé, C., Labarbe, B., Fulcrand, H., Cheynier, V., Moutounet, M. (1999).** Structure of a new xanthylum salt derivative. *Tetrah. Letters.* 40: 5869-5872.
35. **Fernández, J., Santamaría, C., Sparza, I. (2005).** Chromatic characterization of three consecutive vintages of *Vitis vinifera* red wine. Effect of dilution and iron addition. *Anal. Chim. Acta.* In press.
36. **Flanzy, C. (1999).** Enología: Fundamentos científicos y tecnológicos. Ed. Mundi-Prensa. Madrid. 2000.
37. **Fornairon-Bonnefond, C., Salmon, J.M. (2003).** Impact of oxygen consumption by yeast lees on the autolysis phenomenon during simulation of wine aging on lees. *J. Agric. Food Chem.* 51: 2584-2590.



38. Francia-Aricha, E., Guerra, M., Rivas-Gonzalo, J., Santos-Buelga, C. (1997). New anthocyanin pigments formed after condensation with flavanols. *J. Agric. Food Chem.* 45: 2262-2266.
39. Fulcrand, H., Cameira dos Santos, P., Sarni-Manchado, P., Cheynier, V., Favre-Bonvin, J. (1996). Structure of a new anthocyanin-derived wine pigments. *J. Chem. Soc., Perkin Trans*, 735-739.
40. Fulcrand, H., Benabdeljalil, C., Rigaud, J., Cheynier, V., Moutounet, M. (1998). A new class of wine pigments generated by reaction between pyruvic acid and grape anthocyanins. *Phytochem.* 47:1401-1407.
41. Fulcrand, H., Cheynier, V., Oszmiansky, J., Moutounet, M. (1997). An oxidized tartaric acid residue as a new bridge potentially competing with acetaldehyde in flavan-3-ol condensation. *Phytochem.* 46: 223-227.
42. García-Viguera, C., Bridle, P., Bakker, J. (1994). The effect of pH on the formation of coloured compounds in model solutions containing anthocyanins, catechin and acetaldehyde. *Vitis.* 33: 37-40.
43. George, F., Figueredo, P., Toki, K., Tatsuzawa, F., Saito, N., Brouillard, R. (2001). Influence of *trans-cis* isomerisation of coumaric acid substituents on colour variance and stabilization in anthocyanins. *Phytochem.* 57: 791-795.
44. Glories, Y. (1984). La couleur des vins rouges. Première partie : Les équilibres des anthocyanes et des tanins. *Conn. Vigne Vin.* 18: 195-217.
45. Glories, Y. (1984). La couleur des vins rouges. Deuxième partie : Mesure, origine et interprétation. *Conn. Vigne Vin.* 18: 253-271.
46. Glories, Y. (1999). Substances responsables de l'astringence, de l'amertume et de la couleur des vins. *Journal Int. des Sciences de la Vigne et du Vin.* N° hors série. La dégustation. 115-118.
47. Gómez-Cordovés, C., Bartolomé, B., Monagas, M., Suárez, R., Núñez, V., Morata, A., Suárez, J. (2003). Respuesta del color a variaciones puntuales durante el proceso vitivinícola en los vinos tintos. *Actas X Congreso Brasileiro de Viticultura e Enología.* 19-41.
48. Gómez-Míguez, M., González-Miret, M., Heredia, F. (2006). Evolution of colour and anthocyanin composition of Syrah wines elaborated with pre-fermentative cold maceration. *J. Food Eng.* In Press.
49. González, E., Fourgerousse, A., Brouillard, R. (2001). Two diacylated malvidin glycosides from *Petunia hybrida* flowers. *Phytochem.* 58: 1257-1262.
50. Guidoni, S., Allara, P., Schubert, A. (2002). Effect of cluster thinning on berry skin anthocyanin composition of *Vitis vinifera* cv. Nebbiolo. *Am. J. Enol. Vitic.* 53: 224 - 226.
51. Haslam, E. (1980). Oligomeric procyanidins and the ageing of red wines. *Phytochem.* 19: 2577-2582.
52. Haslam, E. (1977). Symmetry and promiscuity in procyanidin biochemistry. *Phytochem.* 16: 1625-1670.
53. Heatherbell, D., Dicey, M., Goldsworthy, S., Vanhanen, L. (1997). Effect of pre-fermentation cold maceration on the composition, colour and flavor of Pinot noir wine. *Proceedings of the Fourth International Symposium on Cool Climate Viticulture and Enology*, New York. Cornell University Press.
54. Hoshino, T., Matsumoto, U., Goto, T. (1980). The stabilizing effect of the acyl group on the copigmentation of acylated anthocyanins with c-glucosylflavones. *Phytochem.* 19: 663.
55. Jackson, M., Timberlake, C., Bridle, P., Vallis, L. (1978). Red wine quality: Correlations between colour, aroma and flavor and pigment and other parameters of young Beaujolais wines. *J. Sci. Food Agric.* 29: 715-727.
56. Johnston, T., Morris, J. (1996). HPLC Analysis of *Vitis vinifera* cv. Cabernet Sauvignon and *Vitis rotundifolia* cv. Noble wines pigment liquid chromatographic fractions. *Proceedings of the Fourth International Symposium on Cool Climate Viticulture and Enology.* VII: 47-50. New York. Cornell University Press.
57. Jones, G., Iland, P., Markides, A., Asenstorfer, R. (2003). Formation of vitisin A during fermentation and maturation. *A. J. Gr. Wine Res.* 9 (40-46).



58. **Jurd, L. (1969).** Review of polyphenol condensation reactions and their possible occurrence in the aging of wines. *Am. J. Enol. Vitic.* 20: 191 – 195.
59. **Keller, M., Hrazdina, G. (1998).** Interaction of nitrogen availability during bloom and light intensity during veraison. II. Effects on anthocyanin and phenolic development during grape ripening. *Am. J. Enol. Vitic.* 49: 341 – 349.
60. **Llaudy, M.C., Canals, R., González-Manzano, S., Canals, J., Santos-Buelga, C., Zamora, F. (2006).** Influence of microoxygenation treatment before oak aging on phenolics compounds composition, astringency and color of red wines. *J. Agric. Food Chem.* In Press.
61. **Mateus, N., De Freitas, V. (2001).** Evolution and stability of anthocyanins-derived pigments during Port wine aging. *J. Agric. Food Chem.* 49: 5217-5222.
62. **Mateus, N., Silva, A., De Freitas, V., Vercauteren, J. e De Freitas, V. (2001).** Occurrence of anthocyanins-derived pigments in red wines. *J. Agric. Food Chem.* 49: 4836-4840.
63. **Mateus, N., Silva, A., Rivas-Gonzalo, J., Santos-Buelga, C., De Freitas, V. (2003).** A new class of blue anthocyanin-derived pigments isolated from red wines. *J. Agric. Food Chem.* 51: 1919-1923.
64. **Mateus, N., Oliveira, J., Pissarra, J., Gonzáles-Paramás, A., Rivas-Gonzalo, J., Santos-Buelga, C., Silva, A., De Freitas, V. (2006).** A new vinylpyranoanthocyanin pigment occurring in aged red wine. *Food Chem.* 97: 689-695.
65. **Mazza, G., Miniati, E. (1993).** Anthocyanins in fruit, vegetables and grains. CRC Press, Boca Ratón.
66. **Medina, K., Boido, E., Dellacassa, E., Carrau, F. (2005).** Yeast interactions with anthocyanins during red wine fermentation. *Am. J. Enol. Vitic.* 56: 104 – 109.
67. **Monagas, M., Gómez-Cordovés, C., Bartolomé, B. (2006).** Evolution of the phenolic content of red wines from *Vitis vinifera* L. during ageing in bottle. *Food Chem.* 95: 405-412.
68. **Monagas, M., Martín-Álvarez, P., Gómez-Cordovés, C., Bartolomé, B. (2005).** Effect of the modifier (Graciano vs. Cabernet Sauvignon) on blends of Tempranillo wine during ageing in the bottle. II. Colour and overall appreciation. *LWT.* In Press.
69. **Monagas, M., Martín-Álvarez, P., Gómez-Cordovés, C., Bartolomé, B. (2005).** Effect of the modifier (Graciano vs. Cabernet Sauvignon) on blends of Tempranillo wine during ageing in the bottle. I. Anthocyanins, pyranoanthocyanins and non-anthocyanin phenolics. *LWT.* In Press.
70. **Monagas, M., Núñez, V., Bartolomé, B., Gómez-Cordovés, C. (2003).** Anthocyanin-derived pigments in Graciano, Tempranillo, and Cabernet Sauvignon wines produced in Spain. *Am. J. Enol. Vitic.* 54: 163 – 169.
71. **Morata, A., Gómez-Cordovés, M., Calderón, F., Suárez, J. (2005).** Effects of pH, temperature and SO₂ on the formation of pyranoanthocyanins during red wine fermentation with two species of *Saccharomyces*. *Int. J. Food Microb.* In Press.
72. **Morata, A., Gómez-Cordovés, M., Colomo, B., Suárez, J. (2003).** Pyruvic acid and acetaldehyde production by different strains of *Saccharomyces cerevisiae*: relationship with vitisin A and B formation in red wines. *J. Agric. Food Chem.* 51: 6475-6485.
73. **Morata, A., Gómez-Cordovés, M., Suberviola, J., Bartolomé, B., Colomo, B., Suárez, J. (2003).** Adsorption of anthocyanins by yeast cell walls during the fermentation of red wines. *J. Agric. Food Chem.* 51: 4084-4088.
74. **Morata, A., Calderón, F., González, M., Gómez-Cordovés, C., Suárez, J. (2006).** Formation of the highly stable pyranoanthocyanins (Vitisins A and B) in red wines by the addition of pyruvic acid and acetaldehyde. *Food Chem.* In Press.
75. **Parley, A. (1997).** The effect of pre-fermentation enzyme maceration on extraction and colour stability in Pinot Noir wines. *Thesis of Master of Applied Science.* Lincoln University. New Zeland.
76. **Peña-Neira, A., Obreque, E., Araya, E., Loyola, E., Miranda, P., Prieto, C. (2003).** Efectos de la micro-oxigenación sobre la composición fenólica de pequeño



peso molecular y antocianina de un vino Cabernet Sauvignon. *Actas X Congresso Brasileiro de Viticultura e Enología*. 87-89.

77. **Pérez-Magariño, S., González-San José, M. (2004)**. Evolution of flavanols, anthocyanins and their derivatives during aging of red wines elaborated from grapes harvested at different stages of ripening. *J. Agric. Food Chem.* 52: 1181-1189.

78. **Pozo-Bayón, M., Monagas, M., Polo, M., Gómez-Cordovés, C. (2004)**. Occurrence of pyranoanthocyanins in sparkling wines manufactured with red grape varieties. *J. Agric. Food Chem.* 52: 1300-1306.

79. **Pozo-Bayón, M., Hernández, M., Martín-Álvarez, P., Polo, M. (2003)**. Study of low molecular weight phenolic compounds during the aging of sparkling wines manufactured with red and white grape varieties. *J. Agric. Food Chem.* 51: 2089-2095.

80. **Puente-Rivas, E., Alcalde-Eón, C., Santos-Buelga, C., Rivas-Gonzalo, J., Escribano-Bailón, M. (2005)**. Behaviour and characterisation of the colour during red wine making and maturation. *Anal. Chim. Acta*. In Press.

81. **Reader, H., Domínguez, M. (1994)**. Fortified wines: sherry, port and Madeira. In: *Fermented Beverage Production*. A. G. H. Lea and J. Piggot (Eds.). 159-207. Blackie, Glasgow.

82. **Rémy, S., Fulcrand, H., Labarbe, B., Cheynier, V., Moutounet, M. (2000)**. First confirmation in red wine of products resulting from direct anthocyanin-tannin reactions. *J. Sci. Food Agric.* 80: 745-751.

83. **Rémy-Tanneau, S., Le Guernevé, C., Meudec, E., Cheynier, V. (2003)**. Characterization of a colorless anthocyanin-flavan-3-ol dimer containing both carbon-carbon and ether interflavanoid linkages by NMR and mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem.* 51: 3592-3597.

84. **Revilla, I., González-San José, M.L. (2001)**. Evolution during the storage of red wines treated with pectolytic enzymes: new anthocyanin pigment formation. *J. Wine Res.* 12, N°3: 183-197.

85. **Ribéreau-Gayon, P. (1998)**. *Traité d'Oenologie. 2-Chimie du vin. Stabilisation et traitements*. Editions La Vigne .Paris.1998.

86. **Ribéreau-Gayon, P. (1959)**. *Recherches sur les anthocyanes des végétaux. Application au genre Vitis*. Thèse Doctorat. Université de Bordeaux.

87. **Robinson, W., Weirs, L., Bertino, J., Mattick, L. (1966)**. The relation of anthocyanins composition to color stability of New York State wines. *Am. J. Enol. Vitic.* 17: 178-184.

88. **Romero, C., Bakker, J. (1999)**. Interactions between grape anthocyanins and pyruvic acid, with effect of pH and acid concentration on anthocyanin composition and color in model solutions. *J. Agric. Food Chem.* 47: 3130-3139.

89. **Romero, C., Bakker, J. (2000)**. Effect of acetaldehyde and several acids on the formation of vitisin A in model wine anthocyanin and colour evolution. *Int. J. Food Sci. Technol.* 35: 129-140.

90. **Romero, C., Bakker, J. (2000)**. Anthocyanin and colour evolution during maturation of four port wines: effect of pyruvic acid addition. *J. Sci. Food Agric.* 81, 2: 252-260.

91. **Romero-Cascales, I., Ortega-Regules, A., López-Roca, J., Fernández-Fernández, J. Gómez-Plaza, E. (2005)**. Differences in anthocyanin extractability from grapes to wines according to variety. *Am. J. Enol. Vitic.* 56: 212 - 219.

92. **Salas, E., Le Guernevé, C., Fulcrand, H., Poncet-Legrand, C., Cheynier, V. (2004)**. Structure determination and colour properties of a new directly linked flavanol-anthocyanin dimer. *Tetrah. Letters.* 45: 8725-8729.

93. **Salmon, J.M., Sablayrolles, J., Rosenfeld, E. (2002)**. Oxygen addition and fermentation kinetics of *Saccharomyces cerevisiae* during oenological fermentations. In: *Lallemand symposium on nutritional aspects II: synergy between yeast and bacteria*. Perugia, Italy (Lallemand SA, Toulouse, France). 5-10.



94. **Salmon, J.M. (2006)**. Interactions between yeast, oxygen and polyphenols during alcoholic fermentations: Practical implications. *Food Sci. Technol.* 39: 959-965.
95. **Santos-Buelga, C. (2001)**. Sustancias polifenólicas y el color del vino tinto. *Enología avui*. Ed. A. Mas. Facultat d' Enologia, Tarragona. 29-37.
96. **Sarni-Manchado, P., Fulcrand, H., Souquet, J., Cheynier, V., Moutounet, M. (1996)**. [Stability and color of unreported wine anthocyanin-derived pigments](#). *J. Food Sci.* 938-941.
97. **Saucier, C., Bourgeois, G., Vitry, C., Roux, D., Glories, Y. (1997)**. Characterization of (+)-catechin-acetaldehyde polymers: A model for colloidal state of wine polyphenols. *J. Agric. Food Chem.* 45: 1045-1049.
98. **Schwarz, M., Jerz, G., Winterhalter, P. (2003)**. Isolation and structure of Pinotin A, a new anthocyanins derivative from Pinotage wines. *Vitis*. 42: 105-106.
99. **Schwarz, M., Wabnitz, T., Winterhalter, P. (2003)**. Pathway leading to the formation of anthocyanin-vinylphenol adducts and related pigments in red wines. *J. Agric. Food Chem.* 51: 3682-3687.
100. **Schwarz, M., Hoffmann, G., Winterhalter, P. (2004)**. Investigations on anthocyanins in wines from *Vitis vinifera* cv. Pinotage: factors influencing the formation of Pinotin A and its correlation with wine age. *J. Agric. Food Chem.* 52: 498-504.
101. **Schwarz, M., Winterhalter, P. (2003)**. A novel synthetic route to substituted pyranoanthocyanins with unique colour properties. *Tetrah. Letters*. 44: 7583-7587.
102. **Schwarz, M., Quast, P., Von Baer, D., Winterhalter, P. (2003)**. Vitisin A content in chilean wines from *Vitis vinifera* cv. *Cabernet Sauvignon* and contribution on the color of aged red wines. *J. Agric. Food Chem.* 51: 3682-3687.
103. **Somers, T. (1978)**. Interpretations of colour composition in young red wine. *Vitis*. 17: 161-167.
104. **Somers, T., Verette, E. (1988)**. Phenolic composition of natural wine types In: *Modern Methods of Plant Analysis, Wine Analysis*. Linskens, H.F., and Jackson, J.F., Eds., Springer-Verlag, Berlin. 219-257.
105. **Somers, T. (1971)**. The polymeric nature of wine pigments. *Phytochem.* 10: 2175-2186.
106. **Somers, T. Verette, E. Pocock, K. (1987)**. Hydroxycinnamate esters of *Vitis vinifera*: changes during white vinification, and effects of exogenous enzymic hydrolysis. *J. Sci. Food Agric.* 40: 67-78.
107. **Sousa, C., Mateus, N., Pérez-Alonso, J., Santos-Buelga, C., De Freitas, V. (2005)**. Preliminary study of oaklins, a new class of brick-red catechinpyrylium pigments resulting from the reaction between catechin and wood aldehydes. *J. Agric. Food Chem.* 53: 9249-9256.
108. **Sweeny, J., Iacobucci, G. (1983)**. Effect of substitution on the stability of 3 deoxyanthocyanidins in aqueous solutions. *J. Agric. Food Chem.* 31: 531-533.
109. **Timberlake, C., Bridle, P. (1976)**. Interactions between anthocyanins, phenolics compounds, and acetaldehyde and their significance in red wines. *Am. J. Enol. Vitic.* 27: 97-105.
110. **Vasserot, Y., Caillet, S., Maujean, A. (1997)**. Study of anthocyanin adsorption by yeast lees. Effect of some physicochemical parameters. *Am. J. Enol. Vitic.* 48: 433 - 437.
111. **Vivar-Quintana, A., Santos-Buelga, C., Rivas-Gonzalo, J. (2002)**. Anthocyanin-derived pigments and colour of red wines. *Anal. Chim. Acta.* 458: 147-155.
112. **Vivas, N., Glories, Y. (1996)**. Role of oak wood ellagitannins in the oxidation process of red wines during aging. *Am. J. Enol. Vitic.* 47: 103-107.
113. **Vivas, N., Saint Cricq de Gaulejac, N. (2000)**. L'enjeu oenologique de l'élevage sur lie des vins rouges. II. propriétés et modes de valorisation. *Connaissances actuelles & Avenir de l'élevage en barriques [Special issue]. Journal des Sciences et Techniques de la Tonnellerie*, 43-46.



-
114. **Whiting, G., Coggins, P. (1960).** Organic acid metabolism in cider and perry fermentations. III. Keto-acids in cider-apple juices and ciders. *J. Sci. Food Agric.* 11: 705-709.
115. **Wildenradt, H., Singleton, V. (1974).** The production of aldehydes as a result of oxidation of polyphenolics compounds and its relation to wine aging. *Am. J. Enol. Vitic.* 25: 119-126.
116. **Wittkowski, R., Heier, A., Blaas, W. Droß, A. (2002).** Anthocyanin analysis by HPLC/ESI-MS. *Am. J. Enol. Vitic.* 53: 78-86.
117. **Wolf, L., Nagel, C. (1978).** High-pressure liquid chromatographic separation of anthocyanins of *Vitis vinifera*. *Am. J. Enol. Vitic.* 29: 42-49.
118. **Würdig, G., Woller, R. (1989).** *Chemie des Weines*; Eugen Ulmer: Stuttgart, Germany.
119. www.pubs.acs.org. Vintage Chemistry. *Chemical and Engineering news.* Science & Technology. 84, 18: 30-32.
120. **Zamora, F. (2003).** Elaboración y crianza del vino tinto. Aspectos científicos y prácticos. Ed. Mundi-Prensa. Madrid. España.