

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA  
FACULTAD DE AGRONOMÍA**

**EFFECTO DE LA ADICIÓN DE TANINOS ENOLÓGICOS Y LA  
MACERACIÓN PREFERMENTATIVA EN FRÍO EN LA VINIFICACIÓN  
EN TINTO DE UVAS TANNAT**

**por**

**Guzmán FAVRE SILVA**

TESIS presentada como uno de los  
requisitos para obtener el título de  
*Magister* en Ciencias Agrarias opción  
Ciencias Vegetales

Montevideo  
URUGUAY  
Diciembre 2012

Tesis aprobada con mención por el tribunal integrado por Mag. Qca. Graciela Gil, Msc Gerardo Echeverría, y PhD Milka Ferrer, el 21 de diciembre de 2012. Autor: Ing. Agr. Guzmán Favre Silva. Director: Ing. Agr. PhD Gustavo González-Neves.

## **AGRADECIMIENTOS**

Al director de tesis Gustavo González-Neves por haber posible el desarrollara la maestría, y por haber sido apoyo y guía durante el transcurso de la misma.

A la Dra. Milka Ferrer, Msc. Gerardo Echeverría y Mag. Qca. Graciela Gil, por haber aceptado formar parte del tribunal de tesis.

A Facultad de Agronomía y particularmente al programa de posgrados por hacer posible la realización de la maestría en esta casa de estudios.

Al Instituto Nacional de Vitivinicultura (INAVI), y en particular a la Mag. Qca. Graciela Gil y al personal del Laboratorio, por sus aportes para la realización de este trabajo.

A la Agencia Nacional de Investigación e Innovación (ANII) por su apoyo a través del financiamiento del proyecto PR\_FMV\_2009\_1\_2622.

A la Agencia Nacional de Investigación e Innovación (ANII) por su apoyo a través de la beca BE\_POS\_NA\_2010\_2338.

A Establecimiento Juanicó y Omar Perco por proveer la uva utilizada en los ensayos.

A la Empresa Abastecimientos, y particularmente al Enól. Andrés Zecchi, por su aporte de insumos.

A la Empresa Nortedur, y particularmente al Enól. Gerardo Bartola, por su aporte de insumos.

Al Dr. Álvaro Peña-Neira por brindar la oportunidad de realizar una pasantía en la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad de Chile y poner a disposición los laboratorios del Grupo de Investigación en Enología.

A Ing. Ind. Héctor Morales por la disposición brindada durante la pasantía en la Universidad de Chile.

A Cecilia Baldi, Natalia Hernández, Sofía Traverso, Darwin Charamelo e Ismael Ricetto por su colaboración en las determinaciones analíticas y operaciones de bodega.

A Stefania Emiliani y mi familia por el apoyo incondicional durante el tiempo de desarrollo de la maestría.

## TABLA DE CONTENIDO

	Página
<b>PÁGINA DE APROBACIÓN</b> .....	II
<b>AGRADECIMIENTOS</b> .....	III
<b>RESUMEN</b> .....	VII
<b>SUMMARY</b> .....	VIII
<b>1 <u>INTRODUCCIÓN</u></b> .....	1
<b>1.1 LA VITIVINICULTURA DEL URUGUAY</b> .....	1
<b>1.2 TANNAT, IMPORTANCIA Y CARACTERÍSTICAS</b> .....	1
<b>1.3 VINIFICACIÓN EN TINTO</b> .....	2
1.3.1 <u>Extracción de fenoles de la uva al mosto/vino</u> .....	2
1.3.2 <u>Alternativas de vinificación</u> .....	6
1.3.2.1 Maceración prefermentativa en frío .....	7
1.3.2.2 Vinificación con adición de taninos enológicos .....	9
1.3.3 <u>Justificación de la investigación</u> .....	13
1.3.3.1 Objetivos .....	15
<b>2 <u>MATERIALES Y MÉTODOS</u></b> .....	16
<b>2.1 ENSAYOS 2010</b> .....	16
2.1.1 <u>Ensayo N°1</u> .....	16
2.1.1.1 Composición de la uva en cosecha.....	17
2.1.1.2 Cosecha de la uva – Encubado.....	18
2.1.1.3 Vinificaciones .....	19
2.1.1.4 Análisis a los vinos .....	21
2.1.2 <u>Ensayo N°2</u> .....	22
2.1.2.1 Análisis de composición de la uva.....	22
2.1.2.2 Análisis de los vinos .....	23
2.1.2.3 Análisis sensorial .....	23
<b>2.2 ENSAYOS 2011</b> .....	23
2.2.1 <u>Ensayo N°3</u> .....	23
2.2.1.1 Composición de la uva en cosecha.....	24
2.2.1.2 Análisis de los vinos .....	24
2.2.2 <u>Ensayo N° 4</u> .....	26
2.2.2.1 Composición de la uva en cosecha.....	27
2.2.2.2 Vinificaciones .....	27
2.2.2.3 Análisis de los vinos .....	27
<b>2.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICO</b> .....	28
<b>3 <u>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</u></b> .....	29
<b>3.1 ENSAYO N°1</b> .....	29

3.1.1	<u>Composición de la uva en cosecha</u> .....	29
3.1.1.1	Composición general.....	29
3.1.1.2	Composición fenólica.....	29
3.1.2	<u>Vinificaciones</u> .....	30
3.1.3	<u>Análisis de los vinos al descube</u> .....	35
3.1.3.1	Composición general.....	35
3.1.3.2	Alcoholes superiores .....	36
3.1.3.3	Familias fenólicas.....	37
3.1.3.4	Color.....	39
3.1.4	<u>Análisis de los vinos a los 3 meses del descube</u> .....	41
3.1.4.1	Composición general.....	41
3.1.4.2	Composición fenólica.....	42
3.1.4.3	Color.....	44
3.1.4.4	Análisis sensorial .....	46
<b>3.2</b>	<b>ENSAYO 2</b> .....	48
3.2.1	<u>Composición de la uva en cosecha</u> .....	48
3.2.1.1	Composición general.....	48
3.2.1.2	Composición fenólica.....	49
3.2.2	<u>Análisis de los vinos a los 3 meses del descube</u> .....	49
3.2.2.1	Composición general.....	49
3.2.2.2	Composición fenólica.....	50
3.2.2.3	Color.....	52
3.2.2.4	Análisis sensorial .....	53
<b>3.3</b>	<b>ENSAYO 3</b> .....	55
3.3.1	<u>Composición de la uva en cosecha</u> .....	55
3.3.1.1	Composición general.....	55
3.3.1.2	Composición fenólica.....	55
3.3.2	<u>Vinificaciones</u> .....	56
3.3.3	<u>Análisis de los vinos al desborre</u> .....	62
3.3.3.1	Composición fenólica.....	62
3.3.3.2	Color.....	64
3.3.4	<u>Análisis de los vinos a los 4 meses del desborre</u> .....	67
3.3.4.1	Composición general.....	67
3.3.4.2	Alcoholes superiores .....	67
3.3.4.3	Ácidos mayoritarios .....	68
3.3.4.4	Familias fenólicas.....	69
3.3.4.5	Color.....	70
3.3.4.6	Análisis sensorial .....	71
3.3.5	<u>Evolución de la composición del vino</u> .....	73
3.3.5.1	Familias fenólicas.....	73
3.3.5.2	Color.....	76
<b>3.4</b>	<b>ENSAYO 4</b> .....	79
3.4.1	<u>Composición de la uva en cosecha</u> .....	79

3.4.1.1	Composición general.....	79
3.4.1.2	Composición fenólica.....	79
3.4.2	<u>Vinificaciones</u> .....	80
3.4.3	<u>Análisis de los vinos al desborre</u> .....	82
3.4.3.1	Polifenoles totales y antocianos totales.....	82
3.4.4	<u>Análisis de los vinos a los 4 meses del desborre</u> .....	85
3.4.4.1	Composición general.....	85
3.4.4.2	Ácidos mayoritarios de los vinos a los 4 meses del descube .....	85
3.4.4.3	Familias fenólicas.....	86
3.4.4.4	Color.....	87
3.4.4.5	Análisis sensorial .....	89
3.4.5	<u>Evolución de la composición del vino</u> .....	89
3.4.5.1	Composición fenólica.....	89
3.4.5.2	Color.....	93
<b>4</b>	<b><u>DISCUSIÓN GENERAL</u></b> .....	100
<b>4.1</b>	<b>MACERACIÓN PREFERMENTATIVA EN FRÍO</b> .....	100
<b>4.2</b>	<b>ADICIÓN DE TANINOS</b> .....	103
<b>5</b>	<b><u>CONCLUSIONES</u></b> .....	107
<b>6</b>	<b><u>BIBLIOGRAFÍA</u></b> .....	108
<b>7</b>	<b><u>ANEXO 1</u></b> .....	120
<b>7.1</b>	<b>EMPLEO DE TANINOS ENOLÓGICOS Y MACERACIÓN PREFERMENTATIVA EN FRÍO EN UNA EXPERIENCIA DE ELABORACIÓN DE VINOS TINTOS TANNAT</b> .....	120

## RESUMEN

La maceración prefermentativa en frío (MPF) y la adición de taninos enológicos (TA) son alternativas de vinificación citadas como capaces de modificar las concentraciones de antocianos y taninos del vino. Con la MPF se busca aumentar la extracción de antocianos, el color y reducir la relación taninos/antocianos, mientras la adición de taninos se propone para proteger el color de oxidaciones y aumentar su estabilidad, resultados no siempre alcanzados según la literatura. Con la uva Tannat (*Vitis vinifera*) es posible elaborar vinos ricos en antocianos, taninos y color, que sin embargo puede tener baja estabilidad. De esta forma su vinificación con MPF y TA debería ser evaluada en función de su capacidad de mejorar su color y relación taninos/antocianos. Con este objetivo, se realizaron ensayos a escala reducida en dos vendimias consecutivas contrastando variantes de estas técnicas con el método tradicional de maceración (MT). En el año 2010 se realizaron dos ensayos preliminares, el primero comparando MT, MPF y TS (maceración con taninos de semilla de uva). El segundo comparó MT con TQ (maceración con taninos de quebracho) y TS. En el 2011 se repitieron las experiencias con modificaciones y se incluyó un tratamiento con adición de taninos de semilla al descube (TD). La MPF redujo las tasas de extracción de antocianos en maceración en relación a MT y TA, en menor medida en el 2011 donde la uva tuvo mayor extractibilidad de los antocianos. Los vinos MPF tuvieron en el 2011 mayor color, antocianos y menor relación taninos/antocianos respecto a los MT. El efecto de TA se manifestó en un aumento en los vinos de proantocianidinas y catequinas. Adicionados al descube, los vinos tuvieron el mayor color, aumentando la diferencia respecto a MT con el tiempo (IC 10,45 vs 11,06, 7,21 vs 8,13, MT vs TD a los 4 y 14 meses del descube respectivamente). Con una variante de MPF fue posible mejorar la relación taninos/antocianos y el color de los vinos, mientras con TD se incrementó el color y su estabilidad. Ambos fueron hallazgos importantes que requieren su confirmación en futuras investigaciones.

**Palabras clave:** Tannat, Maceración Prefermentativa en Frío, Tanino Enológico, Antocianos, Polifenoles

# **EFFECT OF ENOLOGICAL TANNIN ADDITION AND PREFERMENTATIVE COLD FERMENTATION ON THE VINIFICATION OF TANNAT RED WINES**

## **SUMMARY**

Cold pre-fermentative maceration (CPM) and enological tannin addition are alternatives of winemaking capable of modify anthocyanin and tannin wine concentrations. With CPM the aim is to improve anthocyanin extraction and color, reducing tannin/anthocyanin quotient, while enological tannin addition try to prevent color oxidations and increase its stability. Tannat (*Vitis vinifera*) wines may have high contents of anthocyanins, tannins and color, which could have low stability. So, Tannat winemaking with MPF and TA should be evaluated from their aptitude to improve its color and tannin/anthocyanin quotient. With that aim, trials were made during two vintages essaying variants of cited alternatives against the traditional winemaking (TM). In the year 2010 two trials were made. One contrasted TM, CPM and ST (maceration with grape seed tannin addition). The other contrasted TM against QT (maceration quebracho tannin addition) and ST. At 2011 experiences were repeated with modifications, and a trial consisting in grape-seed tannin addition at devatting (DT) was included. The CPM slowed down anthocyanin tax of extractability during maceration, but in a lesser extent at 2011 where grapes had higher anthocyanin extractability. At 2011 MPF wines had more color, anthocyanin and less tannin/anthocyanin relationship respect to TM wines. Tannin addition increased wine proanthocianidins and catechins. With DT, improved color was gotten in wines, increasing differences with TM with the time (IC 10,45 vs 11,06, 7,21 vs 8,13, TM vs DT at 4 and 14 months after devatting respectively). With one CPM variant was possible to improve tannin/anthocyanin ratio and color of wines, whilst devatting tannin addition increased wine color.

Key words: Tannat, Cold pre-fermentative maceration, Enological Tannin, Anthocyanin, Polyphenols.

# **1 INTRODUCCIÓN**

## **1.1 LA VITIVINICULTURA DEL URUGUAY**

La viticultura nacional está representada en la actualidad por unas 8000 hectáreas de viñedos que produjeron en el año 2011, 126 millones de kilos de uva, de los cuales el 97% fue destinado a la elaboración de vino. Según datos del Instituto Nacional de Vitivinicultura (INAVI) 95% de la producción total es de variedades *Vitis vinifera* y más del 80 % de uva tinta (INAVI, 2012a). En el 2011, un total de 229 bodegas elaboraron 90 millones de litros de vino, de los cuales un 9 % fue de vinos blancos, 37% rosado, 12% clarete y 42 % tinto (INAVI, 2012b). A nivel de las exportaciones, los vinos tintos tienen una relevancia aún mayor, significando en el 2011, más del 75 % de los 2,646 millones de litros exportados.

## **1.2 TANNAT, IMPORTANCIA Y CARACTERÍSTICAS**

Tannat es la variedad más cultivada, representando en el 2011 más del 25% de la producción de uvas tintas (INAVI) siendo la cepa más representativa de la vitivinicultura del Uruguay.

Tannat ha mostrado una muy buena adaptación a las condiciones eco-productivas del Uruguay, la que se ha explicitado en numerosas investigaciones que igualmente han permitido avanzar en el conocimiento de sus características vitícolas y enológicas (González-Neves et al., 2012, 2010abcd, 2007, 2004, Ferrer et al., 2011, Alcalde-Eon et al., 2006, Boido et al., 2006, Medina et al., 2005, etc). Posee características que a la vez de distintivas le confieren buenas aptitudes enológicas, como su capacidad de generar alto grado alcohólico y bajo pH en madurez tecnológica. Pero el aspecto más sobresaliente de la variedad, es su excepcional potencial en síntesis de compuestos fenólicos como antocianos y taninos, elementos determinantes de la calidad del vino tinto (González-Neves et al., 2012, 2004, Ferrer et al., 2011, Alcalde-Eon et al., 2006,

Boido et al., 2006). No obstante a pesar del potencial de la variedad para generar vinos con alta intensidad colorante, presenta problemas en cuanto a la estabilidad del color (González-Neves et al., 2010c).

La caracterización de la extractibilidad de los antocianos de la uva Tannat ha sido muy importante tecnológicamente. Si bien ésta es menor al de otras variedades (mayor índice de extractibilidad EA%), se ha comprobado que es una limitante superable con una gestión de la vinificación que incluya un programa adecuado de remontajes y bazuqueos desde el comienzo de la vinificación (González-Neves et al., 2012, 2004).

### **1.3 VINIFICACIÓN EN TINTO**

Los vinos tintos son vinos de maceración, entendiéndose por ésta a la etapa en que las partes sólidas de las uvas permanecen en contacto con el mosto.

La vinificación en tinto tradicional comprende el desarrollo simultaneo de la maceración y la fermentación alcohólica (González-Neves et al., 2008).

#### **1.3.1 Extracción de fenoles de la uva al mosto/vino**

Con excepción de los ácidos hidroxicinámicos presentes en la pulpa, los compuestos fenólicos derivan principalmente de hollejos y semillas (Figura 1). La participación de los fenoles derivados del escobajo será minoritaria aún en el caso que éstos sean incluidos. Por lo tanto, una vez que la uva es cosechada, la cantidad y composición fenólica del vino se torna dependiente del proceso de maceración y en consecuencia de la conducción de la vinificación (Kennedy, 2008).

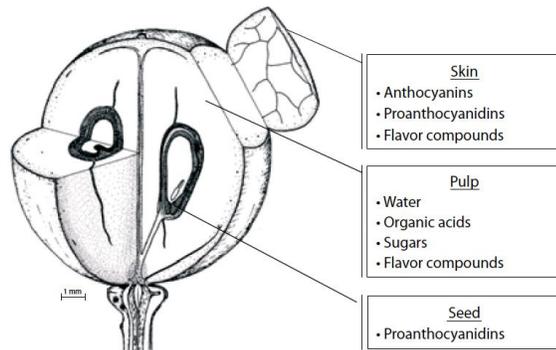


Figura 1 Ubicación en el grano de uva de compuestos determinantes de la calidad del vino tinto

Tomado de Kennedy (2008)

Los antocianos y taninos son moléculas que tienen concentraciones elevadas en los vinos tintos y sus contenidos son determinantes de su calidad.

Los antocianos se encuentran en los hollejos de las uvas tintas, y son las moléculas que le confieren el color al vino tinto joven e intervienen en la formación de complejos moleculares responsables de estabilizar el color del vino en el tiempo. Por su parte, los taninos se encuentran en las partes sólidas de los racimos (hollejos, semillas y escobajos) y participan de aspectos sensoriales como astringencia, amargor y estructura, y adicionalmente intervienen en la estabilización de los pigmentos que mantienen el color del vino en el tiempo (Harbertson et al., 2012, Cheynier et al., 2006). Asimismo son determinantes de la capacidad de crianza del vino tinto (Zamora, 2003).

Además de los contenidos absolutos, las concentraciones relativas de antocianos y taninos durante el transcurso de la vinificación y en los vinos determinará la naturaleza, tamaño y estabilidad de los pigmentos y por lo tanto sus características (Fulcrand et al., 2006, Sacchi et al., 2005).

Múltiples factores limitan la extracción de las diferentes clases de compuestos fenólicos. Los ácidos hidroxifenólicos siempre estarán presentes en el mosto, desde que se ubican tanto en la pulpa como en los hollejos. Como su concentración es mayor en las

vacuolas de estos últimos, su contenido se incrementa igualmente en los primeros días de maceración (Koyama et al., 2007).

Por su parte, los antocianos alcanzan un máximo en los primeros días de maceración, con una subsecuente disminución durante el transcurso de la fermentación alcohólica y maceración (Casassa et al., 2008, González-Neves et al., 2008, Koyama et al., 2007, Amrani y Glories 1994), lo que refleja la inestabilidad de estos compuestos una vez liberados al mosto/vino (Cheynier et al., 2006, Sacchi et al. 2005). Los antocianos se localizan en la vacuola de las células hipodérmicas, por lo que para ser extraídos deberán liberarse tanto de la membrana vacuolar (el tonoplasto) como de la célula en sí misma (Sacchi et al., 2005). En consecuencia, Kennedy (2008) expresa que la fisicoquímica que regula los fenómenos de difusión será el factor más determinante de la extracción de los antocianos, entendiéndose por difusión el fenómeno por el cual los compuestos se mueven de regiones de alta concentración hacia regiones de menor concentración (por ejemplo de las células de la uva al mosto/vino). Según este autor la difusión depende de: la temperatura; del tipo de molécula, tamaño y masa molecular; del gradiente de concentración; de la permeabilidad celular y del área superficial del gradiente de concentración, y de la composición del medio de extracción (como la concentración de etanol). Los incrementos en la magnitud de estos factores, a excepción del tamaño molecular, contribuyen positivamente a la tasa de extracción. Por su parte, Zimman et al. (2002) expresan que el tiempo y la temperatura de maceración son las dos variables críticas que determinan finalmente la cantidad de antocianos presentes en el vino.

Finalmente, durante una vinificación en tinto tradicional, donde la fermentación y la maceración se desarrollan simultáneamente, el contenido de alcohol, el dióxido de carbono y el calor de fermentación, junto al efecto del anhídrido sulfuroso, incrementan la permeabilidad de las membranas (Sacchi et al., 2005), la solubilidad de los compuestos y los gradientes de concentración (Kennedy, 2008). Las operaciones

mecánicas (como remontajes y bazuqueos) tienen entre sus objetivos el incremento del último factor enumerado (Ribéreau-Gayon et al., 2006).

En el caso de los taninos, la extracción parece estar limitada por su solubilidad (Sacchi et al., 2005). Su difusión al mosto/vino típicamente aumenta con el contenido de etanol, anhídrido sulfuroso, temperatura y tiempo de maceración. Esto último es particularmente válido para los taninos de semilla (Koyama et al. 2007, González-Neves et al. 2005, Peyrot des Gachons y Kennedy, 2003). En general los enólogos valoran mejor los taninos de hollejos que los de semilla, por lo que diversas prácticas de vinificación buscan limitar la participación de estos últimos en el vino (como maceraciones de corta duración, maceración prefermentativa en frío (MPF), separación de semillas de la cuba, etc). En este sentido, Cortell et al. (2005) sugieren que el aumento de la calidad de los taninos del vino estaría asociada a la cantidad y proporción de taninos que se derivan de los hollejos, los que poseen menor grado de galoilación que los de semilla, característica que incrementa la percepción de la astringencia y amargor (Vidal et al., 2004).

Los taninos de hollejos son en general extraídos en las primeras etapas de la vinificación mientras la proporción de taninos de semilla se incrementa con el tiempo de maceración (Koyama et al. 2007, González-Neves et al. 2005, Amrani y Glories 1995 y 1994). Por lo tanto la extracción de taninos aumentará en el transcurso de la fermentación y en algún punto los de semilla dominaran los taninos presentes en el vino (McRae y Kennedy, 2011).

Koyama et al. (2007) hallaron en seguimientos de maceración de Cabernet Sauvignon, que los fenoles contenidos principalmente en los hollejos (antocianos, flavonoles y las unidades de epigallocatequina dentro de las proantocianidinas), se extraían en las primeras etapas de maceración, mientras aquellos de semillas (ácido gálico, catequinas, y galatos de epicatequina entre los flavanos) eran extraídos gradualmente. No obstante estudios recientes han demostrado que los taninos de semillas están presentes en el mosto desde el comienzo de la maceración si bien

inicialmente se incrementan a menor tasa que los de hollejo (Hernández-Jiménez et al., 2012, Busse-Valverde et al., 2011, Busse-Valverde et al., 2010).

### **1.3.2 Alternativas de vinificación**

Teniendo en cuenta lo señalado anteriormente, resulta evidente que las condiciones de maceración afectarán en forma muy importante las proporciones de antocianos y taninos que difunden al vino (Fulcrand et al., 2006). Este hecho es tan determinante que a partir de uvas tintas será posible elaborar vinos blancos, rosados o tintos.

Diversas alternativas de vinificación han sido desarrolladas para elaborar vinos tintos, haciendo uso del efecto selectivo de las condiciones de maceración sobre la extracción de compuesto fenólicos de las uvas o de la influencia de estas moléculas sobre la calidad química y sensorial del vino (Sacchi et al., 2005, Bosso et al., 2004).

Las prácticas de vinificación deben tener en cuenta las variables que determinan la extracción así como las características de la variedad de forma de aprovechar sus cualidades, limitar sus eventuales aportes negativos y mejorar sus limitantes. Por lo tanto, en el caso de la vinificación en tinto de Tannat se debería buscar aprovechar su potencial fenólico (particularmente en antocianos), promover la formación de pigmentos estables y limitar el aporte de taninos de semilla. Para que esto último sea posible, la técnica de vinificación deberá permitir modificar en el vino la relación taninos de semilla – taninos de hollejo originalmente presente en las uvas. Como lo expresa Kennedy (2008) con un objetivo tecnológico, se debería optimizar no solo la cantidad de taninos extraídos (que será una proporción pequeña del contenido total de las uvas), sino también la relación entre taninos de semilla y hollejo.

### **1.3.2.1 Maceración prefermentativa en frío**

Esta alternativa de vinificación consiste en postergar el comienzo de la fermentación alcohólica mediante el empleo de alguna técnica que permita mantener el mosto a bajas temperaturas. Típicamente, se busca mantener el mosto por varios días a temperaturas inferiores a 15 °C. Por lo tanto en dicho período la maceración tiene lugar en ausencia de etanol, debido a que las bajas temperaturas impiden que las levaduras comiencen la fermentación (Gómez-Míguez et al., 2007). De esta forma se favorece la extracción de los compuestos más hidrosolubles de los hollejos como aromas, antocianos y flavanos de bajo peso molecular, por sobre la de taninos de semilla (Koyama et al., 2007, Álvarez et al., 2006, Cheynier et al., 2006, Sacchi et al., 2005).

Ha sido propuesto que el aumento de la relación entre antocianos/taninos desde las etapas iniciales de la vinificación incrementa significativamente los polímeros de antocianos, los cuales son más estables que sus precursores (González-Neves et al., 2008, Fulcrand et al., 2006,), mientras que el medio acuoso favorece la copigmentación (Canals et al., 2005, Boulton 2001), importante para el color del vino joven y la evolución del mismo hacia formas más estables (Cheynier et al., 2006, Boulton 2001). Adicionalmente, limitar la extracción de los taninos más astringentes de las semillas, produciría vinos más equilibrados y suaves al paladar (Zinnai et al., 2006). Sin embargo, los resultados de investigación sobre los efectos en el contenido fenólico y el color de los vinos elaborados con esta técnica son muy diversos sin que se haya hasta el momento podido identificar en forma concluyente los factores que permiten obtener los resultados buscados.

Los resultados presentados por Cheynier et al. (2006) son un ejemplo de lo esperado con la técnica; mayor nivel de antocianos y proporción de taninos de hollejos que de semilla, aún cuando se incrementaron las proantocianidinas totales. Esto último sería resultado de un mayor tiempo de maceración total en relación a la maceración tradicional. Koyama et al. (2007) hallaron resultados similares pero con contenidos inferiores de proantocianidinas al testigo, al definir 10 días de maceración en todos los

tratamientos, donde la MPF tuvo 2 días de maceración en frío (obtenido por intercambiadores de calor).

Gómez-Míguez et al. (2007) en experimentos con Syrah hallaron un claro incremento de antocianos respecto a una vinificación testigo de 6 días de maceración, al utilizar 7 días de maceración en frío en tanques refrigerados más 6 días de maceración convencional.

Algunos autores han encontrado diferente respuesta dependiendo del método de enfriamiento utilizado. Zinnai et al. (2006) hallaron los mayores incrementos de antocianos en relación al testigo utilizando nitrógeno líquido, si bien con hielo seco las diferencias también fueron positivas en relación al testigo. Casassa et al. (2008) hallaron resultados buenos respecto a la maceración tradicional cuando la MPF se realizó con  $\text{CO}_2(\text{s})$  y negativos cuando la etapa prefermentativa se hizo en cámara refrigerada.

Catania et al. (2006) estudiaron la respuesta varietal a la MPF con aplicación de frío externo. Reportaron diferencias positivas en el color del vino luego de 6 meses para Sangiovese y Merlot, mientras en Cabernet Sauvignon no observaron diferencias respecto al testigo. Baiano et al. (2007) por su parte reportan resultados inferiores al testigo en términos de color y/o contenido de antocianos en vinificaciones de uva Primitivo.

Llaudy et al. (2005) estudiaron además del efecto de la MPF con  $\text{CO}_2\text{s}$  en variedades de diferente potencial fenólico (bajo en Ull de Liebre, alto en Cabernet Sauvignon), el del grado de maduración de la uva. Encontraron los mejores resultados respecto a la maceración tradicional con las uvas menos maduras y en Cabernet Sauvignon. Aún así, reportan diferencias moderadas.

Álvarez et al. (2006) estudiaron diferentes tiempos de maceración en frío (4 vs 8 días), temperaturas y refrigerantes, 7 °C vs 1 °C con  $\text{CO}_2\text{s}$ , en uva Monastrell cosechada igualmente en 2 niveles de maduración. Encontraron resultados superiores al testigo con la MPF, y las mayores diferencias en la uva menos madura y cuando se utilizó  $\text{CO}_2\text{s}$ .

Mientras estos autores no encontraron efecto del tiempo de maceración en frío, Zini et al. (2003), reportan que a nivel industrial los mayores niveles de color en los vinos fueron obtenidos con maceraciones prefermentativas de 72 hs en comparación al testigo y a maceración en frío de 36 hs.

Respecto al aroma de los vinos, se reportan con frecuencia mejoras en la calidad asociadas a la vinificación con MPF (Álvarez et al., 2006, Catania et al., 2006, Zini et al., 2003, Feuillat 1997), vinculando este hecho al desarrollo de levaduras nativas en la etapa prefermentativa y/o a una mayor extracción de precursores aromáticos.

### **1.3.2.2 Vinificación con adición de taninos enológicos**

La relevancia de los taninos en la calidad química y sensorial del vino ha estimulado el desarrollo de diferentes formulaciones comerciales, genéricamente llamadas taninos enológicos.

Según Obradovic (2006) su empleo en la vinificación en tinto busca los siguientes objetivos:

- estabilizar el color
- asegurar balance y complejidad sensorial
- participar en las reacciones de añejamiento del vino
- inhibir actividad lacasa en frutos afectados con Botrytis.

Estos productos son formulados para ser agregados al mosto o vino. Especificaciones sobre su uso enológico se encuentran incluidas en el Codex Enológico Internacional (OIV 2009). Según el citado organismo, el origen a partir de los cuales se formulan los taninos enológicos pueden ser agallas y madera de especies arbóreas donde éstos se concentran, como roble (*Quercus sp.*), quebracho (*Schinopsis balansae*) y castaño (*Castanea sp.*) así como de semillas y hollejos de uva (*Vitis vinifera*).

Si bien han sido utilizados durante mucho tiempo en la vinificación en blanco como coadyuvantes de clarificación (precipitación de proteínas), su empleo en la vinificación en tinto están siendo cada vez más frecuente (Canuti et al., 2012). En principio, solo se podía contar con taninos extraídos de madera o agallas (estructuras que producen ciertas especies arbóreas, como *Quercus sp.*, inducidas por insectos). Sin embargo en la actualidad, también están disponibles taninos de uvas (tintas o blancas, de hollejos o semillas) los que son cada vez más empleados a pesar de ser más caros (Vivas et al., 2004). Según Delteil (2000), los taninos enológicos entran en la calificación de aditivos y tratamientos correctivos, debido a que su origen es exógeno a los sistemas biológicos naturalmente presentes en el ecosistema de la uva y el vino durante la vinificación.

Álvarez (2007) expresa que la incorporación de taninos al vino, tanto condensados como hidrolizables, modifica su composición y calidad unos días después de su tratamiento lo que representa una de las características tecnológicas más interesantes de su aplicación enológica. Pero las relaciones causa-efecto responsables de las propiedades de los taninos, son en extremo complejas, por lo que la forma en que se desarrollan, y particularmente sus consecuencias sensoriales, están muy lejos de ser dilucidadas (Cheynier et al., 2006, Fulcrand et al., 2006, Atanasova et al., 2002). Adicionalmente, Harbertson et al. (2012) expresan que la mayor parte de los compuestos fenólicos presentes en estos productos no son estrictamente taninos, a lo que debe agregarse que se han reportado divergencias entre el origen botánico declarado en las etiquetas comerciales y lo evidenciado tras ser analizados (Obreque-Slér et al., 2009).

Por lo tanto no hay garantías de que los preparados comerciales se integren y comporten en el vino, como lo hacen los que naturalmente difunden de la uva al mosto/vino durante la vinificación. En consecuencia resulta difícil predecir los efectos de adicionar una fuente exógena de taninos, lo que seguramente sea la causa de la diversidad de resultados reportados en la bibliografía. Entre otros factores, el tipo de tanino utilizado, la variedad de uva vinificada, su composición a cosecha, y la tecnología

de vinificación empleada, estarán interactuando y condicionando los resultados. Puech et al. (2007), trabajando con distintos taninos enológicos en soluciones modelos y un panel de degustadores expertos encontraron que los de hollejo de uva, fueron los peor valorados y menos asociados al vino, mientras que lo contrario ocurrió con los de roble y castaño.

Como el origen botánico del tanino determinará su composición, ésta cambiará sus actividades químicas y biológicas (Laghi et al., 2010, Vivas et al., 2004) y por lo tanto, sus aplicaciones y resultados enológicos (Laghi et al., 2010, Zamora 2003).

En trabajos recientes se puede encontrar un análisis detallado de la composición química de los taninos según origen botánico y estructura vegetal de donde son extraídos (Laghi et al., 2010, Sanz et al., 2008, Vivas et al., 2004).

A pesar de que su empleo se encuentra ampliamente distribuido en la industria vitivinícola, su estudio ha recibido poca atención por parte de los investigadores (Harbertson et al., 2012, Laghi et al., 2010) y entre los disponibles hay una gran disparidad de resultados y opiniones sobre su utilidad (Zamora, 2003).

Parker et al. (2007) trabajando con adiciones pre y post fermentativas de taninos de semilla de uva en Syrah, no hallaron que los productos estabilizaran el color del vino durante los dos años de almacenamiento en botella en que continuaron el experimento. Adicionalmente los vinos tuvieron propiedades sensoriales negativas en relación al testigo sin agregado de taninos. Similares resultados reportaron Bautista-Ortín et al. (2005) en vinos de uva Monastrel. En el mismo sentido, los trabajos de Delteil (2000) en Grenache, Syrah y Merlot, compararon los resultados anunciados en las etiquetas de los productos, con los obtenidos en vinificaciones experimentales, con adiciones pre y post fermentativas de taninos. Luego de ensayarlo en sucesivas vendimias, con diferentes tecnologías de vinificación y analizar los vinos durante cinco años, observaron que en ninguno se obtenían efectos positivos. Por el contrario, la tipicidad y perfil sensorial de los vinos habían sido afectados negativamente.

Sin embargo otros autores han encontrado resultados positivos. Obradovic (2006) evaluó la respuesta a través del tiempo de la adición de taninos de uva (hollejos y semillas) en la vinificación y en los vinos Syrah. El autor concluyó que los efectos fueron positivos a nivel sensorial y de estabilidad del color, incluso luego de 16 meses de guarda. Agrega que los resultados están de acuerdo con la evidencia empírica, de que el agregado de taninos incrementa la estabilidad del color. Main y Morris (2007) en agregados postfermentativos de taninos de semilla de uva a vinos de la variedad Cynthiana encontraron diferencias estadísticas en el color luego de 11 y 22 meses de almacenamiento en botella, sin embargo expresan que el incremento observado fue de pequeña magnitud y escaso valor comercial.

En tanto Laghi et al. (2010), expresan que los resultados dependen del tipo de tanino utilizado. Señalan que los de uva, son los que realmente incrementarían la estructura polifenólica y la estabilidad del vino. Según Vivas et al. (2004) eso se debe a la similitud con los taninos naturales del vino. En este sentido, Canuti et al. (2012) encontraron diferentes resultados tras el agregado de taninos según el origen botánico, el momento de adición y la composición fenólica del vino. Los mejores resultados sobre la estabilidad del color los obtuvieron con agregados prefermentativos, de taninos de semilla de uva y de agalla de roble, y cuando se vinificaron uvas con baja concentración de polifenoles.

### **1.3.3 Justificación de la investigación**

Respecto al uso de taninos enológicos, Parker et al. (2007) señalan que cuando naturalmente existe una concentración adecuada de taninos en el vino no es de esperar ni que los adicionados se solubilizan en una proporción importante ni que interactúen en forma significativa con los componentes del vino. Los resultados obtenidos por Canuti et al. (2012) soportan la cita anterior. Estos autores reportan que a mayor potencial fenólico tuvo la uva empleada en sus ensayos, menor efecto observado del agregado de taninos.

En general, las dosis recomendadas comercialmente están en el orden de los 100 a 300 mg/L (Crespy y Urban, 2002). Estudios nacionales han reportado concentraciones naturales de taninos en vinos Tannat de 2089 y 4051 mg/L a los dos meses del descube (González-Neves et al., 2004) en años muy desfavorables y favorables respectivamente para la síntesis de estos compuestos. A su vez, suelen utilizarse taninos enológicos de semilla en una variedad como Tannat caracterizada por sus elevados contenidos de semillas y proporción de taninos en éstas.

Un aspecto a destacar, es que Tannat, es una variedad muy poco difundida en el mundo, originaria de Madiran, y con la mayor área de plantación en Uruguay. Es así que las empresas que desarrollan estos productos, estarán focalizadas en las variedades mundialmente más difundidas. Los antecedentes revisados expresan la falta de consenso que existe sobre el uso, efectos y condiciones de aplicación de estos productos.

Esto está en desacuerdo con lo generalizado de su empleo en la vinificación de Tannat en el Uruguay.

Si bien no es posible abarcar todas las formas y situaciones en que pueden ser utilizados estos productos, se investigó sobre aspectos que se consideraron de relevancia científica y productiva: la influencia del origen botánico del tanino utilizado (quebracho vs semilla de uva), el momento de adición (encubado vs descube) y el tiempo de maceración (igual vs menor al testigo). Esto último pretende investigar sobre uno de los motivos por los cuales son empleados en las bodegas. Desde que la extracción de

antocianos es más rápida que la de taninos (Amrani y Glories, 1994), se reduce el tiempo de maceración y se adicionan taninos exógenos buscando sustituir la carencia de los que naturalmente cedería la uva.

Según lo descrito para la maceración prefermentativa en frío la técnica podría ser promisoría en la vinificación de uvas Tannat. En la caracterización fenólica de esta variedad (González-Neves et al., 2012, 2004) destacan dos aspectos por su relevancia tecnológica; la baja extractibilidad de los antocianos y su elevado porcentaje en taninos de semilla. Lo primero podría estar relacionado con las características físicas de los hollejos de Tannat. Sacchi et al. (2005) expresan que el uso de hielo seco en la MPF tiene potencialmente la capacidad de incrementar la extracción. “La congelación del mosto causa la lisis de las células de la uva, rompiendo las membranas celulares y liberando los antocianos” (Sacchi et al., 2005). Adicionalmente se podría disminuir el contenido en taninos de semilla debido a la necesidad de etanol en el medio para su extracción (Amrani y Glories, 1994). Sin bien trabajos recientes han encontrado incrementos de taninos de semilla en vinificaciones con maceración prefermentativa (Busse-Valverde et al., 2011), Koyama et al. (2007) mostraron que si el tiempo de maceración de la MPF es semejante al del testigo, es posible incrementar el contenido en antocianos disminuyendo los contenidos de taninos, especialmente de semillas.

Experimentos previos en Tannat (González-Neves et al., 2012, 2010ab, 2008) han avanzado en el conocimiento de la aplicación de esta técnica en la variedad. González-Neves et al. (2008) evalúan la MPF en dos vendimias sucesivas, obteniendo en ambos años menores concentraciones de antocianos respecto a la maceración tradicional, siendo menores las diferencias en la vendimia de uva más madura. Sin embargo en González-Neves et al. (2010 a y b) los autores muestran resultados que sugieren que la MPF podría estimular la generación de pigmentos derivados y poliméricos. Adicionalmente González-Neves et al. (2012 y 2010a) comprobaron que la técnica es capaz de cambiar tanto las concentraciones de fenoles como el perfil antociánico del vino.

Lo presentado destaca la importancia de continuar estudiando la forma de adaptar la MPF a la vinificación en tinto de Tannat buscando incrementar con la técnica la extracción de antocianos, la relación taninos de hollejos/ taninos de semillas así como la estabilidad del color.

### **1.3.3.1 Objetivos**

La investigación tuvo por objetivo la evaluación de los efectos de la maceración prefermentativa en frío y la adición de taninos enológicos en la vinificación en tinto de uvas Tannat, con el fin de generar conocimiento que contribuya a mejorar la calidad de los vinos tintos Tannat producidos en el Uruguay.

Los objetivos específicos incluyeron el estudio de los efectos de las técnicas citadas sobre:

- la composición fenólica
- las características cromáticas y de estabilidad del color
- las características sensoriales

de los vinos producidos con cada técnica, utilizando como testigo la vinificación en tinto tradicional.

En el anexo N°1 se adjunta un artículo preparado para la revista Agrocienza a partir de resultados generados en los ensayos desarrollados en el marco de la maestría.

## 2 MATERIALES Y MÉTODOS

En las vendimias 2010 y 2011 se realizaron ensayos de vinificación en tinto de uva Tannat. Las investigaciones consistieron en comparar la vinificación en tinto tradicional (MT) con dos alternativas: la maceración prefermentativa en frío (MPF) y la adición de taninos enológicos al mosto/vino.

En el conjunto de los ensayos pudieron ser probadas diferentes alternativas de aplicación de las técnicas citadas las que serán señaladas en cada caso.

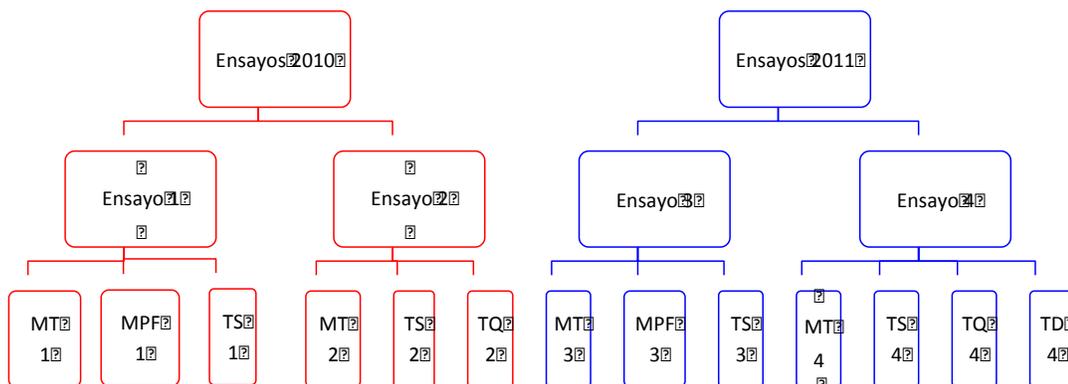


Figura 2 Esquema de las técnicas de vinificación evaluadas en cada ensayo y año correspondiente.

MT = maceración tradicional, MPF = maceración prefermentativa en frío, TS maceración con adición de taninos enológicos de uva en el encubado, TQ = maceración con adición de taninos enológicos de quebracho en el encubado, TD = tratamiento conducido como el testigo durante la vinificación y con adición de taninos enológicos de semilla al descube

### 2.1 ENSAYOS 2010

#### 2.1.1 Ensayo N°1

Este ensayo se realizó a partir de uva Tannat de un viñedo del sur del país conducido en espaldera. Las alternativas de vinificación evaluadas fueron la maceración tradicional (MT-1) que fue utilizada como tratamiento testigo, la maceración

prefermentativa en frío (MPF-1) y la maceración con adición de taninos enológicos de semilla de uva en el encubado (TS-1).

### **2.1.1.1 Composición de la uva en cosecha**

La cosecha fue realizada el 12/03 en madurez tecnológica de las uvas. En ésta se midieron los contenidos de azúcares, acidez total y pH, analizados según la metodología propuesta por O.I.V (2009). Adicionalmente fueron calculados los índices de Glories y Augustin (1993) con el fin de caracterizar la composición fenólica de la uva, analizando los antocianos según Ribéreau-Gayon y Stonestreet (1965) y la A280 nm según O.I.V (2009). Con estos objetivos se realizó un muestreo de la uva cosechada colectando 400 bayas según la metodología propuesta por Carbonneau (1991), tomando grupos de bayas de entre 3 y 5 granos de diferentes racimos y partes del racimo, en forma aleatoria del viñedo de referencia. El muestreo fue realizado por duplicado.

La mitad de los granos de cada muestra fueron utilizados para calcular los índices de Glories y Augustin (1993) con modificaciones según González-Neves et al. (2004) determinando:

- riqueza fenólica (A280)
- potencial total en antocianos (ApH1)
- antocianos extraíbles (ApH 3,2)
- índice de extractibilidad de los antocianos (EA%)
- taninos de hollejos (dpell)
- taninos de semilla (dTpep)
- % taninos de hollejo (dpell %)
- % taninos de semilla (Mp %)

Los análisis del potencial fenólico de las uvas fueron realizados a partir de la uva procesada con una licuadora Phillips de 600 W y 3 velocidades (Phillips, Eindhoven, Netherlands). Las determinaciones espectrofotométricas se realizaron con un espectrofotómetro Shimadzu UV-visible 1240 mini (Kyoto, Japón), empleando celdas de vidrio y de cuarzo de 10 mm de paso óptico para las mediciones de antocianos y riqueza fenólica respectivamente.

En todos los casos las determinaciones analíticas fueron realizadas por duplicado.

Con la restante mitad de las bayas se calculó por duplicado el peso medio de grano (utilizando una balanza Themis EEW- 11 Kg X 1E3 Kg) y las variables de composición general: acidez titulable, pH y azúcares. Estas determinaciones fueron realizadas en el jugo obtenido con un extractor de jugo Phillips HR2290 (Phillips, Eindhoven, Netherlands). Los contenidos de azúcares fueron medidos usando un refractómetro Atago N1 (Atago, Tokyo, Japón); el pH determinado con peachímetro Hanna HI8521 (Hanna Instruments, Villafranca Padovana, Italia).

#### **2.1.1.2 Cosecha de la uva – Encubado**

Las vinificaciones fueron realizadas en la bodega experimental de la Facultad de Agronomía, Universidad de la República.

La cosecha se realizó en horas de la mañana e inmediatamente fue transportada a la bodega en recipientes de plástico de 20 kg. Los mostos fueron obtenidos con una descobajadora-moledora 60 R (Italcom, Piazzola Sul Brenta, Italy) de acero inoxidable y rodillos de goma, e inmediatamente encubados. La unidad experimental fue un tanque de acero inoxidable de un hectolitro de capacidad, conteniendo el mosto correspondiente a la molienda de 70 kilos de uva. La uva fue pesada en una balanza Mettler Toledo 1000 g-150 Kg X 50g, Modelo Wildcat.

Fueron agregados en el encubado 50 mg de SO<sub>2</sub> cada 100 kg de uva y levaduras secas activas (*Saccharomyces cerevisiae* WE372; Anchor, South African) a la dosis de

15 g/hL. En las vinificaciones con MPF las levaduras se agregaron luego de suspender el tratamiento de frío y alcanzar el mosto la temperatura ambiente.

### **2.1.1.3 Vinificaciones**

En MT-1 y TS-1 las maceraciones fueron de 8 días, teniendo en consideración lo propuesto por González-Neves et al. (2003) que considera el potencial polifenólico de la uva y las condiciones de vinificación.

En TS-1 se adicionó en el encubado una dosis de 100 mg/L de taninos enológicos de semilla (el proveedor no informó sobre la marca comercial del producto) procediendo en el resto de las operaciones como en MT-1.

En la MPF-1 se agregó a partir del encubado y durante 5 días con una frecuencia de dos veces al día la cantidad necesaria de  $\text{CO}_{2(s)}$  para mantener la temperatura del mosto por debajo de 15 grados. Luego de la etapa refrigerada, se realizó la siembra de levaduras como fue definido para los restantes tratamientos y se continuó con una etapa de maceración tradicional durante 8 días.

En el transcurso de las vinificaciones se efectuaron manualmente operaciones de remontajes con baldes de 15 L de capacidad.

Mientras que el momento del inicio de los remontajes dependió de la tecnología requerida en cada ensayo, la frecuencia e intensidad de los mismos se efectuó teniendo en consideración la etapa del proceso de vinificación en que se encontrara cada tratamiento, como se expone a continuación:

En seguida de los remontajes, se practicaron bazuqueos (pigeage), de forma de uniformizar el mosto/vino en maceración y desagregar el sombrero de hollejos formado durante la fermentación.

Tabla 1 Frecuencia e intensidad de los remontajes según etapa de vinificación y proporción aproximada del volumen involucrado en cada procedimiento.

Etapa de la Vinificación	Frecuencia de remontajes	Intensidad*	
		mañana	tarde
En ausencia de fermentación activa	Mañana y tarde	55 %	55 %
En fermentación	Mañana y tarde	110 %	55 %
Mañana del prensado y tarde previa	Sin remontajes	-	-
En los 3 días siguientes al prensado	Mañana y tarde	55%	55 %
Durante tres días más, hasta desborrar		55 %	-

\* La intensidad indica el porcentaje de volumen de mosto involucrado en la operación.

Durante la maceración en frío de la MPF-1 solo se realizaron bazuqueos, comenzando los remontajes a partir de la siembra de levaduras.

Dos veces al día, luego del primer balde de remontaje (o del bazuqueo en la etapa de maceración en frío de la MPF-1) se tomaron medidas de densidad y temperatura sobre el mosto-vino de cada tanque, empleando un mostímetro Dujardin-Salleron y un termómetro A-Precision (-16-60 °C X 0,1 °C). Adicionalmente todas las mañanas se apartaron 150 mL del primer tanque de cada tratamiento para el análisis de antocianos totales (según Ribéreau-Gayon y Stonestreet, 1965), índice de polifenoles totales (A280) e intensidad colorante (Glories 1984), los cuales se hicieron inmediatamente después de tomadas las muestras. De esta forma los mostos fueron analizados cada 24 horas desde la molienda hasta el descube. Las mediciones de absorbancia se realizaron con un espectrofotómetro Shimadzu UV-visible 1240 mini (Kyoto, Japón). Se emplearon celdas de cuarzo de 1 cm de recorrido óptico para medir A280, celdas de 1 mm de vidrio para mediciones del color y de 1 cm para las restantes determinaciones en el espectro visible.

Finalizada la maceración, se procedió al prensado con una prensa de mano de acero inoxidable. Se unió el vino gota con el vino prensa, siendo conservados en recipientes de vidrio de 10 L hasta ser analizados.

Se procuró inhibir la fermentación maloláctica adicionando SO<sub>2</sub> (40 mg/L) luego del desborre. Los vinos fueron analizados al descube y tres meses más tarde.

#### **2.1.1.4 Análisis a los vinos**

La composición básica fue determinada con el analizador de Infrarrojo Winescan TM AutoSampler 79000 (Foss, USA) y el Software Foss Integrator versión 154 (Foss, Dinamarca).

La composición fenólica se evaluó mediante los índices espectrofotométricos clásicos. Los antocianos totales fueron determinados según la metodología ya descrita, los polifenoles totales se evaluaron utilizando el reactivo de Folin Ciocalteu (Singleton y Rossi, 1965), las catequinas a través del método de Swain y Hillis (1959) y las proantocianidinas por hidrólisis ácida (Ribéreau-Gayon y Stonestreet, 1966). Se determinó un índice de polimerización de los taninos, a partir de los fenoles reactivos a p-dimetilaminocinamaldehído (DMACH), siguiendo el método propuesto por Vivas et al. (1994).

Los polifenoles totales fueron expresados en mg de ácido gálico por litro, los antocianos en mg de malvidin 3-glucósido por litro, las catequinas en mg de D-catequina por litro y las proantocianidinas en mg de cloruro de cianidina por litro. El índice de polimerización de los taninos fue calculado como el cociente entre el valor DMACH y el contenido de proantocianidinas.

Las mediciones espectrofotométricas se realizaron con el espectrofotómetro descrito precedentemente durante las maceraciones y con un espectrofotómetro Shimadzu UV-visible 1800 (Kyoto, Japón) en los vinos. Se emplearon celdas de vidrio de 1 mm de paso óptico para las mediciones del color y de 10 mm para las restantes determinaciones de absorbancia.

El color de los vinos fue estimado utilizando los índices propuestos por Glories (1984) y a través del sistema propuesto por Bakker et al., (1986) conocido como

CIELAB (Commission Internationale de l'Eclairage) calculando las variables C\*, L\*, a\* y b\* de acuerdo con lo propuesto por Ayala et al. (1997). Se calcularon igualmente los índices de copigmentación según lo propuesto por Boulton (2001), determinando las componentes del color debidas a copigmentación, antocianos y polímeros.

Un análisis sensorial descriptivo cuantitativo fue realizado a los 3 meses del descube, mediante el empleo de escalas no estructuradas, que consideraron las variables sensoriales de mayor importancia en los vinos tintos. Participaron diez degustadores, integrantes de los equipos de trabajo de Enología y Viticultura de la Facultad de Agronomía.

### **2.1.2 Ensayo N°2**

Para este ensayo se utilizó uva Tannat proveniente de un viñedo comercial del sur del país (Canelones) conducido en lira. Se compararon diferentes alternativas de vinificación con adición de taninos enológicos frente a un tratamiento testigo (MT-2) correspondiente a la maceración tradicional.

#### **2.1.2.1 Análisis de composición de la uva**

En este ensayo la composición de la uva fue analizada por duplicado en la cosecha, determinando la composición general y los índices de Glories y Augustin (1993) con la metodología descrita precedentemente.

Se empleó un tanque por tratamiento, utilizando 70 Kg de uva para cada vinificación.

En los tres tratamientos la duración de la maceración se fijó en 7 días teniendo en cuenta lo definido por González-Neves et al. (2003).

En los ensayos con adición de taninos enológicos fueron agregados taninos de semilla de uva y de quebracho (Protan Pépin y Protan Bois, AEB, Bresia), TS-2 y TQ-2

respectivamente, a la dosis de 100 mg/L en el encubado. En las restantes operaciones no hubo modificaciones respecto a MT-2.

#### **2.1.2.2 Análisis de los vinos**

Los vinos se analizaron a los 3 meses del descube siendo determinada la composición general, los índices de color según Glories (1984), así como los índices de copigmentación (Boulton, 2001), las familias fenólicas y el índices de polimerización de los taninos según los métodos ya descritos.

#### **2.1.2.3 Análisis sensorial**

Con la metodología y el panel de degustación especificado para el ensayo N°1, se realizó el análisis sensorial descriptivo cuantitativo de los vinos a los 3 meses del descube.

### **2.2 ENSAYOS 2011**

En la vendimia 2011 fueron reiterados los ensayos realizados en la vendimia 2010 con modificaciones en función de la experiencia generada y de forma de poder evaluar variantes en la aplicación de las técnicas.

#### **2.2.1 Ensayo n°3**

Para este ensayo se partió de uva proveniente de un viñedo comercial del sur del país (Canelones), conducido en espaldera.

Las alternativas de vinificación comparadas fueron, la maceración tradicional que fue tomada como tratamiento testigo (MT-3), la maceración prefermentativa en frío (MPF-3) y la maceración con adición en el encubado de taninos enológicos de semilla (TS-3).

En MT-3 el tiempo de maceración definido fue de 8 días teniendo en cuenta lo descrito por González-Neves et al. (2003).

En la vinificación TS-3, se utilizó la fuente de tanino comercial señalada para el ensayo N°1 (año 2010), incluyendo dos variantes respecto a la vendimia anterior; el aumento de la dosis a 200 mg/L y la reducción del tiempo de maceración a 5 días en lugar de los 8 definidos para el tratamiento testigo. En las restantes operaciones se procedió como fue definido para la MT-1.

En la MPF-3 se incluyeron dos modificaciones respecto al año 2010. La refrigeración del mosto se realizó mediante intercambiadores de calor, sumergiendo recipientes conteniendo agua congelada a partir del encubado. Los mismos fueron reemplazados dos veces al día procurando mantener la temperatura por debajo de los 15 °C de forma de evitar el comienzo de la fermentación. La etapa refrigerada fue de 5 días, a continuación de la cual se realizó la siembra de levaduras secas activas. La segunda modificación incluida fue el tiempo de maceración posterior al tratamiento térmico, el cual se redujo respecto al año anterior y a MT-3 siendo de 5 días.

#### **2.2.1.1 Composición de la uva en cosecha**

Se realizó el análisis de la composición de la uva en cosecha, general y fenólica según los índices de Glories y Agustín (1993), procediendo a tales efectos como fue descrito precedentemente.

#### **2.2.1.2 Análisis de los vinos**

Los vinos fueron analizados al desborre, a los 4, a los 8 y a los 14 meses luego de finalizada la fermentación alcohólica.

Al desborre fue determinado pH, color según Glories (1984), color según CIELAB (Bakker et al., 1986), polifenoles totales y antocianos totales, con las metodologías descritas anteriormente.

A los cuatro meses fue determinada la composición general según la metodología descrita precedentemente para el equipo winescan. También fueron incluidos los análisis de índice de copigmentación, las proantocianidinas y el índice de polimerización de los taninos según las metodologías ya mencionadas. Para las determinaciones espectrofotométricas se utilizó un espectrofotómetro Shimadzu UV-1240 mini (Kyoto, Japón) durante las maceraciones, descube y 4 meses, y un espectrofotómetro Cole-Parmer S2100-UV+ (Illinois, USA) a los 8 y 14 meses.

Los componentes volátiles mayoritarios se analizaron con un cromatógrafo de gases Agilent 6890N con detector de ionización de llama (GC-FID) (Agilent Tech., USA), realizando una inyección directa de los vinos, de acuerdo con Bertrand (1993).

Por cromatografía de líquidos se determinó el contenido de los siguientes ácidos:

- málico
- tartárico
- láctico

Para este fin fue utilizado un sistema cromatográfico equipado con dos bombas Shimadzu LC-10ADvp (Kyoto, Japón) y un detector de arreglo de diodos Shimadzu DPD-M10 vp (Kyoto, Japón) y un degasificador Shimadzu DGU-12A (Kyoto, Japón). Se utilizó una columna Lichrosorb (Phenomenex, California-USA) RP18, 250 – 4,60 mm, 5 µm de tamaño de partícula, la cual fue mantenida en un horno Shimadzu CTO-10 AS vp, a una temperatura constante de 25°C. El flujo fue de 1 mL/min. El análisis se hizo en fase isocrática siendo el solvente utilizado H<sub>2</sub>O acidificada a pH 2,3 con ácido fosfórico. Las inyecciones de las muestras fueron de 20 µL. En todos los casos se realizaron dos repeticiones por muestra.

Antes de que las muestras fueron inyectadas directamente en el cromatógrafo fueron filtradas con membrana 0,45 µm. Los solventes fueron igualmente filtrados con el mismo tipo de membrana.

El reconocimiento de cada compuesto se realizó teniendo en cuenta el tiempo de retención definido previamente para los estándares de cada ácido bajo las mismas condiciones cromatográficas en que se analizaron las muestras.

La determinación cuantitativa de la concentración de los ácidos en el vino fue hecha utilizando la curva de calibración realizada previamente con los estándares. Las curvas de calibración fueron obtenidas por inyección de soluciones de los estándares de cada ácido, bajo las mismas condiciones cromatográficas que para la inyección de las muestras, en el rango de concentraciones esperadas.

A los 8 meses se analizó color (Glories y CIELAB), familias fenólicas incluyendo catequinas y proantocianidinas.

Finalmente en el análisis de los 14 meses se registró el color de los vinos (Glories y CIELAB) y familias fenólicas (antocianos, polifenoles totales, catequinas y proantocianidinas) según las metodologías descritas precedentemente. Se incluyó un análisis sensorial descriptivo cuantitativo según la metodología presentada anteriormente. El panel fue integrado por 14 personas vinculadas a la cátedra de Enología de Facultad de Agronomía.

#### **2.2.2 Ensayo No 4:**

Se partió de uva proveniente de un viñedo comercial del sur del país (Canelones), conducido en espaldera.

En este ensayo se reiteró la experiencia de evaluar diferentes alternativas de vinificación con taninos enológicos frente a un tratamiento testigo (MT-4) correspondiente a la maceración tradicional. Las alternativas a MT-4 fueron la maceración con adición en el encubado de taninos enológicos de semilla (TS-4) y quebracho (TQ-4), y la adición al descube de taninos enológicos de semilla (TD-4).

### **2.2.2.1 Composición de la uva en cosecha**

En cosecha se analizó la composición general y fenólica de la uva según los métodos descritos precedentemente.

### **2.2.2.2 Vinificaciones**

La conducción de MT-4 fue realizada según lo señalado para una vinificación tradicional, siendo las maceraciones de 8 días. En cada caso se procesaron 70 Kg de uva por unidad experimental siguiendo los protocolos de bodega ya descritos.

Las alternativas de vinificación consistieron en la adición en el encubado de 200 mg/L de taninos enológicos de semilla y quebracho, TS-4 y TQ-4 respectivamente. En TS-4 se utilizó la misma fuente comercial de taninos definida para el ensayo N°1, mientras para TQ-4 se empleó la misma fuente comercial que para el ensayo N° 2 del año 2010. Adicionalmente se incluyó una tercer alternativa de vinificación con taninos enológicos definida como TD-4 (adición de taninos enológicos en el descube). En ésta, el vino fue realizado con el protocolo descrito para MT-4 hasta el descube, luego del cual se agregó una dosis de 200 mg/L de la misma fuente de taninos de semillas de uva utilizada en TS-4. El tratamiento se aplicó a una única unidad experimental, mientras que en MT-4, TS-4 y TQ-4 se realizaron dos vinificaciones por alternativa estudiada. Los tratamientos no incluyeron otras modificaciones que las descritas respecto a MT-4.

En las vinificaciones con adición de taninos, la dosis se incrementó en 100 mg/L en relación al ensayo N° 2 (año 2010).

### **2.2.2.3 Análisis de los vinos**

Los vinos fueron analizados al desborre y 4, 8 y 14 meses más tarde.

Al desborre fue determinado el pH, el color según Glories (1984) y CIELAB (Bakker et al., 1986), polifenoles totales y antocianos totales, según las metodologías

descriptas precedentemente. En este momento analítico no fueron incluidos los vinos TD-4 por coincidir con el momento de la aplicación de dicho tratamiento. Esta decisión ha sido empleada por otros autores (Harbertson et al., 2012) al considerar que se necesita un determinado tiempo para que los taninos adicionados se integren en el vino.

A los cuatro meses fue determinada la composición general con el equipo Winescan descrito anteriormente. Los índices de copigmentación, las proantocianidinas y el índice de polimerización de los taninos igualmente fueron realizados según las metodologías mencionadas.

También se determinó el contenido de compuestos volátiles y ácidos orgánicos mayoritarios según la metodología descrita anteriormente.

A los 8 meses se analizó el color de los vinos (Glories y CIELAB) y las familias fenólicas incluyendo catequinas y proantocianidinas.

Finalmente en el análisis de los 14 meses se registró el color de los vinos (Glories y CIELAB) y las familias fenólicas (antocianos, polifenoles totales, catequinas y proantocianidinas) según las metodologías ya descritas.

Las determinaciones espectrofotométricas fueron realizadas según fue desarrollado para el ensayo N°3.

### **2.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

El análisis estadístico consistió en el análisis de varianza de las variables consideradas y separación de medias por Tukey al 5% utilizando el software Infostat versión Estudiantil.

### **3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

#### **3.1 Ensayo N°1**

##### **3.1.1 Composición de la uva en cosecha**

En la cosecha se realizaron determinaciones de composición general y fenólica de las uvas a emplear en los ensayos.

###### **3.1.1.1 Composición general**

El contenido de azúcares y el pH en cosecha muestran que la uva no alcanzó los valores esperados para la variedad en años de adecuadas condiciones climatológicas para la maduración de la uva (tabla 2).

Tabla 2 Composición general de la uva en cosecha

Azúcares (g/L)	Acidez Total (g/L)	pH
201,1	4,8	3,26

Acidez expresada en g/L de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

###### **3.1.1.2 Composición fenólica**

La uva en cosecha tuvo registros de polifenoles totales y antocianos bajos en relación a reportes previos del potencial de la variedad en similares condiciones productivas (González-Neves et al., 2012, González-Neves et al., 2004).

Tabla 3 Caracterización fenólica de la uva en cosecha

A280	ApH 1	ApH 3,2	EA%	dpell	dTpep	%dpell	Mp%
47,2	1887,0	861,0	54,4	34,5	12,6	72,6	27,4

A280 índice de polifenoles totales, ApH1 potencial en antocianos totales, ApH3,2 potencial en antocianos extraíbles, EA% índice de extractibilidad de los antocianos, Mp% porcentaje de taninos en las semillas, dpell taninos en los hollejos, dpell% porcentaje de taninos en los hollejos, dTpep taninos en las semillas.

Al mismo tiempo los antocianos presentaban baja extractibilidad (alto valor de EA%) por lo que no serían extraídos con facilidad de la uva al mosto durante la vinificación. En cuanto a la ubicación de los taninos en las uvas, el mayor porcentaje se encontraba en los hollejos en magnitud similar a lo reportado para Tannat en trabajos previos (González-Neves et al., 2012, González-Neves et al., 2004).

### 3.1.2 Vinificaciones

Independientemente del tratamiento considerado, los contenidos de antocianos totales (AT), índice de polifenoles totales (IPT) y valores de intensidad colorante (IC) registraron un máximo con un posterior descenso (figuras 3, 4 y 5).

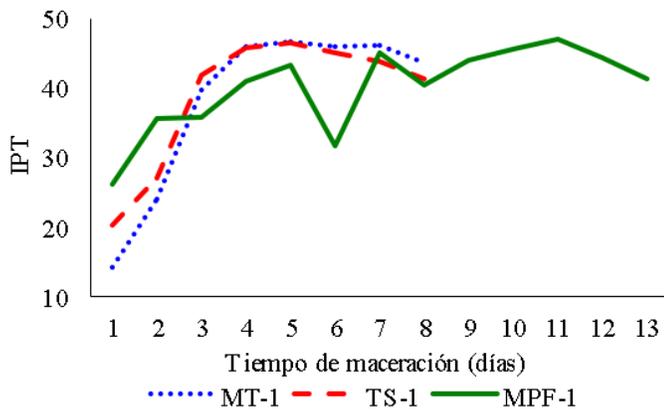


Figura 3 Índice de polifenoles totales según tratamiento y tiempo de maceración  
MT-1 = maceración tradicional; TS-1 maceración con adición de taninos de semilla de uva en el encubado; MPF-1 = maceración prefermentativa en frío; IPT = índice de polifenoles totales

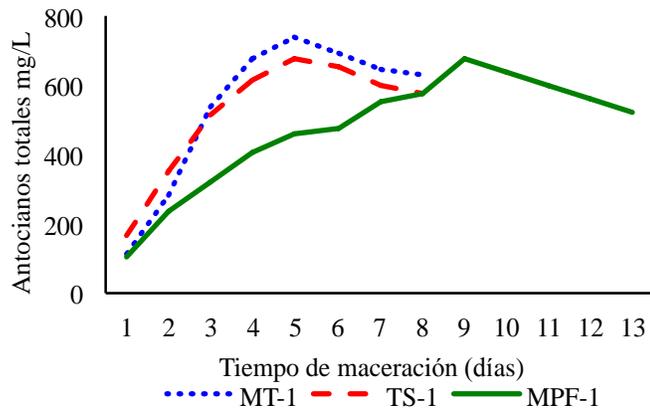


Figura 4 Antocianos totales según tratamiento y tiempo de maceración. MT-1 = maceración tradicional; TS-1 maceración con adición de taninos de semilla de uva en el encubado; MPF-1 = maceración prefermentativa en frío. Antocianos expresados en mg/L de malvidina-3-glucósido.

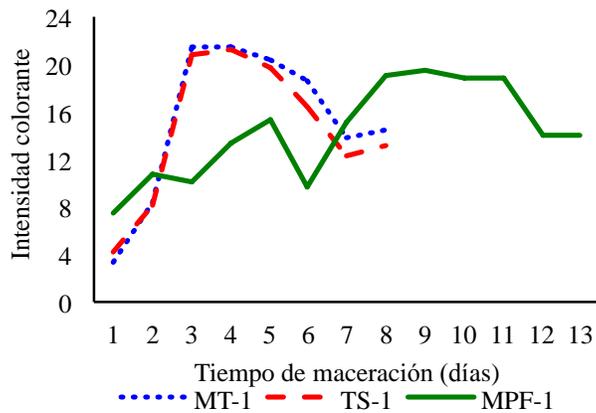


Figura 5 Intensidad colorante según tratamiento y tiempo de maceración. MT-1 = maceración tradicional; TS-1 maceración con adición de taninos de semilla de uva en el encubado; MPF-1 = maceración prefermentativa en frío

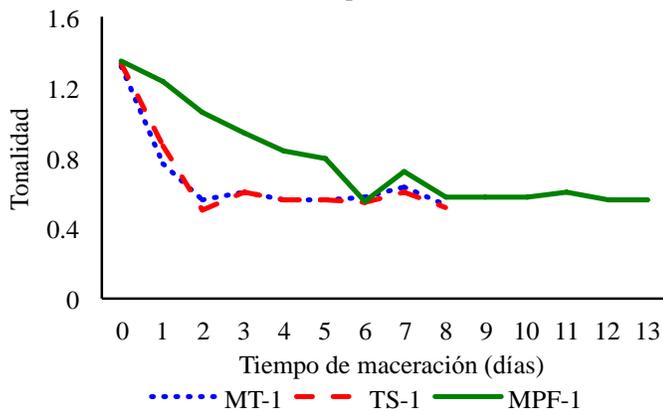


Figura 6 Tonalidad según tratamiento y tiempo de maceración. MT-1 = maceración tradicional 1; TS-1 = maceración con adición de taninos de semilla en encubado; MPF-1 = maceración prefermentativa en frío

Las tasas de incremento de antocianos y color durante la fase prefermentativa de la MPF-1 fueron muy inferiores a las observadas en los mostos/vinos sin control térmico como ha sido reportado en trabajos anteriores (Casassa et al., 2008, González-Neves et al., 2008, Zini et al., 2003, Feuillat 1997). Estos últimos tratamientos registraron el máximo de antocianos al quinto día, mientras que en la MPF se alcanzaron cuatro días más tarde. Lo observado está de acuerdo a lo señalado por Kennedy (2008), quien expresa que para los antocianos, a mayor temperatura de maceración menor el tiempo en que se alcanza su máxima concentración y mayor el valor alcanzado en dicho punto. Al término del tratamiento térmico, se habían acumulado cerca de 450 mg/L de antocianos en el mosto, 38 % inferior a los contenidos de MT-1 en el mismo momento, equivalente a los niveles presentados por MT-1 y TS-1 en el tercer día de maceración. Resultados similares se han obtenido al término de la maceración en frío en experiencias anteriores (González-Neves et al., 2008).

Como se puede apreciar en la figura 3, los niveles de IPT también descendieron hacia el final de la maceración en todos los tratamientos, a diferencia de lo que se ha reportado en otros trabajos (González-Neves et al., 2008, Marais 2003) donde los contenidos permanecen estables luego de alcanzar un máximo los primeros días de maceración. Esto podría ser consecuencia de una mayor incidencia de las pérdidas por adsorción y fijación sobre las levaduras y las partes sólidas de las uvas en las condiciones de maceración que se generan en la vinificación de pequeños volúmenes. Sin embargo las condiciones de maceración fueron similares a las reportadas por González-Neves et al. (2008). Hanlin et al. (2010) señalan que la extracción de taninos de la uva al vino está limitada por su interacción con los componentes de las paredes celulares. Por lo tanto variaciones en sus estructuras en vendimias diferentes, cambiarían la capacidad para retener los taninos y por lo tanto su extractibilidad.

En cuanto a la acumulación relativa de AT e IPT durante el tratamiento de frío, se observó que la de antocianos fue más lenta que la de polifenoles totales (tabla 4)

contrariamente a lo citado en otros trabajos (Casassa et al., 2008, González-Neves et al., 2008, Marais 2003).

A diferencia de los antocianos, los mostos de la MPF-1 registraron los mayores valores de IPT los primeros días de maceración indicando que otras familias de compuestos fenólicos pudieron ser extraídos con mayor facilidad que los antocianos en la etapa considerada.

Tabla 4 Diferencias porcentuales en el contenido de antocianos totales en mg/L de malvidina-3-glucósido (AT) y en el índice de polifenoles totales (IPT) entre la maceración tradicional (MT-1) y la maceración prefermentativa en frío (MPF-1), y entre MT-1 y la maceración con adición de taninos enológicos (TS-1), durante los días de maceración en frío.

Días de maceración	% de AT en TS-1 respecto a MT-1	% de IPT en TS-1 respecto a MT-1	% de AT en la MPF-1 respecto a MT-1	% de IPT en la MPF-1 respecto a MT-1
1	46,1	43,0	-8,1	84,1
2	26,4	12,4	-17,2	49,1
3	-4,1	5,3	-40,3	-9,0
4	-9,0	-1,2	-39,2	-11,3
5	-8,0	0,0	-38,1	-7,2

Estos resultados difieren de los reportados en experiencias previas (González-Neves et al., 2010ab, 2008). Las diferencias constatadas con los resultados de otros trabajos podrían deberse a un efecto diferente de la técnica de vinificación según las características de la uva vinificada.

Si bien luego de la etapa de maceración en frío las concentraciones de AT e IPT continuaron aumentando, los contenidos finales de estos compuestos en el vino MPF-1 fueron inferiores a los verificados en el MT-1.

El mosto del tratamiento TS-1 tuvo contenidos de polifenoles totales (IPT) inicialmente superiores a MT-1, como sería esperable tras el agregado de los taninos enológicos (figura 3) y ha sido reportado por otros autores (Baiano et al., 2007). Sin embargo, las diferencias fueron disminuyendo en el transcurso de la maceración, finalizando con un valor inferior al testigo (Tabla 4). Una evolución similar fue

observada en la acumulación de antocianos (Figura 4). Cheynier et al. (2006) indican que el grado de polimerización aumenta con la concentración de taninos mientras Zamora (2003) y Vivas et al. (2002) expresan que los procesos de polimerización pueden conducir a la formación de moléculas suficientemente grandes como para precipitar. Al mismo tiempo no es posible asegurar que los taninos comerciales se integren y comporten en el vino de la misma forma que los que naturalmente difunden de la uva durante la vinificación (Vivas et al., 2002).

La evolución de la intensidad colorante (IC) fue similar en los mostos/vinos de MT-1 y TS-1 (figura 5), a diferencia de lo reportado por Bautista-Ortín et al. (2005) que reportan mayor IC en los mostos con adición de taninos.

Estos tratamientos tampoco difirieron en tonalidad (figura 6), lo que implica que no hubo evidencia de un efecto de protección de los taninos enológicos agregados ante eventuales procesos oxidativos, en contraste con lo reportado por algunos autores (Sanz et al., 2008, Celotti et al., 1999) y a lo anunciado comercialmente. Sin embargo en otros trabajos se reportan resultados similares (Bautista-Ortín et al., 2005).

En el mosto MPF-1 la IC fue muy superior a la medida en MT-1 y TS-1 durante las primeras 48 hs de maceración a diferencia de lo presentado por otros autores (Casassa et al., 2008, Koyama et al., 2007, Feuillat 1997,). Dicho incremento se debió principalmente a elevadas absorbancias en 420 nm (color amarillo) y 620 nm (color azul). La absorbancia a 520 nm (color rojo) fue el componente de la IC más afectado en la etapa prefermentativa (datos no presentados), y en consecuencia la tonalidad fue muy alta en dicho período (figura 6). Altas tonalidades en la etapa citada han sido reportadas por otros autores (Casassa et al., 2008) sin bien las diferencias fueron menores que en los presentes ensayos. En sus ensayos la extracción de AT e IPT fueron afectadas en forma similar durante la MFP. En nuestra investigación la relación antocianos/taninos fue muy baja en los mostos MPF-1 en relación a MT-1 y TS-1 sugiriendo que podría ser la causa de lo observado. Posteriormente durante el proceso de maceración convencional

todos los tratamientos tuvieron tonalidades similares entre sí (figura 6), al igual que ha sido reportado por otros autores (Casassa et al., 2008).

El máximo de IC en el vino MPF-1 se registró al cuarto día de maceración convencional y su valor fue inferior al registrado en MT-1, igualmente a lo observado para los AT.

Al final de las maceraciones los valores de IC fueron similares en los tratamientos MT-1 y MPF-1, mientras en TS-1 se registró cerca de una unidad menos de IC (figura 5). Por lo tanto las técnicas alternativas a MT-1 evaluadas, no permitieron incrementar el color del vino durante el encubado.

### 3.1.3 Análisis de los vinos al descube

#### 3.1.3.1 Composición general

Los resultados analíticos de los parámetros enológicos clásicos (tabla 5) muestran que los vinos elaborados con las diferentes alternativas no difirieron significativamente en grado alcohólico, lo que es una constatación de la homogeneidad de composición de los lotes de uvas destinados a los distintos tratamientos. Sus valores estuvieron en relación a la composición de la uva vinificada.

Tabla 5 Análisis de los parámetros enológicos clásicos en los vinos al descube según tratamiento.

Tratamiento	Alcohol	Acidez Total g/L	Acidez Volátil	pH	Extracto seco g/L	Azúcares g/L
MT-1	10,8 a	5,2 a	0,1 a	3,44 a	29,6 a	1,6 a
TS-1	10,6 a	5,3 a	0,1 a	3,42 a	29,7 a	1,5 a
MPF-1	10,5 a	5,2 a	0,1 a	3,46 a	29,9 a	1,4 a

Maceración tradicional (MT-1), maceración con adición de taninos enológicos (TS-1), maceración prefermentativa en frío (MPF-1). Acidez total y volátil expresadas en g/L de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

Los niveles de acidez volátil fueron muy bajos, lo que refleja las buenas condiciones sanitarias en que se realizaron las vinificaciones, y que la conducción de la vinificación no dio lugar al desarrollo de microorganismos de alteración. En el caso de la MPF-1 indica que el tratamiento de frío sumado a la adición en el encubado de anhídrido sulfuroso fueron efectivos impidiendo el desarrollo de organismos indeseados.

Los contenidos de azúcares residuales indican que las fermentaciones fueron completas en todos los casos. Por su parte no hubo diferencias importantes entre tratamientos en los contenidos de extracto seco, no reflejándose a nivel de esta variable que la MPF-1 haya incrementado la acumulación de compuestos en el vino.

### 3.1.3.2 Alcoholes superiores

Los alcoholes superiores son alcoholes de más de 2 átomos de carbono producidos por las levaduras principalmente como subproductos del metabolismo de aminoácidos y que contribuyen a la complejidad aromática del vino (Jackson, 2008).

En estos estudios los contenidos de alcoholes superiores si bien estuvieron dentro del rango de 150 a 550 mg/L reportado para vinos (Jackson 2008, Ribéreau-Gayon et al., 2006), fueron contenidos elevados en todos los tratamientos.

Tabla 6 Alcoholes superiores en los vinos según tratamiento

Tratamiento	1-propanol mg/L	2-metil-1- propanol mg/L	2-3-metil-1-butanol mg/L	Total Alc. Sup. mg/L
MT-1	52,6	80,3	272,1	405,0
TS-1	59,5	85,7	274,3	419,4
MPF-1	53,3	91,2	285,2	430,1

Maceración tradicional (MT-1), maceración con adición de taninos enológicos (TS-1), maceración prefermentativa en frío (MPF-1). Alc.Sup = alcoholes superiores.

Los vinos MPF-1 tuvieron los mayores contenidos, como resultado de mayores concentraciones de 2-metil-1-propanol y 2-3metil-1-butanol. Fueron niveles donde su contribución al aroma del vino puede ser evaluada como negativa (Ribéreau-Gayon et al., 2006).

### **3.1.3.3 Familias fenólicas**

Como fue señalado, al descube se junto el vinos gota y el prensa, lo que puede explicar los cambios de concentración observados respecto al último análisis en maceración. Sin embargo en términos de contenidos en AT se mantuvieron las diferencias entre tratamientos (Tabla 7). Los vinos MPF-1 tuvieron los menores contenidos de antocianos, diferencias que fueron importantes respecto a los MT-1 (superior a 100 mg/L) y en menor medida frente los obtenidos con TS-1.

Por lo tanto, se confirmó lo observado en el seguimiento de las maceraciones, el tiempo adicional de maceración en frío no aumentó el contenido de antocianos en los vinos. Este resultado concuerda con lo observado en algunas experiencias previas realizadas con Tannat (González-Neves et al., 2010b y 2008) pero es contradictorio con lo reportado en otros estudios (Casassa et al., 2008, Gómez-Míguez et al., 2007, Álvarez et al., 2006, Catania et al., 2006) que han trabajado con otras variedades de uvas y condiciones de ensayo.

Respecto a las familias fenólicas que incluyen a los flavanos, (polifenoles totales, catequinas y proantocianidinas), se registraron en todos los casos los mayores valores en los vinos producidos con MPF-1, notoriamente en las catequinas.

Cabe destacar que en trabajos previos en similares condiciones experimentales las catequinas fueron superiores a las registradas en los tratamientos testigo, aún cuando el resto de las familias fenólicas tuvieron contenidos significativamente inferiores a éste (Gustavo González-Neves, comunicación personal, diciembre de 2008).

Tabla 7 Familias polifenólicas al descube según tratamiento.

	Antocianos Totales	Polifenoles Totales	Catequinas	Proantocianidinas
MT-1	706,2 a	1249,0 b	890,0 c	1604,1 c
TS-1	644,1 b	1267,4 b	1042,3 b	1720,2 b
MPF-1	592,3c	1400,1 a	1680,3a	1952,3 a

Maceración tradicional (MT-1), maceración con adición de taninos enológicos (TS-1), maceración prefermentativa en frío (MPF-1). Antocianos expresados en mg/L de malvidina-3-glucósido, polifenoles totales en mg/L de ácido gálico, catequinas en mg/L de D-catequina, proantocianidinas en mg/L de cloruro de cianidina.

A su vez lo observado es consistente con lo discutido acerca del mayor IPT en los mostos MPF-1 las primeras horas de maceración desde que son compuestos hidrosolubles (Cheynier et al., 2006) y con al estado de maduración de la uva, ya que sus contenidos son más elevados en uva inmadura (Hanlin et al., 2010). Sin embargo, se debe tener en consideración que el tiempo total de maceración en el tratamiento MPF-1 fue 5 días superior a los restantes. Soto-Vázquez et al. (2010), Koyama et al. (2007), reportan menores contenidos de taninos en los vinos MPF respecto al testigo. Sin embargo en sus ensayos en ambos tratamientos se fijó el mismo tiempo de maceración total.

En los presentes ensayos la duración de la maceración fue planificada teniendo en cuenta las condiciones de la vinificación en escala reducida, el descenso en la tasa de extracción en la fase prefermentativa reportada previamente (González-Neves et al., 2008), y considerando que la extracción de taninos de semilla sería limitada en ausencia de etanol (Vrhovsek et al., 2002, Amrani y Glories, 1994).

Finalmente, en oposición a lo buscado con la técnica, la MPF-1 dio lugar a los vinos con la mayor concentración de taninos en relación a la de antocianos (figura 7).

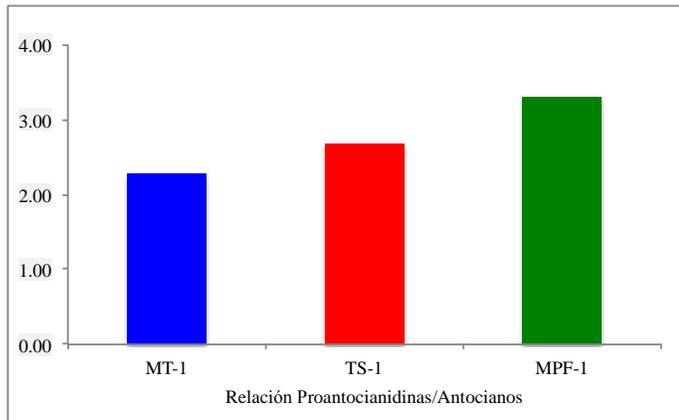


Figura 7 Relación Proantocianidinas/Antocianos según tratamiento.  
 MT-1 = maceración tradicional 1; TS-1 = maceración con adición de taninos de semilla en encubado;  
 MPF-1 = maceración prefermentativa en frío

En cuanto al tratamiento con adición de taninos enológicos, tuvo en los vinos mayores concentraciones de catequinas y proantocianidinas en relación a los MT-1 (tabla 7). La principal diferencia estuvo en el contenido de catequinas, lo que está de acuerdo con lo reportado por Koyama et al. (2007) sobre que los taninos de semilla se caracterizan por un bajo grado de polimerización.

### 3.1.3.4 Color

Al descube, los vinos generados con MT-1 tuvieron una IC superior a los restantes tratamientos (tabla 8) producto de mayor absorbancia a 420 nm y particularmente a 520 nm (datos no presentados). Estos resultados son coincidentes con investigaciones de MPF en Tannat realizadas previamente (González-Neves et al., 2010b).

Respecto a la calidad del color, los vinos realizados con MPF-1 tuvieron la mayor tonalidad lo que podría ser asociado a la ocurrencia de fenómenos oxidativos en la etapa prefermentativa. Sin embargo Catania et al. (2006) señala que cuando se utiliza CO<sub>2</sub>(s) como refrigerante, su sublimación satura el mosto de CO<sub>2</sub>, desplazando al oxígeno. Por lo tanto el menor contenido de antocianos y relación polifenoles totales/antocianos de los vinos MPF-1 podrían explicar los valores de tonalidad observados en éstos.

Tabla 8 Intensidad colorante, tonalidad e índices de copigmentación en el vino al descube según tratamiento.

Tratamiento	IC	Tonalidad	A	C	P
MT-1	13,4 a	0,43 b	3,3 a	4,0 a	0,94 a
TS-1	12,2 b	0,42 b	2,8 b	3,6 b	0,85 b
MPF-1	12,4 b	0,47 a	3,1 a	3,4 c	0,70 c

IC = intensidad colorante; Color debido a antocianos (A), color debido a copigmentación (C), color debido a polímeros (P). Maceración tradicional (MT-1), maceración con adición de taninos enológicos (TS-1), maceración prefermentativa en frío (MPF-1).

Los vinos elaborados con MT-1 y TS-1 tuvieron valores similares entre sí de tonalidad por lo que no hubo signos de que el agregado de taninos mejorara la calidad del color en correspondencia con lo reportado por Bautista-Ortín et al. (2005). Igualmente Parker et al. (2007) y Delteil (2000) no hallaron que el empleo de taninos enológicos mejorara el color del vino en las diferentes variedades y modalidades en que los emplearon. Parker et al. (2007) concluyeron que cuando naturalmente existe una concentración adecuada de taninos en el vino no es de esperar que los adicionados se solubilizan en una proporción importante ni que interactúen en forma significativa con los componentes del vino. No obstante los niveles de taninos presentados por los vinos al descube fueron considerablemente inferiores a los citados para Tannat en otros trabajos (González-Neves et al. 2004). Si bien los autores no definen que sería una concentración adecuada, los vinos Tannat como fue mencionado, se caracterizan por presentar niveles muy elevado de taninos en uvas y vinos en relación a otras variedades tintas (González-Neves et al. 2012).

Al evaluar el color según CIELAB (tabla 9) se observó que los vinos MT-1 fueron los más oscuros (menor L\*) de mayor saturación (valor C\*) y de mayor cromaticidad roja (valor a\*), al igual que los vinos TS-1 en relación a los MPF-1. Estos resultados reafirman que MT-1 produjo los vinos de mejor características cromáticas mientras MPF-1 los menos valorados en este sentido.

Tabla 9 Color CIELAB de los vinos al descube según tratamiento

Tratamiento	L*	C*	a*	b*
MT-1	46,2	59,4	59,2	3,7
TS-1	48,9	58,9	58,8	1,9
MPF-1	47,6	55,5	55,4	2,6

MT-1 = maceración tradicional, TS-1 = maceración con adición en encubado de taninos de semilla de uva, MPF-1 = maceración prefermentativa en frío. L\* = luminosidad; C\* = saturación; a\* = cromaticidad roja; b\* = cromaticidad amarilla.

En cuanto a los índices de copigmentación (tabla 8), MT-1 dio lugar a los vinos con mayor color debido a pigmentos poliméricos (P) y a copigmentación (C) y, junto a MPF-1, al mayor color debido a antocianos libres (A) (Cuadro). Se aprecia que los mayores valores de estos índices se encontraron en los tratamientos que tuvieron los mayores contenidos de antocianos (Cuadro 3). Versari et al. (2008) hallaron que la copigmentación se explicaba casi completamente por los niveles de pigmentos monoméricos (antocianos), lo que coincide con nuestros resultados, y no por el de taninos como citan otros trabajos (Boulton, 2001).

### **3.1.4 Análisis de los vinos a los 3 meses del descube**

#### **3.1.4.1 Composición general**

Comparando los resultados obtenidos al descube con las mediciones realizadas a los 3 meses de finalizada la fermentación alcohólica, se observa que hubo una disminución de la acidez total y el extracto seco, así como un incremento del pH, indicando que hubo precipitación de elementos que se encontraban en el vino.

Tabla 10 Composición general de los vinos a los 3 meses

Tratamiento	Grado alcohólico	pH	Ac. Volátil (g/L)	Acidez Total (g/L)	Extracto seco (g/L)	Az. Reductores (g/L)
MT-1	10,8	3,58	0,3	3,6	26,0	1,5
TS-1	10,6	3,45	0,3	3,7	25,2	1,6
MPF-1	10,6	3,30	0,3	3,7	25,4	1,3

MT-1 = maceración tradicional; TS-1 = maceración con adición en encubado de taninos de semilla de uva; MPF-1 = maceración prefermentativa en frío. Ac. = acidez, Az = azúcares. Acidez total y volátil expresadas en g/L de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

Es citado que en dicho período se registran precipitaciones de sales tartáricas que pueden incluir a moléculas de polifenoles en el proceso (Ribéreau-Gayon et al., 2006), lo que explicaría la evolución de las variables citadas.

### 3.1.4.2 Composición fenólica

En la tabla 11 se muestran los valores de las variables relacionadas con la composición fenólica del vino a los 3 meses luego de finalizar la fermentación alcohólica.

Tabla 11 Composición fenólica del vino e índices asociados a los 3 meses del descube.

Trat.	Antocianos mg/L	Polifenoles Totales mg/L	Catequinas mg/L	Proantocianidinas mg/L	Índ.Pol.Tan mg/L
MT-1	449,1	1225,2	812,1	1662,3	44,5
TS-1	407,2	1261,4	957,2	1807,3	42,7
MPF-1	402,0	1443,3	1232,1	2320,1	42,7

Trat. = tratamiento; MT-1 = maceración tradicional; TS-1 = maceración con adición en encubado de taninos de semilla de uva; MPF-1 = maceración prefermentativa en frío. Índ.Pol.Tan = índice de polimerización de los taninos. Antocianos expresados en malvidina-3-glucósido; Polifenoles totales expresados en ácido gálico; catequinas expresadas en D-catequina; Proantocianidinas expresadas en cloruro de cianidina.

El contenido en antocianos totales descendió significativamente acorde con lo esperado. Fulcrand et al. (2006) describe los mecanismos por los cuales los antocianos participan en diferentes reacciones para formar otras especies moleculares, las que resumidamente se presentan en la figura 8 tomada de He et al. (2012).

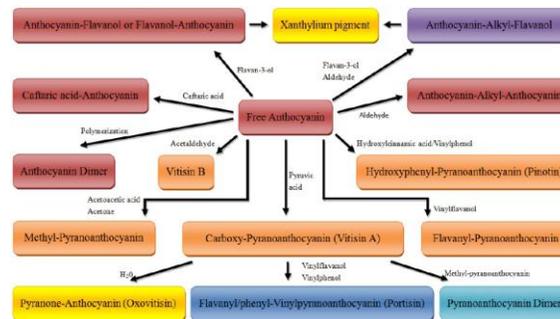


Figura 8 Evolución de los antocianos durante el añejamiento del vino Tomado de He et al. (2012).

A mayor nivel de antocianos en el descube, mayor el descenso observado y en consecuencia las diferencias se redujeron entre tratamientos si bien MT-1 continuó presentando registros superiores. La pérdida por precipitación de compuestos fenólicos no habría sido una causa importante desde que el nivel de polifenoles totales se mantuvo estable en el tiempo considerado. Estos resultados están de acuerdo a lo expresado por Cheynier et al. (2006) en cuanto a que la mayor parte de los antocianos libres se combinarán o condensarán con otros compuestos fenólicos para formar otros compuestos, mientras que una fracción relativamente pequeña desaparecerán por degradación, oxidación, precipitación. Finalmente no hubo evidencias de que las técnicas alternativas a la tradicional determinaran una evolución diferente de los antocianos en los vinos.

A los 3 meses del descube los vinos MPF-1 continuaron mostrando las mayores concentraciones de flavanos mientras los vinos TS-1 mantuvieron mayores niveles a MT-1. Los vinos MPF-1 y TS-1 tuvieron taninos menos polimerizados a los 3 meses. Esto es contrario a lo expresado por Fulcrand et al. (2006) en cuanto a que altas

concentraciones de taninos favorecen las condensaciones entre compuestos fenólicos por sobre los procesos de clivaje.

### 3.1.4.3 Color

El estudio de la evolución del color que tuvo el vino entre el descube y los 3 meses del mismo, permite evaluar si su composición inicial determinó diferencias en la estabilidad de los pigmentos.

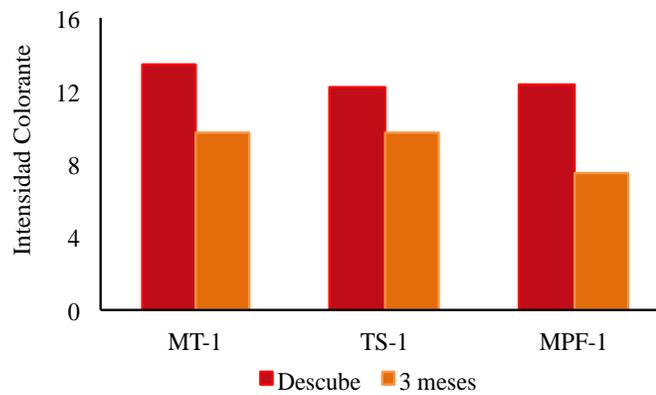


Figura 9 Evolución de la IC según tratamiento.

MT-1 = maceración tradicional 1; TS-1 = maceración con adición de taninos de semilla en encubado; MPF-1 = maceración prefermentativa en frío

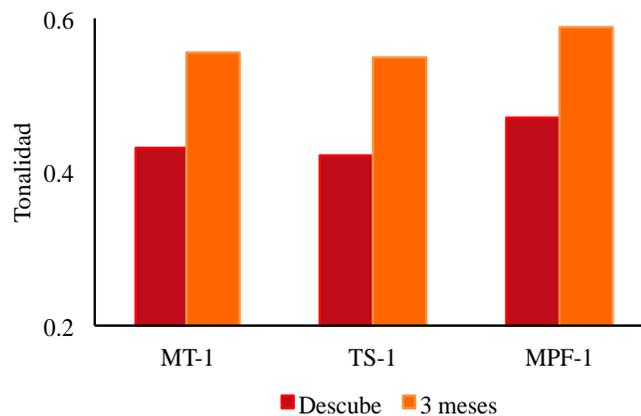


Figura 10 Evolución de la Tonalidad según tratamiento.

MT-1 = maceración tradicional 1; TS-1 = maceración con adición de taninos de semilla en encubado; MPF-1 = maceración prefermentativa en frío

En todos los tratamientos la intensidad colorante disminuyó mientras los valores de tonalidad aumentaron acorde a lo reportado en otros trabajos (González-Neves et al., 2010 ab), figuras 9 y 10.

Como fue presentado, los antocianos inicialmente responsables del color del vino, participan en reacciones con otros metabolitos formando nuevos pigmentos. A diferencia de los antocianos cuyo color está representado principalmente por la absorbancia a 520 nm, muchos de los nuevos pigmentos tienen máximos de absorbancias menores, explicando el color rojo-teja del vino evolucionado (He et al., 2012, Cheynier et al., 2006) y el aumento de su tonalidad.

Se destaca que los vinos MPF-1 tuvieron el mayor descenso de IC presentando el menor valor a los 3 meses del descube. La misma tendencia se observó en el color debido a antocianos y copigmentación, sin que esto significara mayores incrementos de pigmentos poliméricos en relación a los restantes tratamientos (figura 13). Por lo tanto, en este ensayo la MPF no promovió la estabilidad del color contrariamente a los citados para la técnica (Gómez-Míguez et al., 2007, Álvarez et al., 2006) y a pesar de haber tenido los mayores contenidos de flavanos desde el inicio de la maceración, cuya importancia para la estabilidad del color ha sido ampliamente citada (Cheynier et al., 2006, Fulcrand et al., 2006, Escribano-Bailón et al., 1996). La menor concentración de antocianos en la MPF-1 respecto a los restantes tratamientos debió ser determinante de lo observado al haber menor concentración de precursores de pigmentos estables.

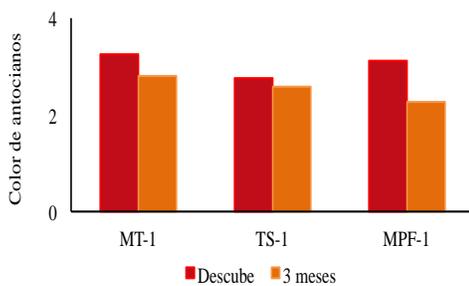


Figura 11 Evolución del color debido a antocianos según tratamiento

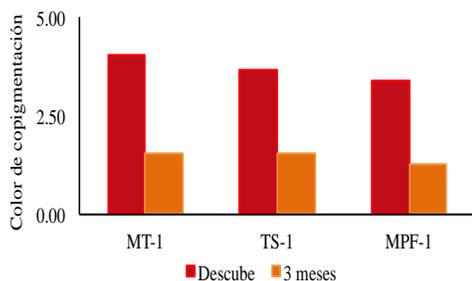


Figura 12 Evolución del color debido a copigmentación según tratamiento

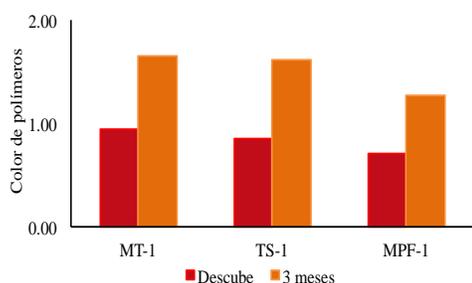


Figura 13 Evolución del color debido a polímeros según tratamiento

MT-1 = maceración tradicional; TS-1 maceración con adición de taninos de semilla de uva en el encubado; MPF-1 = maceración prefermentativa en frío.

Los vinos del tratamiento TS-1 tuvieron un descenso inferior de IC respecto a MT-1, registrando a los 3 meses intensidad colorante comparable a la del tratamiento testigo. Estos tratamientos también presentaron valores similares de color polimérico y copigmentado a los 3 meses del descube.

Cabe resaltar que el período de análisis comprende los tres primeros meses a partir del término de la fermentación alcohólica por lo que se trata en todo caso de vinos muy jóvenes.

#### 3.1.4.4 Análisis sensorial

Los vinos de los tres tratamientos fueron valorados en forma muy similar para calidad de color, aroma frutal y vegetal, volumen, amargor, equilibrio y juicio global.

La persistencia fue evaluada como superior en MPF-3 y TS-3, vinos con mayores niveles de polifenoles que MT-3.

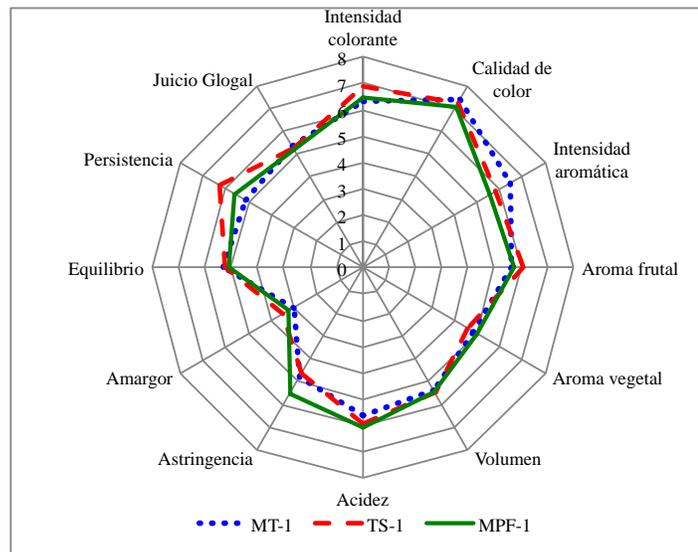


Figura 14 Análisis sensorial descriptivo cuantitativo de los vinos  
 MT-1 = maceración tradicional; TS-1 maceración con adición de taninos de semilla de uva en el encubado; MPF-1 = maceración prefermentativa en frío.

Por otra parte los vinos con adición de taninos no fueron percibidos como amargos, ácidos y astringentes en relación a los otros tratamientos a diferencia de lo reportado por Harbertson et al. (2012), Soto-Vázquez et al. (2010), Bautista-Ortín et al. (2005), Vidal et al. (2004).

Es probable que la dosis empleada haya sido inferior a la necesaria para percibir dichos atributos. Delteil (2000) reporta aumentos de astringencia, amargor y sequedad si bien utilizando una dosis superior (200 mg/L). Vivas et al. (2002) citan para algunos tipos de taninos enológicos que la percepción de amargor y astringencia comienza a manifestarse a partir de los 350 – 480 mg/L.

Al mismo tiempo los vinos MPF-1, fueron percibidos como los más astringentes lo que se corresponde con su concentración en flavanos.

Finalmente los vinos MPF no se diferenciaron a nivel aromático como ha sido citado por otros autores (Casassa et al., 2008, Marais 2003, Feuillat 1997) y a pesar del incremento significativo en alcoholes superiores respecto a los vinos MT-1 y TS-1. Por lo tanto, contenidos de estos compuestos mayores a los 300 mg/L no determina necesariamente propiedades sensoriales negativas.

## 3.2 ENSAYO 2

### 3.2.1 Composición de la uva en cosecha

#### 3.2.1.1 Composición general

Se observa en la tabla 12 que la uva empleada en los ensayos alcanzó un adecuado grado de maduración, con un contenido en azúcares que representa un alcohol probable de 12,8 y valores de acidez y pH acordes a lo esperado en madurez tecnológica de Tannat.

Tabla 12 Composición general de la uva en cosecha

Peso de baya	Acidez	Azúcares	pH
1,9 g/L	4,2 g/L	231,1 g/L	3,42

Acidez expresada en g/L de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

La uva empleada para el ensayo se caracterizó por tener un tamaño de grano superior al promedio reportado para Tannat (González-Neves et al. 2004).

Esto determinará una mayor relación pulpa/hollejo, que si bien suele ser evaluado negativamente en la producción de vinos tintos, según Sacchi et al. (2005) no debería necesariamente traducirse en menores contenidos de fenoles en el vino. Al intervenir los fenómenos de difusión en la extracción de fenoles (Kennedy, 2008), ésta aumentaría al incrementarse el volumen de mosto que es el medio de disolución (Sacchi et al. 2005).

### 3.2.1.2 Composición fenólica

Los resultados de composición fenólica en cosecha (tabla 13) muestran que la uva contenía bajos niveles de polifenoles totales y antocianos respecto a lo comúnmente reportado para la variedad en similares condiciones de producción (González-Neves et al., 2012, González-Neves et al., 2004). A su vez, los antocianos se encontraban fuertemente retenidos en los hollejos como lo expresa el alto índice de extractibilidad.

Tabla 13 Caracterización fenólica de la uva en cosecha

A280	ApH 1,0	ApH 3,2	EA%	dpell	dTpep	%dpell	Mp%
55,2	1588,1	699,3	55,9	27,9	27,6	51,0	49,0

A280 índice de polifenoles totales, ApH1 potencial en antocianos totales, ApH3,2 potencial en antocianos extraíbles, EA% índice de extractibilidad de los antocianos, Mp% porcentaje de taninos en las semillas, dpell taninos en los hollejos, dpell% porcentaje de taninos en los hollejos, dTpep taninos en las semillas.

Respecto a los taninos, según los índices utilizados la uva se caracterizó por ceder una proporción similar de taninos de hollejos (%dpell) y de semillas (Mp%). Los valores obtenidos de Mp% son elevados para la variedad Tannat, si bien hay reportes similares en años poco propicios para la acumulación de polifenoles en las uvas, como el 2001 (González-Neves et al., 2003).

## 3.2.2 Análisis de los vinos a los 3 meses del descube

### 3.2.2.1 Composición general

En la tabla 14 se muestran los resultados de composición general de los vinos a los tres meses del descube.

Los resultados de grado alcohólico pH y menor acidez indican que en TS-2 la vinificación se realizó con uva promedialmente más madura. Si bien la uva fue elegida a partir de un mismo lote de cosecha y al azar para cada vinificación de cada tratamiento.

Las diferencias no fueron importantes pero debería ser considerado en la interpretación de resultados.

Los contenidos de azúcares residuales indican que todos los vinos realizaron una fermentación alcohólica completa. Los niveles de acidez volátil muestran que los ensayos fueron realizados en buenas condiciones sanitarias y el proceso de vinificación no permitió desvíos microbiológicos.

Tabla 14 Composición general de los vinos a los 3 meses del descube según tratamiento

Trat	Alcohol	Ac.T	Ac.Vol	pH	Ext	Az	SO <sub>2</sub> <sub>tot</sub>	SO <sub>2</sub> <sub>lib</sub>
MT-2	11,5	3,5	0,4	3,57	25,0	1,6	37,6	3,2
TS-2	12,1	3,3	0,4	3,60	26,1	1,7	44,0	4,8
TQ-2	11,7	3,5	0,4	3,58	25,2	1,6	36,0	4,8

Trat = tratamiento, MT-2 = maceración tradicional, TS-2 = maceración con adición de taninos de semilla, TQ-2 = maceración con adición de taninos de quebracho, Ac.T = acidez total, Ac.Vol = acidez volátil, Ext = extracto seco en g/L, Az = azúcares residuales, SO<sub>2</sub><sub>tot</sub> = anhídrido sulfuroso total, SO<sub>2</sub><sub>lib</sub> = anhídrido sulfuroso libre. Acidez total y volátil expresadas en mg/L de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

### 3.2.2.2 Composición fenólica

Las mayores diferencias de composición fenólica entre tratamientos se observaron a nivel de los antocianos y particularmente en las proantocianidinas. Los tratamientos con adición de taninos tuvieron contenidos similares en estos compuestos y una diferencia mayor al 20 % respecto a MT-2. Éste resultado difiere de los presentados por Harbertson et al. (2012) quienes caracterizando diferentes tipos de taninos enológicos obteniendo que el contenido efectivo en taninos oscilaba entre 12 y 48%.

Sin embargo no se registraron diferencias entre tratamientos para las catequinas.

Tabla 15 Composición fenólica del vino a los 3 meses del descube según tratamiento

Trat	Pol.T	Ant	Cat	ProA	Ind.P
MT-2	1266,1 a	459,3 b	782,1 a	1604,0 b	46,4 a
TS-2	1300,3a	510,4 a	745,1 a	1972,2 a	35,6 b
TQ-2	1343,2 a	462,2 b	775,0 a	1933,2 a	37,6 b

Trat = tratamiento, MT-2 = maceración tradicional, TS-2 = maceración con adición de taninos de semilla, TQ-2 = maceración con adición de taninos de quebracho. Pol.T = polifenoles totales, Ant = antocianos totales en mg/L de malvidina-3-glucósido, Cat = catequinas en mg/L de D-catequina, ProA = proantocianidinas en mg/L de cloruro de cianidina, Ind.P = índice de polimerización de los taninos.

En los vinos TQ-2 el contenido de catequinas pudo haber sido subestimado. El método citado por el que fueron calculadas, mide espectrofotométricamente el color que se produce en la reacción de los flavanos reactivos a la vainillina. En éste, la vainillina reacciona solo con las unidades meta-sustituidas de los citados compuestos. Los flavanos de quebracho, no poseen dicha sustitución (al contener el carbono 5-desoxi) por lo que producen menos color en la reacción (Hagerman, 2002).

Respecto a los polifenoles totales, los vinos TS-2 y TQ-2 tuvieron concentraciones superiores a MT-2 en el orden de la dosis de taninos suministrada, 100 mg/L. Por lo tanto, los resultados sugieren que una parte importante de los taninos adicionados en el encubado permanecieron en el vino a diferencia de lo expresado por Celotti et al. (1999) y Delteil (2000) quienes sugieren que el principal destino de los taninos adicionados es su precipitación con los taninos del vino.

En cuanto a los antocianos, los mayores contenidos en los vinos TS-2 podría estar relacionado al citado efecto de protección oxidativa que poseen los taninos. Sin embargo fue el tratamiento que recibió las uvas con mayor nivel de maduración lo que dificulta el análisis de este resultado.

### 3.2.2.3 Color

La diferencia más importante en cuanto al color de los vinos entre tratamientos, se apreció en la IC (tabla 16), donde los TQ-2 presentaron los menores valores.

Tabla 16 Color del vino a los 3 meses del descube según tratamiento

Trat	A 420	A 520	A 620	IC	TON	% Am	% Ro	% Az
MT-2	3,6 a	6,3 a	1,4 b	11,3 a	0,57	31,8	55,8	12,3
TS-2	3,6 a	6,5 a	1,4 a	11,5 a	0,55	31,2	56,4	12,4
TQ-2	3,2 b	5,8 b	1,3 c	10,3 b	0,56	31,5	56,2	12,3

Trat = tratamiento, MT-2 = maceración tradicional, TS-2 = maceración con adición de taninos de semilla, TQ-2 = maceración con adición de taninos de quebracho. TON = tonalidad, Am = amarillo, Ro = rojo, Az = azul. A = absorbancia en nanómetros. Letras diferentes en la columna identifican diferencias estadísticas, Tukey 5%. En las columnas sin letras, no hubo diferencias estadísticas entre tratamientos.

Como fue producto de menores absorbancias tanto a nivel del color rojo (A 520) como amarillo (A 420), las diferencias en tonalidad no fueron relevantes así como en el porcentaje que cada color aportó a la IC. Como los taninos de quebracho poseen una estructura química diferente a los presentes en las uvas (Laghi et al., 2010, Vivas et al., 2004), su eventual interacción con los pigmentos del vino pueden haber causado la disminución de color reportada. Estos resultados preliminares sugieren considerar con especial atención el efecto de la adición de taninos de quebracho en el color del vino en futuros experimentos.

Los vinos TS-2 no tuvieron diferencias significativas de IC y tonalidad respecto a los MT-2.

En cuanto a los índices de copigmentación (Tabla 17) las diferencias observadas no fueron importantes entre tratamiento. Por lo tanto no hubo evidencias de que la adición de taninos haya incrementado la copigmentación y la formación de color polimérico a diferencia de lo esperado en función del objetivo con el cual se adicionan

los taninos enológicos, las propiedades comercialmente atribuidas y lo reportado en algunos trabajos de investigación (Laghi et al., 2010, Obradovic, 2006).

Tabla 17 Índices de Copigmentación según tratamiento

Tratamiento	P	C	A
MT-2	2,0	1,3	3,4
TS-2	2,0	1,5	3,5
TQ-2	1,9	1,6	3,0

MT-2 = maceración tradicional, TS-2 = maceración con adición de taninos de semilla, TQ-2 = maceración con adición de taninos de quebracho. P = color debido a polímeros, C = color debido a copigmentación, A = color debido a antocianos

El resultado más significativo del experimento fue que si bien, en referencia a MT-2 el efecto del agregado de taninos pudo ser cuantificado en el vino a nivel fenólico (polifenoles totales, proantocianidinas), en el color, su efecto fue negativo o no significativo. Cabe resaltar que es el principal objetivo para el cual vienen recomendados comercialmente.

#### 3.2.2.4 Análisis sensorial

La mayor diferencia entre los tratamientos se registró en las variables astringencia y acidez, para las cuales los vinos TS-2 tuvieron los mayores valores. Como fue presentado los vinos TS-2 tuvieron el mayor contenido de proantocianidinas. Vidal et al. (2004) expresan que la percepción de astringencia aumenta en relación a la concentración de taninos en el vino, lo que está de acuerdo con estos resultados.

Souquet et al. (1996), Jöbstl et al. (2004) expresan que los taninos galoilados, principalmente aportados por las semillas, son percibidos especialmente como amargos y astringentes. Sin embargo, el descriptor amargor no difirió en forma importante del testigo en los tratamientos con adición de taninos. Esto puede haberse debido a que las concentraciones utilizadas fueron inferiores a las requeridas para afectar dicho descriptor en los vinos donde con adición de taninos o a eventuales modificaciones de las

propiedades de los taninos de semilla en el proceso de producción comercial (Obradovick 2006, Moutounet et al., 2004).

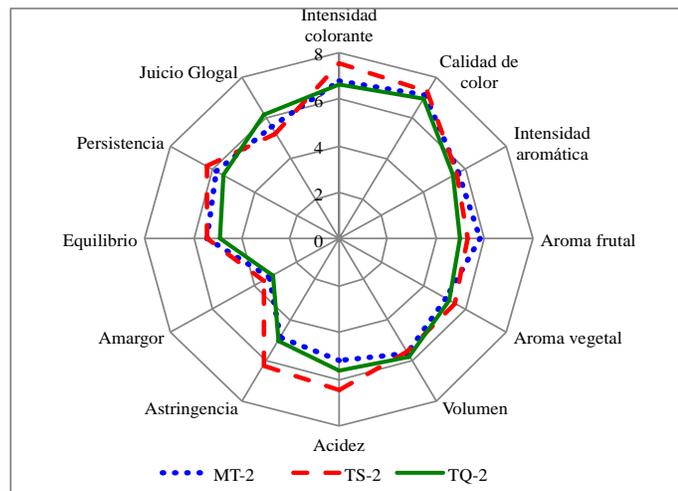


Figura 15 Análisis sensorial descriptivo cuantitativo según tratamiento MT-2 = maceración tradicional; TS-2 maceración con adición de taninos de semilla de uva en el encubado; TQ-2 = maceración con adición de taninos de quebracho en el encubado.

Los vinos TS-2 también fueron percibidos con la mayor intensidad colorante y si bien con menores diferencias, superior calidad de color respecto a los vinos MT-2 y TQ-2.

Los vinos producidos con TQ-2 fueron evaluados en forma similar a MT-2 si bien tuvieron el mejor juicio global. Resulta difícil interpretar dicha variable debido a que los vinos TQ-2 fueron los peor valorados en la mayoría de los descriptores de calidad.

Finalmente los vinos TS-2 fueron los peor evaluados globalmente si bien el promedio fue próximo al de MT-2.

### 3.3 ENSAYO 3

#### 3.3.1 Composición de la uva en cosecha

##### 3.3.1.1 Composición general

En la tabla N° 18 se presentan los resultados en compuestos mayoritarios, pH y peso de grano. Los datos reflejan que la uva Tannat alcanzó un adecuado nivel de maduración en la vendimia considerada.

Tabla 18 Caracterización de la uva a vinificar en cosecha

Peso de grano (g)	Azúcares (g/L)	Alcohol probable	Acidez (g/L H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	pH
1,52	240,1	13,3	4,1	3,29

El peso de grano fue menor al comúnmente presentado por las bayas de Tannat (González-Neves et al., 2012) habiendo sido discutido anteriormente la posible influencia de este factor en la extracción fenólica de la uva al mosto.

##### 3.3.1.2 Composición fenólica

La tabla 19 resume los resultados de caracterización fenólica en cosecha, de la uva empleada en los ensayos.

Al comparar el potencial fenólico con los reportados para Tannat (González-Neves et al., 2012) en años muy propicios para su síntesis (año 2002), años considerados promedio (2003 y 2004) o muy poco favorables (2001), se constata que la uva tuvo contenidos inferiores a los medios, particularmente en antocianos. Sin embargo presentó un valor de EA% bajo en relación a los reportados en los trabajos citados, por lo que sería esperable una buena extracción de antocianos durante la vinificación.

Tabla 19 Caracterización fenólica de la uva en cosecha

A 280	ApH 1	ApH 3,2	EA %	dpell	dTpep	dpell%	Mp%
75,5	1583,3	832,2	47,5	33,3	42,2	44,1	56,0

A280 riqueza polifenólica de la uva, ApH1 potencial total en antocianos, ApH3,2 potencial en antocianos extraíbles, EA% índice de extractibilidad de los antocianos, dpell contenido de taninos de hollejos, dpell% proporción de taninos de hollejos, dTpep contenido de taninos de semillas, Mp% índice de madurez de las semillas (porcentaje de taninos de semilla).

Los contenidos de taninos de semilla (dTpep) fueron elevados, mientras los de hollejos (dpell) bajos, resultando en una elevada proporción de taninos de semillas.

### **3.3.2 Vinificaciones**

La evolución de los valores de IPT fue similar en los mostos/vinos de los tratamientos MT-3 y TS-3 durante los tres primeros días de maceración, si bien en TS-3 mantuvo valores superiores respecto al testigo.

Esto está de acuerdo a lo señalado por Baiano et al. (2007) respecto a que la adición de taninos afecta el contenido fenólico desde las primeras etapas de la maceración.

Posteriormente en MT-3 el IPT continuó incrementando su valor por tres días más, con una tendencia final hacia la estabilización, mientras en TS-3 la evolución final fue descendente.

En los mostos MPF-3 la acumulación de fenoles fue comparativamente más lenta que en los restantes tratamientos en coincidencia con lo reportado en otros trabajos (Casassa et al., 2008, González-Neves et al., 2008, Feuillat 1997, Zini et al., 2003). Sin embargo, a partir del sexto día de maceración los mostos MPF-3 tuvieron los mayores valores de IPT culminando el encubado con 18% más que los vinos MT-3 y TS-3. Los mostos/vinos de estos últimos tratamientos, finalizaron la maceración con valores similares de IPT, a pesar de que en TS-3 tuvo 3 días menos de encubado en relación al

testigo. Diferentes trabajos indican que el contenido en fenoles totales se incrementa con la duración de la maceración en el período de los días considerados (Vila et al., 2005, Gil-Muñoz et al., 1999) no obstante otros autores citan que luego de alcanzar un máximo en los primeros días de maceración, sus concentraciones se mantienen estables (González-Neves et al., 2008, Amrani y Glories, 1994). Lo observado en este ensayo podría haber sido efecto de la adición de taninos en el encubado.

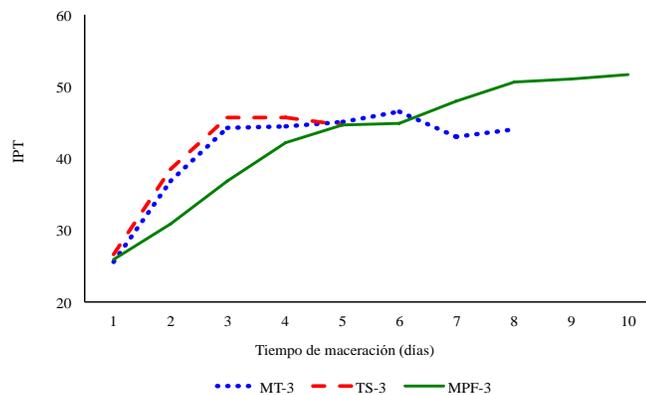


Figura 16 Índice de Polifenoles Totales según tratamiento y tiempo de maceración

MT-3 = maceración tradicional, TS-3 = maceración con adición de taninos de semilla de uva en el encubado, MPF-3 = maceración prefermentativa en frío.

En el seguimiento de los AT se observa (figura 17) que los vinos del tratamiento TS-3 tuvieron concentraciones superiores a MT-3 a partir del segundo día de maceración. Bautista-Ortín et al. (2005) también reporta mayor contenido de antocianos durante los primeros días de maceración en los mostos con adición de taninos. Como se observa en las figuras 18 y 19, hasta el descube de TS-3, éste y MT-3 tuvieron cinéticas de fermentación y temperaturas de maceración similares por lo que diferencias a éste nivel no habrían sido la causa de lo observado. Celotti et al. (1999) citan que este hecho se debe a una inhibición temporal de las oxidaciones por parte de los taninos adicionados. Dicha observación es coincidente con el momento en que se apreciaron las diferencias en antocianos ya que según Romero-Cascales et al. (2005), el período

considerado es cuando se presentan las mayores pérdidas de antocianos debido a oxidaciones enzimáticas.

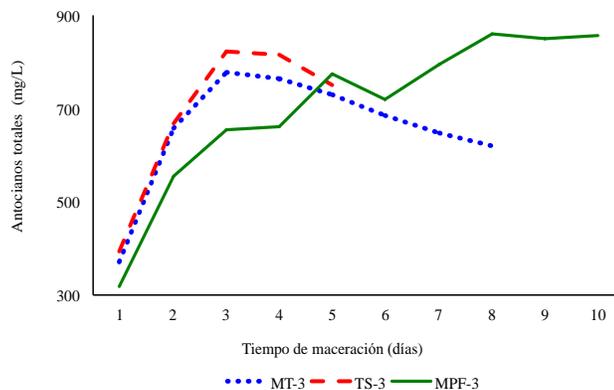


Figura 17 Antocianos Totales según tratamiento y tiempo de maceración

MT-3 = maceración tradicional, TS-3 = maceración con adición de taninos de semilla de uva en el encubado, MPF-3 = maceración prefermentativa en frío. Antocianos expresados en mg/L de malvidina-3-glucósido.

Sin embargo en los tratamientos MPF-3 fue donde finalmente se presentaron los mayores contenidos de AT. Si bien durante la primera etapa de la maceración prefermentativa en frío tuvo concentraciones menores a los otros tratamientos, a partir del quinto día y hasta el descube mantuvo los mayores registros.

La mejora de la extracción de antocianos ha sido el principal argumento citado a favor de la MPF y es respaldado por parte de la literatura (Gil-Muñoz et al., 2009, Gómez-Míguez et al., 2007, Koyama et al., 2007, etc) si bien no había sido obtenido en anteriores ensayos (González-Neves et al., 2008). En este caso las fermentaciones fueron muy lentas en todos los tratamientos (figura N° 18) lo que puede haber incidido en los resultados.

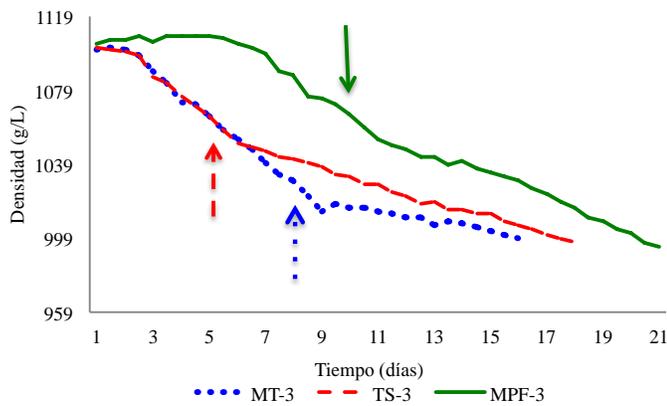


Figura 18 Densidad de fermentación según tratamiento  
Las flechas indican el descube del tratamiento correspondiente

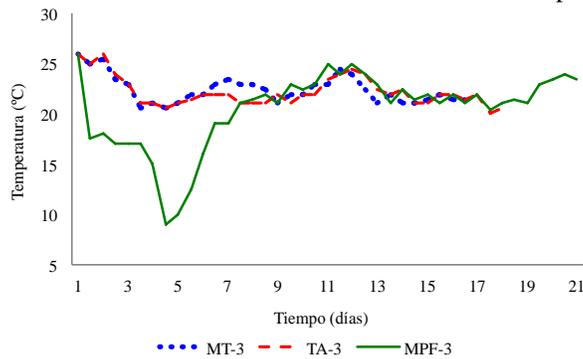


Figura 19 Temperatura de fermentación según tratamiento  
MT-3 = maceración tradicional, TS-3 = maceración con adición de taninos de semilla de uva en el encubado, MPF-3 = maceración prefermentativa en frío.

El análisis conjunto de las extracciones de IPT y AT (figuras 16 y 17), permite apreciar que en los mostos MPF-3 se observó lo esperado para la técnica, una tasa de incremento de los valores de antocianos superior a la de IPT. Este índice cuantifica todos los compuestos fenólicos incluyendo a los antocianos, por lo tanto la extracción de taninos debió ser aún más lenta que la del IPT.

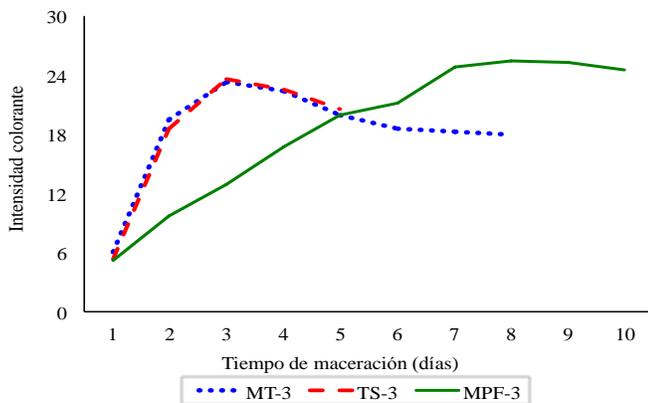


Figura 20 Intensidad Colorante según tratamiento y tiempo de maceración

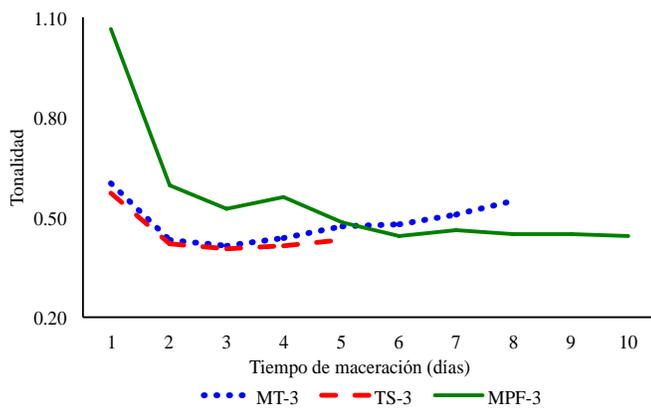


Figura 21 Tonalidad según tratamiento y tiempo de maceración

IPT = índice de polifenoles totales, MT-3 = maceración tradicional, TS-3 = maceración con adición de taninos de semilla en el encubado, MPF-3 = maceración prefermentativa en frío.

Lo observado para los antocianos, se reflejó en la intensidad colorante durante la fase final de la maceración. Los vinos elaborados con MPF-3 tuvieron valores estables los últimos 4 días de encubado, finalizando con 37 y 19 % más de IC que MT-3 y TS-3 respectivamente. Los mostos/vinos de estos últimos tratamientos tuvieron valores similares de IC hasta el descube de TS-3, donde éste presentaba una intensidad colorante levemente superior a MT-3, reflejando lo observado para los antocianos en el mismo momento. Finalmente, las diferencias registradas en los valores de IC en los respectivos descubes serían consecuencia del mayor tiempo de maceración en MT-3 período en el

cual interviene la readsorción de pigmentos en partes sólidas de las uvas y borras (Sacchi et al., 2005).

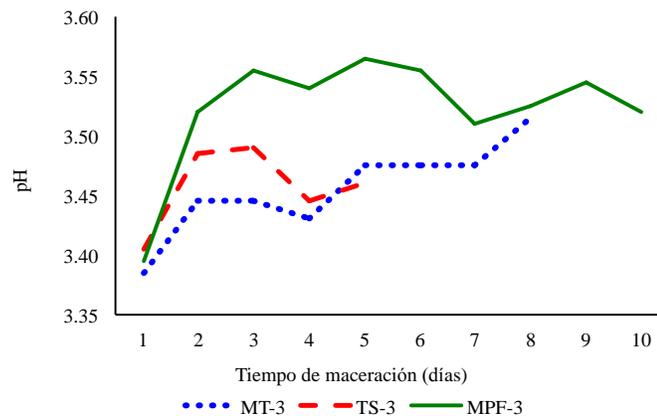


Figura 22 pH según tratamiento y tiempo de maceración

MT-3 = maceración tradicional; TS-3 = maceración con adición de taninos de semilla en el encubado; MPF-3 = maceración prefermentativa en frío

Adicionalmente el seguimiento de la evolución del pH (figura N° 22) contribuiría a explicar lo observado. El pH aumentó rápidamente al comienzo de la maceración, probablemente como consecuencia del incremento en potasio extraído desde los hollejos. Durante la fase tumultuosa de fermentación el pH disminuyó probablemente a consecuencia de la saturación del medio en  $\text{CO}_2$  y la consecuente formación de ácido carbónico. Al finalizar dicha etapa el pH volvió a incrementarse, lo que pudo ser consecuencia de menor ácido carbónico en el medio y del incremento en la precipitación de sales tartáricas al aumentar el contenido de etanol que disminuye su solubilidad (Usseglio-Tomasset, 1995).

Respecto a la tonalidad, se aprecia que los mostos MPF-3 mantuvieron valores elevados (mayores a 0,5) durante el tratamiento de frío, igualando los del tratamiento testigo al final de dicha etapa.

### 3.3.3 Análisis de los vinos al desborre

#### 3.3.3.1 Composición fenólica

Los registros de antocianos al desborre estuvieron en un rango comprendido entre 500 mg/L en MT-3 y TS-3, y 600 mg/L en la MPF-3 (figura 23)

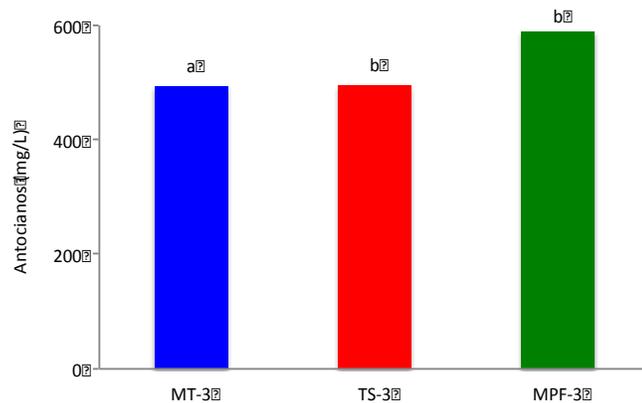


Figura 23 Antocianos totales al desborre según tratamiento.

MT-3 = maceración tradicional, TS-3 = maceración con adición de taninos de semilla de uva en el encubado, MPF-3 = maceración prefermentativa en frío. Antocianos expresados en mg/L de malvidina-3-glucósido.

Teniendo en cuenta los resultados publicados anteriormente en Tannat (González-Neves et al., 2010 a y b, 2008), es la primera vez que los vinos producidos con MPF por el grupo de investigación tuvieron diferencias significativa positivas respecto al testigo en el contenido de antocianos.

Los vinos elaborado con TS-3 tuvieron al desborre concentraciones similares al testigo de AT, aún cuando finalizaron la maceración con 130 mg/L más de antocianos a éste. La máxima concentración de antocianos se alcanza en los primeros días de maceración mientras el medio continúa enriqueciéndose en taninos (Amrani y Glories, 1994, 1995). En consecuencia el descube en una maceración tradicional se realiza posteriormente al máximo de antocianos, para obtener una adecuada extracción de taninos que permitan estabilizar los pigmentos y así el color (Sims y Bates, 1994) no

existiendo reportes de si la adición de taninos permite reducir los tiempos de maceración. Los cambios estructurales producto de la evolución de los antocianos hacia nuevos pigmentos determinan que ya no sean cuantificados analíticamente como antocianos al resistir el blanqueamiento por anhídrido sulfuroso (Fulcrand et al., 2006). Por lo tanto el mayor descenso en antocianos observado en los vinos TS-3 podría ser resultado de una mayor actividad de estabilización o de una mayor pérdida de los mismos en relación a los MT-3. La mayor IC al desborre registrada en los vinos TS-3 respecto al testigo contribuye a apoyar la hipótesis de que una mayor estabilización de los antocianos ocurrió (figura 25). Estos resultados estarían de acuerdo a lo citado por Baiano et al. (2007) y Crespy y Urban (2002) respecto a que los taninos enológicos de semilla permiten estabilizar los pigmentos y aumentar el color de los vinos tintos.

Respecto a los polifenoles totales, en la figura 24 se observa que los vinos TS-3 mantuvieron al desborre mayores concentraciones que los MT-3 a pesar de haber tenido tres días menos de maceración. Hay consenso en la literatura sobre que el contenido de taninos de los vinos aumenta con el tiempo de maceración (Sacchi et al., 2005, Vila et al., 2005, Amrani y Glories, 1994).

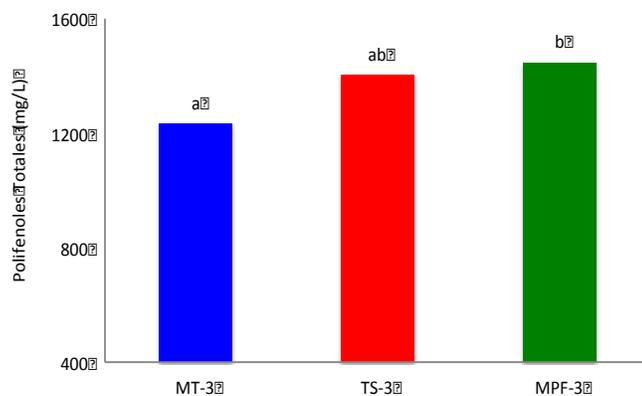


Figura 24 Polifenoles totales en los vinos al desborre según tratamiento.

MT-3 = maceración tradicional, TS-3 = maceración con adición de taninos de semilla de uva en el encubado, MPF-3 = maceración prefermentativa en frío. Los Polifenoles Totales son expresados en mg/L de ácido gálico.

Por lo tanto el agregado de taninos enológicos habría tenido mayor efecto que el tiempo de maceración sobre el contenido en fenoles totales del vino. La magnitud de la diferencia citada estuvo en el orden de la cantidad de taninos enológicos adicionada, 200 mg/L.

Finalmente los vinos MPF-3 fueron los que presentaron mayor contenido de polifenoles totales. Esto está de acuerdo con lo constatado en ensayos previos del grupo de investigación (González-Neves et al., 2008) y estaría relacionado al mayor tiempo de maceración en este tratamiento.

### **3.3.3.2 Color**

Al desborre, los vinos TS-3 tuvieron mayor IC a los MT-3 (figura 25) a pesar de tener concentraciones similares de antocianos. Al descube de TS-3 (5° día de maceración), los mostos/vinos de ambos tratamientos tenían AT e IC similares. Probablemente los distintos fenómenos ya descritos en que están implicados los antocianos tuvieron diferente peso en la evolución de los vinos de cada tratamiento.

Los vinos MPF-3 fueron los que presentaron la mayor IC diferenciándose estadísticamente del testigo. Resulta interesante observar que si bien la MPF-3 tuvo 20 % más de antocianos respecto a MT-3 y TS-3, en IC la diferencia dependió del tratamiento con el cual se comparó, 7 % mayor a TS-3 y 19% más en relación a MT-3.

En cuanto a la calidad del color evaluada mediante la tonalidad no se observaron diferencias entre los tratamientos MT-3, TS-3 y MPF-3 (figura 26).

Algunos autores (Feuillat 1997, Casassa et al., 2008) han reportado aumentos de la tonalidad en los vinos MPF respecto al los testigo, si el enfriamiento del mosto no se realiza mediante agregados de hielo seco, debido a ausencia de protección oxidativa en la etapa mencionada.

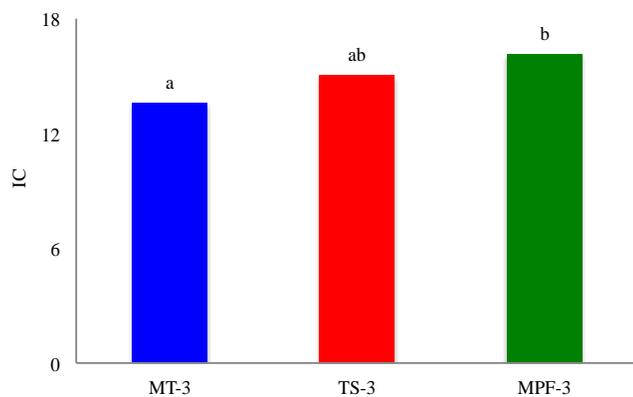


Figura 25 Intensidad colorante de los vinos al desborre según tratamiento

MT-3 = maceración tradicional, TS-3 = maceración con adición de taninos de semilla de uva en el encubado, MPF-3 = maceración prefermentativa en frío.

Nuestros resultados muestran que fue posible utilizar métodos alternativos de refrigeración al  $\text{CO}_2(\text{s})$  sin afectar negativamente la calidad del color.

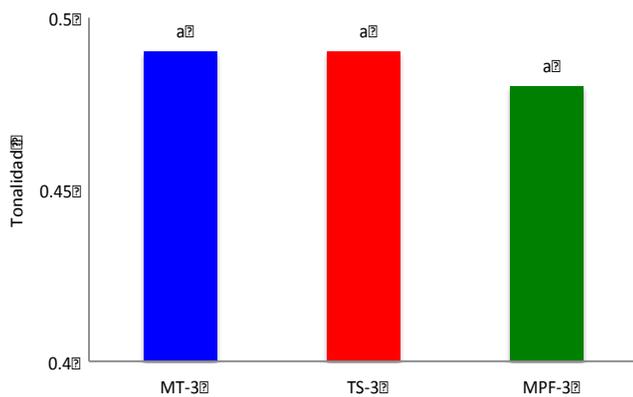


Figura 26 Tonalidad de los vinos al desborre según tratamiento

MT-3 = maceración tradicional, TS-3 = maceración con adición de taninos de semilla de uva en el encubado, MPF-3 = maceración prefermentativa en frío.

Respecto a los vinos TS-3, uno de los principales efectos positivos atribuidos a la maceración con taninos, es la protección oxidativa de los polifenoles (Ribéreau-Gayon

et al., 2006, Zamora 2003, Vivas y Glories 1996). Este efecto no pudo ser evaluado a través de la tonalidad en los presentes ensayos. En todos los tratamientos los vinos tuvieron bajos valores de tonalidad, indicando que no hubo una presión de oxidación importante, lo que podría explicar los resultados señalados.

Al evaluar el color según los índices CIELAB se observa que los vinos elaborados con MT-3 y TS-3 tuvieron una paridad importante en saturación (C\*) cromaticidad roja (a\*) y amarilla (b\*), mientras MT-3 presentó los vinos más claros (mayor L\*), expresándose a nivel de esta variable la diferencia reportada de IC entre estos tratamientos.

Tabla 20 Color CIELAB de los vinos al descube según tratamiento

	L*	C*	a*	b*
MT-3	45,8 a	59,3 a	58,5 a	9,6 a
TS-3	42,3 ab	59,0 a	58,2 a	9,7 a
MPF-3	41,1 b	61,2 a	59,9 a	12,4 a

MT-3 = maceración tradicional, TS-3 = maceración con adición de taninos de semilla de uva en el encubado, MPF-3 = maceración prefermentativa en frío. L\*= luminosidad, C\* = saturación, a\* = cromaticidad roja, b\* = cromaticidad amarilla.

Los vinos MPF-3 presentaron los vinos más oscuros, saturados y rojos, y superiores en cromaticidad amarilla (b\*). Esto no fue observado cuando se calcularon los valores y porcentajes de cada color según Glories (1984). Estas diferencias se deben a que el método CIELAB considera el espectro visible de manera más completa. En todo caso, un mayor valor de b\* no representa signo de oxidación, como surge del análisis en conjunto de las variables de color presentadas.

### **3.3.4 Análisis de los vinos a los 4 meses del desborre**

#### **3.3.4.1 Composición general**

Como se aprecia en la tabla 21 los vinos tuvieron un grado alcohólico similar mostrando la homogeneidad de composición de los mostos de los diferentes tratamientos con que se realizó el ensayo. Igualmente expresa que se trabajó con uva que alcanzó un alto grado de maduración. Los vinos producidos con MPF-3 tuvieron niveles bajos de acidez volátil pero superiores a los restantes tratamientos, lo que podría ser consecuencia de desarrollo microbiano en la etapa prefermentativa.

Tabla 21 Composición general del vino a los 4 meses del desborre

Tratamiento	G.Alc	Ac.Tot	Ac. Vol	pH	Az. Red	SO <sub>2</sub> Tot	SO <sub>2</sub> Libre
MT-3	14,8	4,4	0,3	3,31	2,1	54,4	3,2
TS-3	14,9	4,4	0,3	3,35	2,0	49,0	4,9
MPF-3	14,9	4,4	0,4	3,31	2,4	37,1	4,0

MT-3 = maceración tradicional; TS-3 = maceración con adición de taninos enológicos de semilla de uva; MPF-3 = maceración prefermentativa en frío. G.Alc = grado alcohólico; Ac.Tot = acidez total en g/L de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; Ac. Vol = acidez volátil en g/L de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; Az. Red = azúcares reductores; SO<sub>2</sub> Tot = SO<sub>2</sub> total.

Los contenidos en azúcares reductores expresan que en todos los tratamientos las fermentaciones fueron completas.

#### **3.3.4.2 Alcoholes superiores**

En este ensayo (tabla N° 22) los vinos MPF nuevamente presentaron contenidos de alcoholes superiores significativamente mayores a los registrados en los vinos de los otros tratamientos.

Las diferencias se constataron a nivel de los 3 compuestos considerados mostrando un efecto claro de la MPF-3 sobre la producción de estos compuestos.

Tabla 22 Alcoholes superiores a los 4 meses del descube según tratamiento

Tratamiento	1-propanol (mg/L)	2-metil-1- propanol (mg/L)	2 y 3-metil-1- butanol (mg/L)	Alcoholes superiores (mg/L)
MT-3	30,1	42,8	283,1	356,4
TS-3	23,0	39,7	264,2	326,3
MPF-3	48,9	48,0	316,2	413,0

MT-3 = maceración tradicional, TS-3 = maceración con adición de taninos de semilla de uva en el encubado, MPF-3 = maceración prefermentativa en frío.

### 3.3.4.3 Ácidos mayoritarios

En la tabla N° 23 se presenta el contenido en ácido tartárico málico y láctico de los vinos producidos con cada alternativa de vinificación para evaluar si eventualmente algún vino desarrolló fermentación maloláctica (consumo de ácido málico y producción de láctico por medio de bacterias lácticas). Los resultados son presentados por unidad experimental dado que no es un proceso que dependa de la alternativa de vinificación empleada. Si en un vino se desarrolla fermentación maloláctica en forma completa, la totalidad del ácido málico es convertido en láctico. Como se presentó en la sección materiales y métodos, previo almacenamiento de los vinos, se les realizó una corrección del nivel de anhídrido sulfuroso, para prevenir futuros desarrollos microbiológicos, entre éstos, el de bacterias lácticas. No obstante, el bajo nivel de ácido málico en MPF-1, en correspondencia con elevados valores de láctico, sugieren que en dichos vinos hubo un desarrolló parcial de fermentación maloláctica. Más allá del efecto en la acidez dicho proceso tiene consecuencias a nivel de la composición fenólica del vino y del color. Provoca una disminución del color, los antocianos y los polifenoles totales. Adicionalmente reduce los procesos de polimerización y formación de ciertos pigmentos estables como las vitisinas al ser consumidos por los microorganismos, metabolitos que catalizan o son precursores de los procesos citados (Lerm et al., 2010, Vrhovsek et al., 2002). Por estos motivos, se estudiaron los valores de las variables citadas en los vinos correspondientes a cada unidad experimental de la MPF-3. Las diferencias se

constataron a nivel de polifenoles totales y color polimérico donde MPF-3-1 tuvo 170 mg/L y 0.3 décimas menos para cada variable respectivamente (datos no presentados). Sin embargo no tuvo diferencias de pH en relación a MPF-3-2.

Respecto a los contenidos de ácido tartárico estuvieron dentro del rango de valores esperados.

Tabla 23 Ácidos mayoritarios en los vinos a los 4 meses del descube según tratamiento y unidad experimental

Tratamiento	Ác. Tartárico (g/L)	Ác. Málico (g/L)	Ác. Láctico (g/L)
MT-3-1	5,1	2,7	3,6
MT-3-2	4,7	2,9	4,2
TS-3-1	5,1	2,7	3,7
TS-3-2	4,9	2,7	3,7
MPF-3-1	5,1	1,2	4,3
MPF-3-2	5,2	2,4	3,7

MT-3 = maceración tradicional, TS-3 = maceración con adición de taninos de semilla de uva en el encubado, MPF-3 = maceración prefermentativa en frío. Ác. = ácido.

#### 3.3.4.4 Familias fenólicas

A los cuatro meses del desborre TS-3 y particularmente MPF-3 continuaron manteniendo mayores contenidos fenólicos. Las mayores concentraciones de antocianos estuvieron en los vinos MPF-3, mientras en los TS-3 las diferencias no fueron significativas respecto a MT-3 (tabla 24).

Al mismo tiempo los vinos elaborados con las alternativas a la maceración tradicional tuvieron contenidos superiores a los testigo de proantocianidinas (diferencias no estadísticas). En TS-3 es de esperar esté relacionado a la adición de los taninos enológicos mientras en los vinos MPF-3 al mayor tiempo de maceración respecto a los restantes tratamientos. Sin embargo (tabla N° 24) la maceración prefermentativa en frío no incrementó en este ensayo la relación taninos/antocianos.

Tabla 24 Familias fenólicas en los vinos a los 4 meses del desborre según tratamiento

Tratamiento	Pol.Tot	Antocianos	Proantocianidinas	Taninos/Antocianos	Ind.Pol.Tan
MT-3	1119,0 a	359,5 b	2005,5 a	5,6 a	32,6 b
TS-3	1221,9 a	408,6 ab	2116,6 a	5,2 a	35,0 a
MPF-3	1264,1 a	450,6 a	2280,9 a	5,1 a	35,1 a

MT-3 = maceración tradicional, TS-3 = maceración con adición de taninos de semilla de uva en el encubado, MPF-3 = maceración prefermentativa en frío. Pol.Tot = polifenoles totales expresados en mg/L de ácido gálico, Antocianos expresados en mg/L de malvidina-3-glucósido, Ind.Pol.Tan = índice de polimerización de los taninos.

Finalmente MPF-3 y TS-3 registraron un índice similar de polimerización de los taninos, el cual fue significativamente mayor al de los vinos testigo. Estos resultados sugieren que estos tratamientos tuvieron taninos menos polimerizados que MT-3. Moutounet et al. (2004) encontraron que los taninos enológicos de uva presentaban índices de polimerización menor a los naturalmente contenidos en éstas, mientras que en la MPF-3 lo observado pudo ser resultado de una mayor extracción de las familias menos polimerizadas de los taninos las cuales serían las más extraídas en la fase prefermentativa en frío dado su hidrosolubilidad (Koyama et al., 2007). Sin embargo se han observado resultados diferentes en otros ensayos.

### 3.3.4.5 Color

A los cuatro meses del descube los vinos MPF-3 y TS-3 no se diferenciaron significativamente en el color, mientras tuvieron mayor IC al testigo. Adicionalmente los vinos TS-3 fueron más oscuros a los MT-3.

Tabla 25 Color del vino según tratamiento a los 4 meses del desborre

Tratamiento	IC	Ton	L*	C*	a*	b*
MT-3	13,6 b	0,51 a	43,6 a	57,4 a	57,0 a	6,0 a
TS-3	15,1 a	0,50 a	40,3 b	57,9 a	57,5 a	6,9 a
MPF-3	15,4 a	0,48 a	41,1 ab	60,9 a	60,2 a	9,1 a

MT-3 = maceración tradicional, TS-3 = maceración con adición de taninos de semilla de uva en el encubado, MPF-3 = maceración prefermentativa en frío. IC = intensidad colorante, Ton = tonalidad. L\* = luminosidad, C\* = saturación, a\* = cromaticidad roja, b\* = cromaticidad amarilla.

Si bien los tratamientos no se diferenciaron estadísticamente en este período analítico en los restantes indicadores de color, los MPF-3 tuvieron la mayor saturación, cromaticidad roja y menor tonalidad.

Tabla 26 índices de copigmentación según tratamiento

Tratamiento	P	A	C
MT-3	2,8 a	2,6 b	1,6 b
TS-3	2,5 ab	3,5 a	1,9 b
MPF-3	2,3 b	3,6 a	2,7 a

MT-3 = maceración tradicional, TS-3 = maceración con adición de taninos de semilla de uva en el encubado, MPF-3 = maceración prefermentativa en frío. P = color debido a polímeros, A = color debido a antocianos, C = color debido a copigmentación.

Analizando el color según los índices de Boulton se observa que los tratamientos que tuvieron mayor color lo hicieron a través de mayor color debido a copigmentación y antocianos, mientras presentaron menor color polimérico al testigo.

### 3.3.4.6 Análisis sensorial

Los vinos MPF-3 fueron catalogados con el mejor juicio global, lo que es consistente con las calificaciones que obtuvieron en equilibrio, volumen en boca y calidad aromática. La mejora de la calidad aromática en los vinos producidos con MPF-3 es el aspecto que cuenta con más consenso en las publicaciones que incluyen su evaluación (Catania et al., 2006, Parenti et al., 2006, Zinnai et al., 2006) sin embargo

Casassa et al. (2008) reportan una valoración negativa de los vinos MPF-3 cuando el descenso de temperatura fue obtenido sin el empleo de hielo seco.

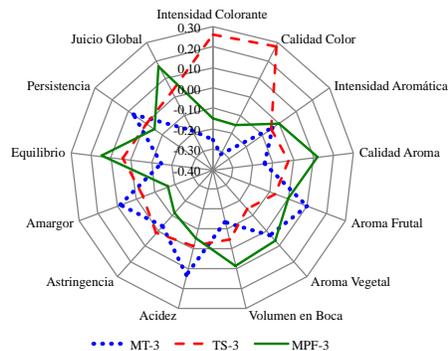


Figura 27 Análisis sensorial de los vinos según tratamiento

Los resultados se presentan normalizados a partir del análisis descriptivo cuantitativo.

MT-3 = maceración tradicional, TS-3 = maceración con adición de taninos de semilla de uva en el encubado, MPF-3 = maceración prefermentativa en frío.

Fue presentado que los vinos MPF-3 tuvieron contenidos elevados de alcoholes superiores (superiores a 400 mg/L) sin embargo no contribuyó negativamente al aroma del vino.

Respecto al volumen en boca, lo observado podría estar relacionado con el mayor contenido fenólico de los vinos MPF-3, los que claramente no fueron percibidos como astringentes o amargos a pesar de tener contenidos significativamente superiores en taninos. Igualmente los vinos con adición de taninos de semilla tampoco fueron percibidos con mayores niveles para estas variables respecto a los MT-3. Obradovic (2006) expresa que existen alternativas tecnológicas para extraer los taninos de semilla mejor valorados sensorialmente en la producción taninos enológicos. Particularmente Moutounet et al. (2004) expresan que en dichos productos el grado de polimerizan de los taninos de uvas es menor al presente naturalmente en éstas, lo que podría contribuir a reducir su astringencia (Cheynier et al., 2006).

Otra explicación puede ser la expresada por Rinaldi et al. (2010) respecto a que cuanto más compleja la matriz del vino en el que son adicionados los taninos, menos astringentes y amargos se perciben.

Por otra parte, los vinos TS-3 tuvieron registros superiores de intensidad y calidad del color respecto a los MT-3 y MPF-3. Esta diferencia está de acuerdo con los resultados obtenidos por diferentes autores (Crespy y Urban, 2002) si bien difieren de los reportados en otros trabajos (Harbertson et al., 2012, Parker et al., 2007).

### **3.3.5 Evolución de la composición del vino**

Mientras que los análisis al desborre permitieron observar el efecto de las técnicas sobre la composición y color inicial de los vinos, el seguimientos de estas variables en el tiempo, permite apreciar si dicha composición inicial determinó diferencias en su evolución.

#### **3.3.5.1 Familias fenólicas**

No hubo variaciones importantes en los contenidos de polifenoles totales en los vinos de ninguno de los tratamientos en el período descube-14 meses, indicando que no ocurrieron pérdidas cuantificables. Las variaciones entre los momentos de análisis reflejarían principalmente diferencias dadas por las diferentes condiciones analíticas en cada momento.

Tabla 27 Evolución de los polifenoles totales según tratamiento

Tratamiento	Descube	4 meses	8 meses	14 meses
MT-3	1234,1 b	1119,2 a	1228,2 b	1235,1 b
TS-3	1404,1 ab	1222,0 a	1381,1 a	1336,4 b
MPF-3	1447,0 a	1264,0 a	1417,3 a	1488,3 a

MT-3 = maceración tradicional, TS-3 = maceración con adición de taninos de semilla de uva en el encubado, MPF-3 = maceración prefermentativa en frío. Polifenoles totales expresados en mg/L de ácido gálico.

El orden jerárquico de los tratamientos se mantuvo en cada muestreo, los vinos TS-3 presentando mayores contenidos que los MT-3 y los MPF-3 los superiores. Éstos

últimos se diferenciaron significativamente de los testigo al descube, 8 y 14 meses, mientras los elaborados con TS-3 a los 8 meses. Por lo tanto con la técnica de vinificación MPF-3 se obtuvieron vinos con mayores contenidos de fenoles que con la adición taninos enológicos, mostrando que había potencial en la uva para enriquecer los vinos en estos compuestos.

La evolución de los antocianos totales en el tiempo (figura N° 28) fue la esperada en función de las reacciones ya discutidas en que participan estas moléculas. El descenso fue significativo durante el período considerado representando a los 14 meses en MT-3, TS-3 y MPF-3 respectivamente un 34, 35 y 38 % del contenido registrado al desborre.

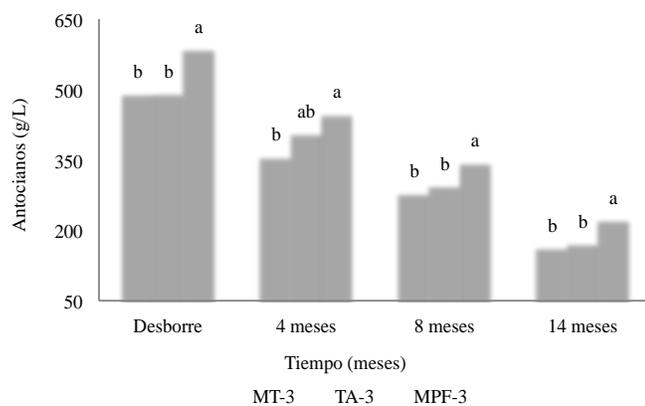


Figura 28 Evolución del contenido de antocianos en los vinos según momento analítico y tratamiento MT-3 = maceración tradicional, TS-3 = maceración con adición de taninos de semilla de uva en el encubado, MPF-3 = maceración prefermentativa en frío. Antocianos expresados en mg/L de malvidina-3-glucósido.

A partir de los 4 meses los contenidos de antocianos en los vinos TS-3 fueron superiores a los registrados en los MT-3 si bien las diferencias no fueron estadísticas. Sin embargo fueron los vinos MPF-3 los que mantuvieron en el tiempo las concentraciones significativamente superiores de estos compuestos. Las diferencias con los restantes tratamientos tendieron a incrementarse en términos porcentuales, desde 16 a 25% respecto a MT-3 y de 16 a 22 % en relación a TS-3. Este resultado es relevante, debido a que el efecto de la técnica se mantuvo en el tiempo y a la importancia de

conservar altos valores de antocianos en el vino que permitirá mantener su aspecto inicial así como su capacidad de guarda. Adicionalmente, los vinos elaborados por diferentes alternativas tienden a disminuir sus diferencias con el tiempo (González-Neves et al., 2010b) siendo los resultados también interesantes al diferir en este aspecto.

Estos resultado está de acuerdo con lo propuesto para la técnica (Álvarez et al., 2006, Sacchi et al., 2005), difiriendo de reportes anteriores en Tannat (González-Neves et al., 2012, 2010 a y b, 2008).

Respecto a las catequinas, los vinos MPF-3 fueron los que mantuvieron contenidos superiores a los testigos en ambas fechas analíticas (figura N° 29) de acuerdo a lo apreciado en experiencias anteriores con la técnica como ya fue mencionado.

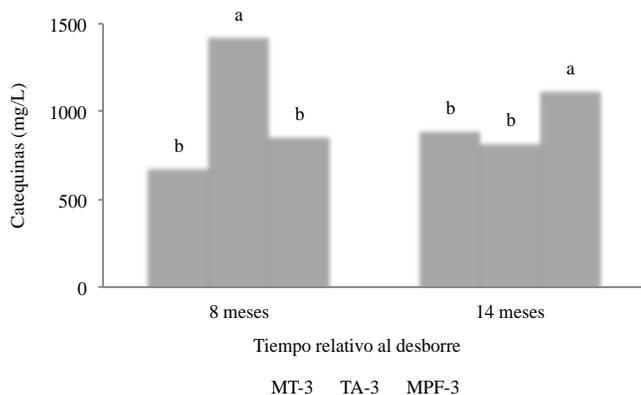


Figura 29 Evolución del contenido de catequinas según tratamiento

MT-3 = maceración tradicional, TS-3 = maceración con adición de taninos de semilla de uva en el encubado, MPF-3 = maceración prefermentativa en frío. Catequinas expresadas en mg/L de D-catequina

En cuanto a las proantocianidinas, los tres momentos en que esta variable fue medida (figura N° 30), los vinos MPF-3 tuvieron las mayores concentraciones, diferenciándose significativamente de los MT-3 a los 8 meses y de MT-3 y TS-3 a los 14 meses.

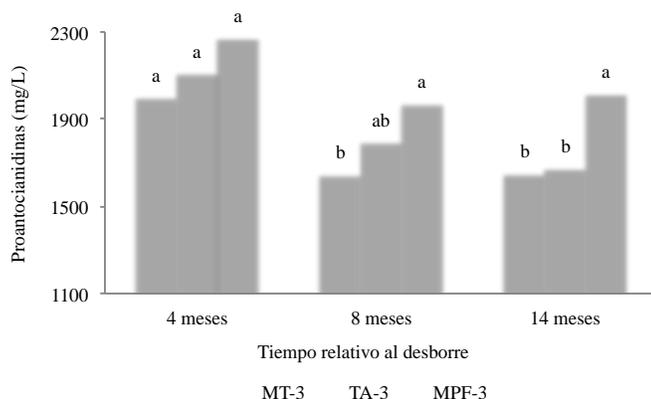


Figura 30 Evolución del contenido en proantocianidinas según tratamiento y momento analítico  
 MT-3 = maceración tradicional, TS-3 = maceración con adición de taninos de semilla de uva en el encubado, MPF-3 = maceración prefermentativa en frío. Las proantocianidinas se expresan en mg/L de cloruro de cianidina.

Los vinos TS-3 tuvieron contenidos superiores en proantocianidinas a los MT-3, particularmente en los dos primeros muestreos si bien las diferencias no fueron significativas. Se aprecia nuevamente que el manejo del potencial natural de la uva mediante la técnica de vinificación tuvo mayor efecto que la adición de taninos enológicos al mosto, aún para esta variable que cuantifica los taninos.

### 3.3.5.2 Color

La IC de los vinos descendió en todos los tratamientos en el transcurso del período analítico de 14 meses (Figura 31), mientras que la tonalidad se incrementó (Figura N° 32).

Los vinos de la MPF-3 tuvieron la mayor IC al desborre y los 4 meses, diferencias que fueron estadísticas respecto a los vinos MT-3. Sin embargo los vinos TS-3 presentaron los valores superiores de IC a los 8 y 14 meses.

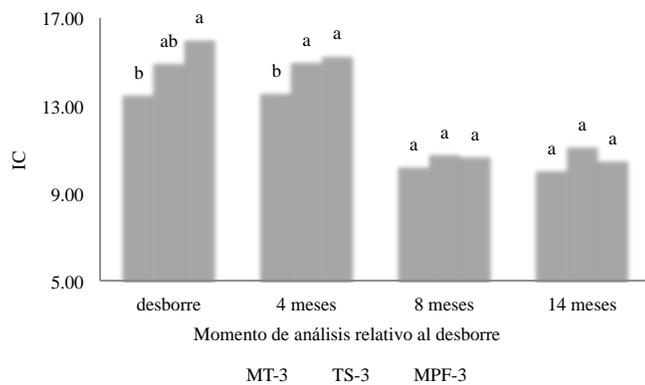


Figura 31 Evolución de la Intensidad Colorante según momento de análisis y tratamiento

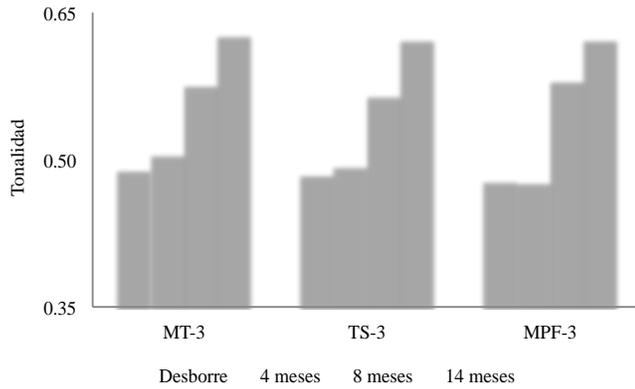


Figura 32 Evolución de la tonalidad del vino según tratamiento y momento de análisis

MT-3 = maceración tradicional, TS-3 = maceración con adición de taninos de semilla de uva en el encubado, MPF-3 = maceración prefermentativa en frío.

Teniendo en cuenta la evolución del contenido de antocianos presentada, los resultados apoyan la hipótesis de que la adición de taninos habría favorecido la evolución de los pigmentos hacia formas más estables. Si bien las diferencias a partir de los 4 meses no fueron significativas, la tendencia es importante ya que estaría reflejando un efecto de los taninos adicionados sobre la estabilidad del color. Esto estaría de acuerdo con la recomendación de estos compuestos y a lo citado por algunos autores (Crespy 2002, Lurton 2002).

Cuando se estudia la participación porcentual del color rojo, amarillo y azul en la IC (tabla 28), el efecto de la alternativa de vinificación no resulta evidente. No obstante se aprecia claramente la influencia del tiempo sobre estas variables.

El porcentaje de cada color varió en forma similar en todos los tratamiento. El de color amarillo aumentó desde aproximadamente 29,5% al desborre a 33,5 % a los 14 meses, el de rojo descendió de 61,0 a 53,7 % y el de azul aumentó de 9,5 a 12,8 % en el mismo período. Así las diferencias de tonalidad entre tratamientos para cada momento analítico no fueron significativa al haber registrado similares incrementos de amarillo y descensos de rojo. Por lo tanto las alternativas de vinificación no modificaron significativamente la evolución de la calidad del color.

Adicionalmente se incluye en el análisis del color según los parámetros CIELAB. Según éstos se aprecia que los vinos se tornaron más claros (mayor luminosidad “L\*”), con menor saturación (C\*) y cromaticidad roja (descenso de a\*). El parámetro b\* tuvo tendencia a disminuir indicando que el aumento del componente azul tuvo más peso que el del amarillo en el tiempo de evaluación.

Tabla 28 Evolución del color del vino según tratamiento y momento analítico

	Desborre			4 meses			8 meses			14 meses		
	MT	TS	MPF	MT	TS	MPF	MT	TS	MPF	MT	TS	MPF
% Ama	29,9	29,4	29,3	29,9	29,4	29	32,3	31,9	32,6	33,6	33,5	33,5
% Roj	60,8	60,6	61,2	59	59,5	60,7	56	56,3	56	53,6	53,7	53,7
% Azu	9,3	10,1	9,5	11,1	11,1	10,3	11,8	11,8	11,4	12,8	12,9	12,8
C*	59,3	59,0	61,2	57,4	57,9	60,9	49,4	52,2	51,5	46,7	48,7	48,1
L*	45,8	42,3	41,1	43,6	40,3	41,1	51,7	50	50,3	52,1	49,2	50,3
a*	58,5	58,2	59,9	57,0	57,5	60,2	49,1	52	51,2	46,5	48,4	47,9
b*	9,6	9,7	12,4	6,0	6,9	9,1	5,3	2,5	5,7	4,3	6,0	3,52

Ama = amarillo, Roj = rojo, Azu = azul. C\* = saturación, L\* = luminosidad, a\* cromaticidad roja, b\* cromaticidad amarilla.

Si bien las diferencias no fueron significativas, los vinos TS-3 fueron a los 8 y 14 meses los de color más rojos, saturado y de menor luminosidad, apoyando estos resultados la tendencia discutida de IC.

### 3.4 ENSAYO 4

#### 3.4.1 Composición de la uva en cosecha

##### 3.4.1.1 Composición general

En la tabla 29 se observa el peso de grano y composición general de la uva a cosecha.

Tabla 29 Composición general de la uva empleada en el ensayo

Peso de grano (g)	Azúcar (g/L)	Alcohol probable	Acidez (g/L H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	pH
1,6	229,1	12,7	3,9	3,44

El nivel de azúcares, acidez y pH indican uva que alcanzó un correcto grado de maduración.

##### 3.4.1.2 Composición fenólica

Los valores presentados en la tabla 30, indican uva que contenía muy bajos niveles de potencial en antocianos totales y particularmente fenoles totales si se tienen en cuenta los niveles comúnmente reportados para Tannat en madurez tecnológica (González-Neves et al. 2012, González-Neves et al., 2004). El índice de extractibilidad de los antocianos fue alto, si bien no son valores elevados para la variedad Tannat (González-Neves et al. 2012, González-Neves et al., 2004).

En síntesis, la uva empleada en las vinificaciones fue pobre en antocianos y polifenoles totales, con una alta proporción de taninos en las semillas.

Tabla 30 Caracterización fenólica de las uvas empleadas en el ensayo

A 280	ApH 1	ApH 3,2	EA %	dpell	dTpep	dpell%	Mp%
45,0	1149,1	587,2	48,9	23,5	21,4	52,3	47,7

A280 riqueza polifenólica de la uva, ApH1 potencial total en antocianos, ApH3,2 potencial en antocianos extraíbles, EA% índice de extractibilidad de los antocianos, dpell contenido de taninos de hollejos, dpell% proporción de taninos de hollejos, dTpep contenido de taninos de semillas, Mp% índice de madurez de las semillas.

### 3.4.2 Vinificaciones

La figura 33 muestra la evolución del IPT durante las maceraciones. Se observa que los tratamientos con adición de taninos, tuvieron valores superiores a MT-4 particularmente durante la primera mitad de la maceración, lo cual puede deberse a las concentraciones en taninos de los compuestos adicionados.

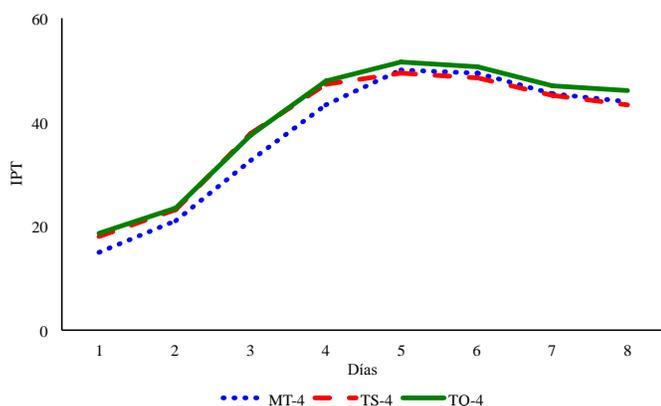


Figura 33 Evolución del IPT durante la maceración según tratamiento

IPT = índice de polifenoles totales; MT-4 = maceración tradicional; TS-4 = maceración con adición de taninos de semilla en el encubado; TQ-4 = maceración con adición de taninos de quebracho en el encubado

Sin embargo, luego del cuarto día, los vinos TQ-4 mantuvieron mayores valores de IPT respecto al testigo, mientras TS-4 tuvo un descenso superior al observado en los restantes tratamientos, finalizando con los menores registros.

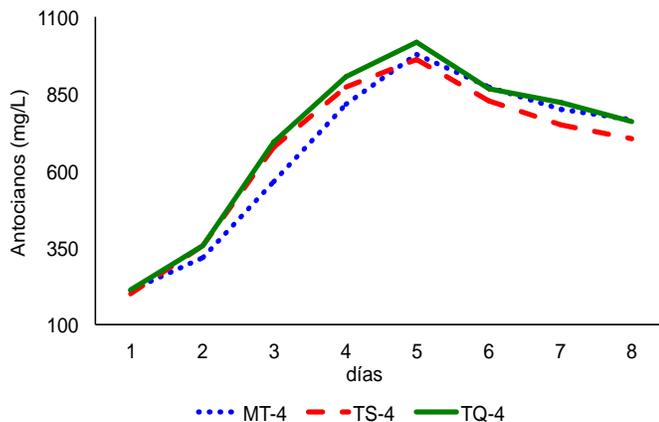


Figura 34 Evolución del contenido de antocianos durante la maceración según tratamiento  
Los antocianos se expresan en mg/L de malvidina-3-glucósido.

En el seguimiento de los contenidos de antocianos, se aprecia que los mostos TS-4 y TQ-4 tuvieron concentraciones superiores a los MT-4 durante la primera mitad del encubado. Esto estaría de acuerdo con las propiedades de protección oxidativa definida para estos compuestos (Obradovic 2006, Celotti et al., 1999). Se podría especular con que los productos comerciales también fueron fuente de antocianos, sin embargo en el primer día los tres tratamientos tuvieron contenidos similares de AT. A partir del quinto día de encubado, los vinos MT-4 y TQ-4 tuvieron registros similares de antocianos hasta el descube, mientras los TS-4 registraron niveles menores, finalizando con concentraciones 8% inferiores a éstos. Si el descenso fue debido a reacciones de condensación con los taninos serían esperables mayores niveles de color en el vino en el tiempo. Igualmente esto no sería concluyente debido a los múltiples factores de los cuales depende el color y a que los complejos antocianos-taninos no siempre generan moléculas más estables que sus predecesoras ni dichos compuestos son en todos los casos coloreados (Fulcrand et al., 2006).

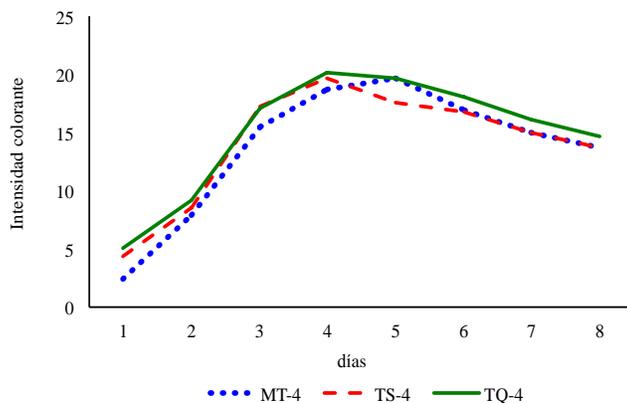


Figura 35 Evolución de la intensidad colorante durante la maceración según tratamiento

MT-4 = maceración tradicional; TS-4 = maceración con adición de taninos de semilla en el encubado; TQ-4 = maceración con adición de taninos de quebracho en el encubado

La evolución de la intensidad colorante estuvo en relación a la respectiva acumulación de AT en cada tratamiento, si bien las diferencias entre estos fueron menores. Sin embargo en el primer día de maceración hubo un aparente efecto directo del agregado de taninos sobre el color. Resultados similares han sido reportados por Bautista-Ortín et al. (2005), Vivas et al. (2003), Celotti et al. (1999). Mientras Vivas et al. (2003) lo atribuyen a un efecto de copigmentación de los taninos, Celotti et al. (1999) a la protección oxidativa de los pigmentos como fue mencionado.

### **3.4.3 Análisis de los vinos al desborre**

#### **3.4.3.1 Polifenoles totales y antocianos totales**

Los vinos de las diferentes alternativas de vinificación no tuvieron diferencias significativas en el contenido de polifenoles totales y antocianos. A nivel de polifenoles totales habría sido esperable que la adición de taninos se reflejara en un incremento respecto a las concentraciones en los vinos MT-4. Sin embargo no siempre la adición de taninos en las dosis recomendadas es cuantificable en el vino como ha sido reportado

por Harbertson et al. (2012). Adicionalmente para el caso de los taninos de quebracho, su cuantificación analítica puede ser subestimar su contenido real como fue discutido anteriormente.

Tabla 31 Contenidos en polifenoles totales y antocianos en los vinos al desborre según tratamiento

	Polifenoles Totales	Antocianos Totales
MT-4	1312,1 a	600,2 a
TS-4	1344,2 a	614,3 a
TQ-4	1217,3 a	591,1 a

MT-4 = maceración tradicional; TS-4 = maceración con adición de taninos de semilla en el encubado; TQ-4 = maceración con adición de taninos de quebracho en el encubado. Polifenoles totales expresados en g/L de ácido gálico, Antocianos en mg/L de malvidina-3-glucósido.

Respecto al nivel de antocianos no resulta simple analizar si fue eventualmente afectado en los vinos TS-4 por la adición de taninos, debido a que dependerá del balance entre las principales propiedades que se les confiere, protección oxidativa vs estabilización de antocianos. El primer efecto daría lugar a mayores contenidos de antocianos, mientras éstos serían menores si el proceso dominante fue la estabilización. Según los resultados reportados por Álvarez (2007) prevalecería el segundo factor lo que no se puede concluir con los resultados de los presentes ensayos. Éstos son concordantes con los reportados en vinos Merlot y Cabernet Sauvignon por Harbertson et al. (2012) quienes no hallaron diferencias en los contenidos de antocianos en los vinos con adiciones de taninos.

#### Color

El color de los vinos fue muy similar entre tratamientos no presentando diferencias significativas en las variables consideradas según los índices de Glories o CIELAB (tablas 32 y 33).

Tabla 32 Color de los vinos al desborre según tratamiento

	A420	A520	A620	IC	Tonalidad	% amarillo	% rojo	% azul
MT-4	0,38 a	0,74 a	0,13 a	12,5 a	0,51 a	30,3 a	60,0 a	10,8 a
TS-4	0,37 a	0,73 a	0,13 a	12,2 a	0,51 a	30,3 a	59,4 a	10,3 a
TQ-4	0,37 a	0,73 a	0,12 a	12,2 a	0,50 a	30,1 a	59,7 a	10,2 a

MT-4 = maceración tradicional; TS-4 = maceración con adición de taninos de semilla en el encubado; TQ-4 = maceración con adición de taninos de quebracho en el encubado. IC = intensidad colorante

El agregado de taninos enológicos es recomendado para aumentar la estabilidad del color, lo que es evaluado en el transcurso del tiempo, pero también su intensidad y calidad. En las condiciones de vinificación en que fueron empleados los taninos éstos efectos no fueron observados al descube.

Tabla 33 Color CIELAB de los vinos al descube según tratamiento

	L*	C*	a*	b*
MT-4	47,0 a	54,7 a	54,5 a	4,5 a
TS-4	48,0 a	55,3 a	55,1 a	5,0 a
TQ-4	48,1 a	55,5 a	55,3 a	5,1 a

MT-4 = maceración tradicional; TS-4 = maceración con adición de taninos de semilla en el encubado; TQ-4 = maceración con adición de taninos de quebracho en el encubado. L\* = luminosidad, C\* = saturación, a\* = cromaticidad roja, b\* cromaticidad amarilla

Similares resultados son reportados por Delteil (2000) para vinos Merlot y Harbertson et al. (2012) en Merlot y Cabernet Sauvignon, sin embargo Obradovic (2006) señala importantes aumentos del color y descensos de la tonalidad desde el comienzo del almacenamiento del vino en relación al testigo, como resultado de la adición de taninos de semilla de uva (pre o post fermentación) a mostos/vinos Syrah. Al estado del conocimiento actual no es posible determinar las causas de las diferencias reportadas.

### **3.4.4 Análisis de los vinos a los 4 meses del desborre**

#### **3.4.4.1 Composición general**

La composición general de los vinos según tratamiento se presenta en la tabla 34.

Tabla 34 Composición general de los vinos a los 4 meses del descube según tratamiento

	Alcohol	Ac. Total	Ac. Volátil	pH	Az. Reduc.	SO <sub>2</sub> t	SO <sub>2</sub> l
MT-4	13,1	3,8	0,2	3,51	1,7	48,8	4,0
TS-4	13,0	3,4	0,2	3,60	1,7	46,6	4,0
TQ-4	13,0	3,8	0,2	3,51	1,6	46,9	1,6
TD-4	12,9	3,5	0,2	3,54	1,6	36,8	4,4

MT-4 = maceración tradicional; TS-4 = maceración con adición de taninos de semilla en el encubado; TQ-4 = maceración con adición de taninos de quebracho en el encubado; TD = adición de taninos enológicos de semilla al descube. Ac. Total = acidez total en g/L de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, Ac. Volátil = acidez volátil en g/L de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, Az. Reduc. = azúcares reductores en g/L.

Los vinos elaborados con las diferentes alternativas de vinificación tuvieron un grado alcohólico similar, habiéndose completado en todos los casos la fermentación alcohólica como lo expresan los valores de azúcares reductores. Los valores de acidez volátil expresan que el proceso de vinificación y conservación se realizó en excelentes condiciones sanitarias. Las diferencias en acidez total, pH y acidez volátil de TS-4 respecto a los restantes tratamientos serían producto del desarrollo espontáneo de fermentación maloláctica en uno de los dos vinos realizados mediante esta técnica, como será presentado. Los niveles de anhídrido sulfuroso total están de acuerdo a con las dosis utilizadas mientras los bajos niveles de anhídrido libre podrían explicar el citado desarrollado espontáneo de la fermentación maloláctica en el vino TS-4-1.

#### **3.4.4.2 Ácidos mayoritarios de los vinos a los 4 meses del descube**

Como fue mencionado en el ensayo N°1, el análisis de los ácidos mayoritarios, permite evaluar si en alguno de los vinos hubo desarrollo de fermentación maloláctica.

Con los resultados mostrados en la tabla 35, es posible inferir que los vinos TS-4-1 tuvieron concentraciones cercanas a cero de ácido málico, indicando que tuvo desarrollo casi completo de fermentación maloláctica.

Al estudiar las variables que son factibles de ser afectadas por dicho proceso se observó que en comparación a TS-4-2 (datos no presentados), los vinos TS-4-1 tuvieron: mayor pH, menor color, acidez y antocianos totales. También fue mayor la tonalidad y la acidez volátil si bien se mantuvo dentro de valores bajos. Estos resultados están de acuerdo a los efectos de la fermentación maloláctica reportados para los vinos tintos (Vrhovsek et al., 2002).

Tabla 35 Ácidos mayoritarios en los vinos a los 4 meses del descube según tratamiento y unidad experimental

Tratamiento	Ác. Tartárico (g/L)	Ác. Málico (g/L)	Ác. Láctico (g/L)
MT-4-1	4,0	3,1	3,2
MT-4-2	3,8	2,4	2,3
TS-4-1	3,2	0,1	2,7
TS-4-2	3,8	2,4	3,1
TQ-4-1	3,9	3,1	3,3
TQ-4-2	3,8	2,8	3,4
T-4-D	4,2	2,6	3,4

MT-4 = maceración tradicional; TS-4 = maceración con adición de taninos de semilla en el encubado; TQ-4 = maceración con adición de taninos de quebracho en el encubado; TD = adición de taninos enológicos de semilla al descube. Ác. = ácido

Por lo tanto al considerar los valores promedio de éstas variables se tendrá consideración a lo expuesto en esta sección.

#### 3.4.4.3 Familias fenólicas

La tabla 36 presenta los valores según tratamiento de polifenoles totales, antocianos y proantocianidinas según tratamiento a los 4 meses del desborre.

En polifenoles totales si bien las diferencias no fueron estadísticas todos los tratamientos con adición de taninos mantuvieron contenidos superiores a la maceración tradicional, particularmente los vinos TD-4.

Tabla 36 Familias fenólicas de los vinos a los 4 meses del desborre según tratamiento

Tratamiento	Polifenoles Totales	Antocianos	Proantocianidinas
MT-4	949,4 a	446,2 a	1976,5 b
TS-4	1073,2 a	450,2 a	2029,7 ab
TQ-4	974,5 a	432,9 a	1971,7 b
TD-4	1103,7 a	443,3 a	2223,0 a

MT-4 = maceración tradicional; TS-4 = maceración con adición de taninos de semilla en el encubado; TQ-4 = maceración con adición de taninos de quebracho en el encubado; TD = adición de taninos enológicos de semilla al descube. Polifenoles totales en mg/L de ácido gálico, antocianos en mg/L de malvidina-3-glucósido, proantocianidinas en mg/L de cloruro de cianidina.

Si bien en antocianos todos los vinos tuvieron concentraciones similares en proantocianidinas las diferencias fueron significativas. Los mayores contenidos se registraron en los vinos con adición de taninos de semilla, particularmente cuando el agregado fue realizado en el descube.

#### 3.4.4.4 Color

La intensidad colorante del vino a los 4 meses del desborre no tuvo diferencias estadísticas entre tratamientos, si bien el mayor y menor valor se presentó en los vinos con adición de taninos de semilla al descube y encubado respectivamente (tabla 37).

Tabla 37 Color del vino a los 4 meses del desborre según tratamiento

Tratamiento	A420	A520	A620	IC
MT-4	3,2	6,0	1,2	10,4 a
TS-4	3,0	5,5	1,2	9,7 a
TQ-4	3,1	5,9	1,2	10,2 a
TD-4	3,4	6,3	1,3	11,1 a

MT-4 = maceración tradicional; TS-4 = maceración con adición de taninos de semilla en el encubado; TQ-4 = maceración con adición de taninos de quebracho en el encubado; TD = adición de taninos enológicos de semilla al descube. IC = intensidad colorante.

La diferencia fue resultado particularmente de las absorbancias a 520 nm, que representa el color rojo del vino.

En la tabla 38 se presenta el color evaluado según los índices de copigmentación.

Para los vinos TS-4 y TQ-4, no se obtuvieron evidencias de que la técnica hubiese incrementado la copigmentación o el color debido a polímeros respecto a MT-4.

Tabla 38 Índices de copigmentación del vino según tratamiento a los 4 meses del descube

	P	A	C
MT-4	1,6 a	3,0 a	1,6 a
TS-4	1,5 a	2,9 a	1,3 a
TQ-4	1,6 a	2,9 a	1,6 a

MT-4 = maceración tradicional; TS-4 = maceración con adición de taninos de semilla en el encubado; TQ-4 = maceración con adición de taninos de quebracho en el encubado. A = color debido a antocianos, C = color debido a copigmentación P = color debido a polímeros

Lo mismo es válido si se considera la participación porcentual de cada fracción (datos no presentados) en el color. Particularmente TS-4, tratamiento que presentó la menor IC, tuvo la mayor diferencia con los restantes tratamientos en los valores de copigmentación. Estos resultados difieren de lo presentado por Obradovic (2006) quien señala que los taninos de semilla son excelentes copigmentos. Igualmente González-Manzano et al. (2009) encontraron que la adición de 200 mg/L de taninos de semilla de uva a soluciones modelos, aumentaba significativamente el color por efecto de copigmentación. Si bien no hay reportes del efecto de taninos de quebracho en la copigmentación de vinos tintos, diversos fenoles han mostrado ser eficientes copigmentos de los antocianos (Boulton, 2001).

Finalmente los vinos MT-4 fueron superiores en las fracciones A, P y C del color, por lo que TS-4 y TQ-4 tampoco incrementaron el color debido a polímeros o antocianos en el vino.

Sin embargo como será presentado, las diferencias en color de TQ-4 respecto a MT-4 fueron constatadas a partir de los 4 meses, por lo que el presente análisis no es informativo sobre dicho período.

#### **3.4.4.5 Análisis sensorial**

En el análisis descriptivo sensorial realizado no fueron diferenciados los vinos según tratamiento para ninguna de las variables consideradas (datos no presentados). Por lo tanto, la adición de taninos de semilla y quebracho a la dosis de 200 mg/L no determinó diferencias sobresalientes que pudieran ser cuantificadas en el análisis. En este sentido se destaca que la adición de taninos en el descube no fue percibida en los vinos por incrementar el amargor o la astringencia. Estos resultados difieren de los presentados por Bautista-Ortín et al. (2005) quienes reportan que los vinos con adición de taninos enológicos, fueron percibidos como más astringentes, amargos, secos, herbáceos y con menor equilibrio en relación a los vinos no tratados. Cabe destacar que si bien utilizaron igualmente la dosis recomendada en ese caso fue de 400 mg/L (tanino proantocianidínico).

### **3.4.5 Evolución de la composición del vino**

#### **3.4.5.1 Composición fenólica**

Independientemente del tratamiento con el cual fue realizado el vino, los contenidos de antocianos descendieron significativamente en el tiempo, principalmente en los primeros cuatro meses, y entre los 8 y 14 meses (figura 36, tabla 39)

Hasta los 4 meses el contenido en antocianos en los vinos de los diferentes tratamientos fue similar, mientras que a partir de los 8 meses, los vinos TQ-4 y particularmente TD-4 registraron contenidos inferiores a los MT-4 (7,5 y 20% respectivamente) y TS-4.

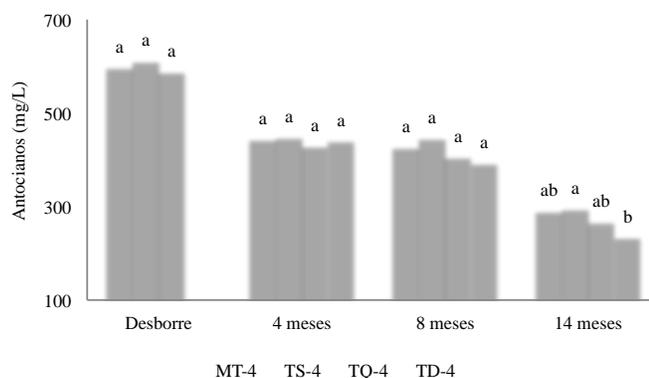


Figura 36 Evolución de los contenidos de antocianos en el tiempo según tratamiento MT-4 = maceración tradicional; TS-4 = maceración con adición de taninos de semilla en el encubado; TQ-4 = maceración con adición de taninos de quebracho en el encubado. Antocianos expresados en mg/L de malvidina-3-glucósido.

Las causas por las cuales se produce la disminución de antocianos han sido discutidas precedentemente. Sin embargo se aprecia en la tabla 39 que hubo diferencias en la magnitud de los descensos según el tratamiento con el que fueron elaborados los vinos.

Tabla 39 Evolución porcentual del descenso del contenido de antocianos entre períodos de análisis consecutivos según tratamiento

	D-4	4-8	8-14
MT-4	25,6 %	3,6 %	32,0 %
TS-4	26,7 %	0,5 %	33,6 %
TQ-4	26,8 %	5,5 %	33,8 %
TD-4	-	10,9 %	40,0 %

MT-4 = maceración tradicional; TS-4 = maceración con adición de taninos de semilla en el encubado; TQ-4 = maceración con adición de taninos de quebracho en el encubado; TD = adición de taninos enológicos de semilla al descube. D = desborre; 4, 8, 14 = meses desde el desborre

En los primeros cuatro meses la disminución de los antocianos significó aproximadamente un 25 % en MT-4, TS-4 y TQ-4. Sin embargo en el período

comprendido entre los 4 y 8 meses, los vinos TS-4 tuvieron la menor variación, mientras destaca que los vinos TD-4 registraron un descenso en antocianos muy superior. En el último período considerado, los vinos TD-4 registraron nuevamente el mayor descenso. Los vinos TQ-4 en los tres períodos considerados tuvieron mayores variaciones al testigo si bien las diferencias fueron poco significativas. La determinación de antocianos utilizada (Ribéreau-Gayon y Stonestreet, 1965) mide su contenido en función de la decoloración causada por anhídrido sulfuroso. Las reacciones de polimerización de los taninos con los antocianos pueden impedir la citada decoloración (He et al., 2012) por lo que ya no serán cuantificados junto a los antocianos monoméricos. Por lo tanto lo observado en los vinos TD-4 podría estar explicado por dicho fenómeno de formación de pigmentos poliméricos, lo que está de acuerdo con las reacciones en las que participan los taninos en los vinos (Fulcrand et al., 2006) así como con lo enunciado comercialmente y por algunos resultados de investigación para el agregado de taninos enológicos (Canuti et al., 2012, Álvarez, 2007, Crespy y Urban, 2002, ).

Finalmente las diferencias solo fueron significativas a los 14 meses entre los contenidos de antocianos en los vinos TS-4 y TD-4. Resulta importante destacar que la única diferencia entre estos tratamientos fue el momento en que se agregaron los taninos enológicos de semilla de uva, encubado vs descube respectivamente.

Respecto a las restantes familias fenólicas, la adición de taninos enológicos al mosto y particularmente al vino, incrementó el contenido de polifenoles totales (figura 37) y flavanos (figuras 38 y 39) diferencias que se mantuvieron en el tiempo.

En este ensayo, la adición de taninos pudo ser cuantificada a nivel del incremento en polifenoles totales en los vinos TS-4 y especialmente TD-4, si bien TQ-4 tuvo concentraciones superiores a MT-4 a partir del segundo análisis, especialmente a los 8 y 14 meses.

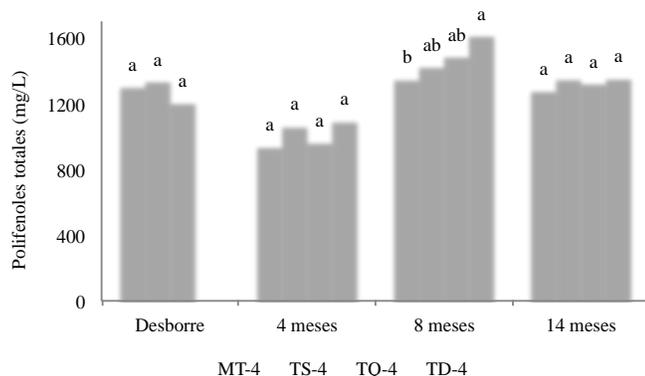


Figura 37 Polifenoles totales según tratamiento y momento de análisis

MT-4 = maceración tradicional; TS-4 = maceración con adición de taninos de semilla en el encubado; TQ-4 = maceración con adición de taninos de quebracho en el encubado. TD = adición de taninos enológicos de semilla al descube. Polifenoles totales expresados en mg/L de ácido gálico.

A nivel de proantocianidinas también fueron registrados contenidos superiores en TS-4 y especialmente TD-4 si bien las diferencias no fueron estadísticas en todos los casos.

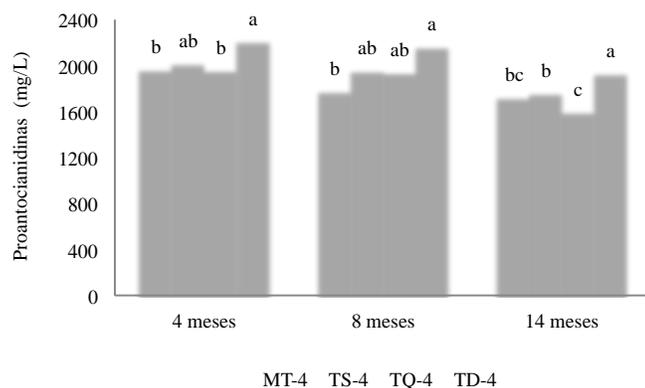


Figura 38 Proantocianidinas según tratamiento y momento de análisis

MT-4 = maceración tradicional; TS-4 = maceración con adición de taninos de semilla en el encubado; TQ-4 = maceración con adición de taninos de quebracho en el encubado, TD = adición de taninos enológicos de semilla al descube. Proantocianidinas expresadas en mg/L de cloruro de cianidina.

Si bien el tipo de tanino y las dosis adicionadas fueron las mismas en TS-4 y TD-4, era de esperar que permanecieran mayores contenidos en los vinos TD-4, ya que parte

de los adicionados en el encubado pueden ser adsorbidos en hollejos y borras, elementos que son separados del vino al descube y desborre respectivamente.

Respecto a los contenidos de catequinas en los vinos, a los 8 meses la variabilidad registrada no permitió observar diferencias analíticas, mientras que a lo 14 meses los vinos con adición de taninos de semilla tuvieron mayores contenidos al testigo (significativos en los TD-4).

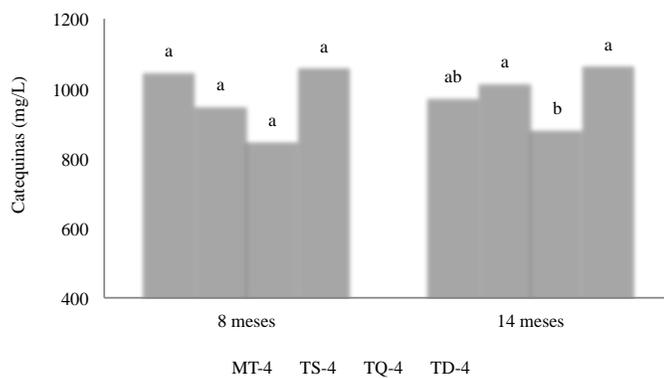


Figura 39 Catequinas según tratamiento y momento analítico

MT-4 = maceración tradicional; TS-4 = maceración con adición de taninos de semilla en el encubado; TQ-4 = maceración con adición de taninos de quebracho en el encubado, TD = adición de taninos enológicos de semilla al descube. Catequinas expresadas en mg/L de D-catequina.

Los vinos TQ-4 presentaron los menores valores, lo que podría deberse a la menor reactividad de los taninos de quebracho en la determinación analítica como fue comentado previamente.

### 3.4.5.2 Color

El color de los vinos, independientemente del tratamiento considerado, descendió en forma significativa en el tiempo. Las diferencias más importantes se registraron hasta los 8 meses, luego de lo cual la intensidad colorante permaneció sin cambios significativos, a pesar de que el contenido en antocianos continuó disminuyendo como

fue presentado. Por lo tanto a partir de los 8 meses habría una mayor proporción de pigmentos estables participando del color del vino.

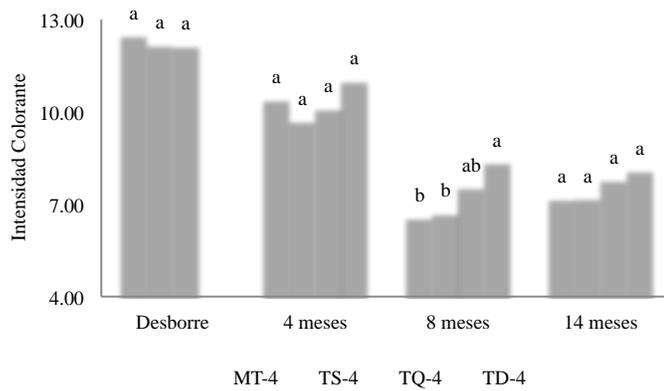


Figura 40 Evolución del color del vino en el tiempo según tratamiento

MT-4 = maceración tradicional; TS-4 = maceración con adición de taninos de semilla en el encubado; TQ-4 = maceración con adición de taninos de quebracho en el encubado, TD = adición de taninos enológicos de semilla al descube.

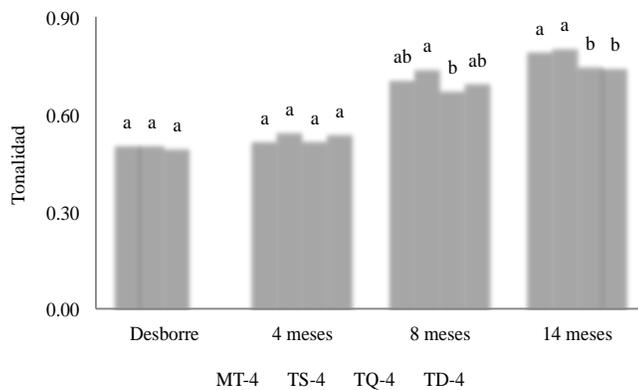


Figura 41 Evolución de la tonalidad en el tiempo según tratamiento

MT-4 = maceración tradicional; TS-4 = maceración con adición de taninos de semilla en el encubado; TQ-4 = maceración con adición de taninos de quebracho en el encubado, TD = adición de taninos enológicos de semilla al descube.

Al mismo tiempo la tonalidad se incrementó en todos los vinos, manteniendo registros inferiores en TQ-4 y TD-4 a partir de los cuatro meses con diferencias que fueron estadísticas a los 14 meses.

Tabla 40 Evolución porcentual del descenso de la intensidad colorante de los vinos entre períodos de análisis consecutivos según tratamiento

	D-4	4-8	8-14
MT-4	16,5	36,6	-8,9
TS-4	20,3	30,7	-7,0
TQ-4	16,8	25,3	-3,2
TD-4	-	24,1	3,2

MT-4 = maceración tradicional; TS-4 = maceración con adición de taninos de semilla en el encubado; TQ-4 = maceración con adición de taninos de quebracho en el encubado, TD = adición de taninos enológicos de semilla al descube.

Se espera que el momento de la adición de taninos determine los resultado de su aplicación pero no precisamente en el sentido en que fue observado. Si el objetivo es la protección oxidativa de los antocianos, deberían ser agregados en el encubado para que estén presentes cuando éstos comienzan a difundir de la uva al mosto etapa en la cual están más expuestos a degradaciones oxidativas (Romero-Cascales et al., 2005). Si se busca la estabilización del color, igualmente sería recomendable su adición en el encubado debido a que ha sido citada la importancia de estabilizar rápidamente los pigmentos como medio de mantener la intensidad del color en el tiempo (Bosso et al., 2002). Adicionalmente, el acetaldehído, molécula fundamental en los procesos de estabilización antocianos-taninos (Fulcrand et al., 2006, Saucier et al., 1997), es un metabolito intermediario en la fermentación alcohólica por lo que está presente en el mosto principalmente durante las primeras etapas de la fermentación (Bosso y Guaita, 2008). Sin embargo, se aprecia que los vinos que tuvieron mejores registros de color fueron en los que se adicionó taninos en el descube (TD-4). La diferencia respecto a los restantes tratamientos fue máxima en los análisis de los 8 meses si bien también fueron apreciadas a los 14 meses.

Se destaca en los resultados obtenidos la evolución del color de los vinos TQ-4 respecto a MT-4 y TS-4. Si bien al descube y a los 4 meses tuvo propiedades cromáticas inferiores a éstos, en los últimos dos muestreos presentaron mayor IC y menor tonalidad.

Que las diferencias se presentaran luego de un tiempo de guarda del vino podría deberse a que la adición de taninos de quebracho tuvo un efecto sobre la estabilización del color.

Cuando se cuantifican los valores porcentuales de disminución del color entre análisis consecutivos, se observa que en el período de mayor evolución, de los 4 a los 8 meses, en los vinos TQ-4 y TD-4 se registraron descensos significativamente inferiores a los observados en MT-4, mientras en TS-4 las diferencias respecto a los vinos testigo fueron menores.

El análisis del color según los parámetros CIELAB permite fortalecer la discusión sobre como las alternativas de vinificación afectaron el color de los vinos (figuras 42 a 45).

Al desborre no se registraron diferencias estadísticas entre tratamientos, sin embargo éstas comenzaron a presentarse a partir de los análisis a los 4 meses del desborre.

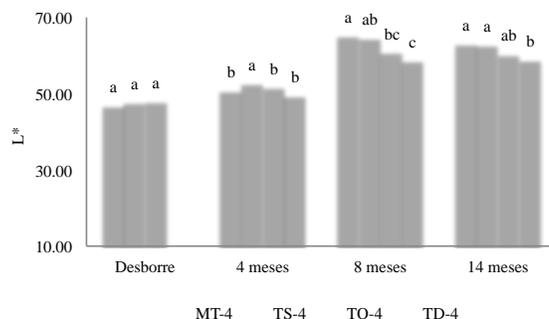


Figura 42 Luminosidad según momento analítico y tratamiento. MT-4 = maceración tradicional; TS-4 = maceración con adición de taninos de semilla en el encubado; TQ-4 = maceración con adición de taninos de quebracho en el encubado, TD = adición de taninos enológicos de semilla al descube.

En éstos los vinos TS-4 fueron significativamente más claros (mayor luminosidad) y presentaron la menor concentración y cromaticidad roja (diferencias no estadísticas). Al mismo tiempo los vinos TD-4 fueron significativamente más saturados y rojos.

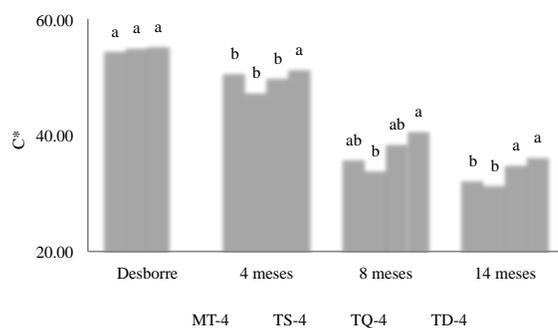


Figura 43 Saturación según momento analítico y tratamiento

MT-4 = maceración tradicional; TS-4 = maceración con adición de taninos de semilla en el encubado; TQ-4 = maceración con adición de taninos de quebracho en el encubado, TD = adición de taninos enológicos de semilla al descube. C\* = saturación.

A los 8 meses del desborre los vinos TQ-4 comenzaron a mostrar las mejores propiedades cromáticas junto a los TD-4 que confirmó lo observado en el período analítico anterior, en relación a los MT-4 y TS-4, si bien las diferencias no siempre fueron estadísticas. Así, los vinos TD-4 y TQ-4 tuvieron los vinos con menor luminosidad, más saturados (diferencias estadísticas en TD-4) y de mayor cromaticidad roja.

Finalmente a los 14 meses del desborre, diferencias que no fueron estadísticas a nivel de IC, pudieron ser confirmadas utilizando los parámetros de color CIELAB. Los vinos TQ-4 y especialmente TD-4 mantuvieron las mejores características cromáticas presentando la menor luminosidad, la mayor saturación y cromaticidad roja.

Los vinos TS-4 a partir de los 4 meses tuvieron menor saturación y cromaticidad roja que los testigo. Si bien las diferencias no fueron estadísticas, confirman haber presentado las propiedades cromáticas más negativas. Fue el tratamiento que más se apartó de los resultados obtenidos con TD-4, vinos que tuvieron la misma elaboración, dosis y tipo de tanino adicionado. Estos resultados son relevantes al determinar y cuantificar el efecto del momento de adición de los taninos.

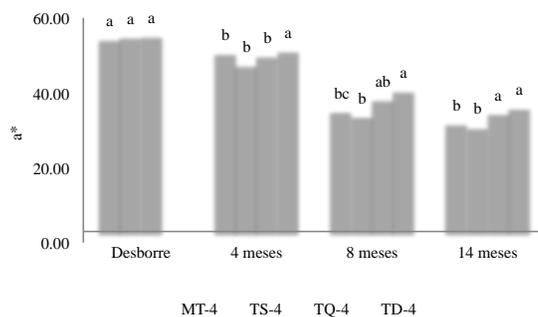


Figura 44 Cromaticidad roja según momento analítico y tratamiento

MT-4 = maceración tradicional; TS-4 = maceración con adición de taninos de semilla en el encubado; TQ-4 = maceración con adición de taninos de quebracho en el encubado, TD = adición de taninos enológicos de semilla al descube. a\* = cromaticidad roja.

Estos resultados difieren de lo reportado por Canuti et al. (2012), quienes en adiciones pre y post fermentativas citan mejoras significativas del color cuando los taninos enológicos de semilla fueron adicionados previo a la fermentación de uva Sangiovese. Darias-Martín et al. (2001) también encontraron respuestas moderadas pero positivas adicionando 150 mg/L de (+)-catequina previa fermentación, 10 % de aumento de color rojo del vino.

Sin embargo nuestros resultados están de acuerdo con lo señalado por Bautista-Ortín et al. (2005) quienes reportan que la maceración con adición de taninos no mejoró las propiedades cromáticas de los vinos. Sin embargo Bautista-Ortín et al. (2007) citan que las vinificaciones con adición de taninos dieron lugar a los vinos de mejor color. Atribuyen las diferencias con sus resultados anteriores a la diferente composición de la uva de cada vendimia.

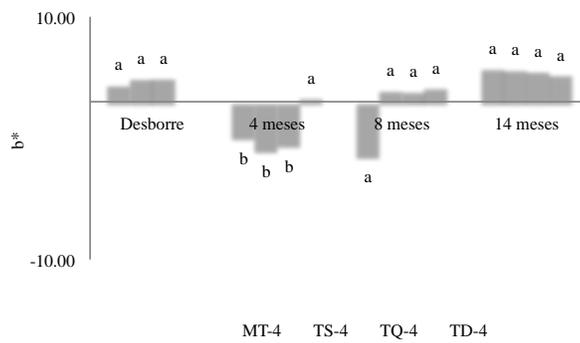


Figura 45 Cromaticidad amarilla según momento analítico y tratamiento

MT-4 = maceración tradicional; TS-4 = maceración con adición de taninos de semilla en el encubado; TQ-4 = maceración con adición de taninos de quebracho en el encubado, TD = adición de taninos enológicos de semilla al descube. b\* = cromaticidad amarilla.

La variable b\* (cromaticidad amarilla) tuvo elevada variabilidad no siendo informativa a los efectos de la discusión de los resultados.

## **4 DISCUSIÓN GENERAL**

Las alternativas de vinificación evaluadas tuvieron resultados diferentes dependiendo del ensayo considerado y su forma de aplicación. No obstante algunas variables fueron modificadas de la misma manera por un determinado tratamiento en todos los casos. Estos aspectos se discuten a continuación.

### **4.1 MACERACIÓN PREFERMENTATIVA EN FRÍO**

En las maceraciones MPF la acumulación de fenoles en el mosto fue más lenta que en la vinificación tradicional. Sin embargo la magnitud de las diferencias respecto al testigo fueron distintas en cada ensayo, para los antocianos en el N°3 muy inferiores a las registradas en el N°1.

Lo citado podría deberse a las características de extractibilidad de antocianos de la uva utilizada en cada caso. Como fue presentado, las uvas empleadas en el ensayo N° 3 tuvieron antocianos más fácilmente extraíbles que las empleadas en el N° 1.

Estos compuestos son extraídos principalmente al inicio de la maceración (Amrani y Glories, 1994) con diferente facilidad según se encuentren retenidos en los hollejos. Ésta es una característica que si bien puede variar entre cosechas está muy influenciada por la variedad de uva (González-Neves et al., 2004). Tannat ha sido caracterizada por presentar bajos niveles de extractibilidad de antocianos (González-Neves et al., 2004). Esto determina que sean extraídos con alguna dificultad. En consecuencia, ha sido recomendado realizar operaciones mecánicas (remontajes, bazuqueos) más frecuentes o más intensas desde el inicio de la maceración (González-Neves et al., 2010c) para superar esta limitante. Cuando el comienzo de los remontajes ha sido aplazado en la vinificación de Tannat, por aplicación de técnicas como la extracción diferida de antocianos o la MPF, se han verificado menores concentraciones de antocianos en los vinos en relación a las obtenidas mediante la maceración tradicional (González-Neves et

al., 2012, 2010 a y b, 2009, 2008). Es así que la mejor extractibilidad de los antocianos en las uvas del ensayo N°3 respecto a las del N° 1 y a las comúnmente reportadas en Tannat, pudo haber sido un factor determinante de los buenos resultados hallados con la MPF en dicho ensayo.

Estos resultados son coincidentes con lo reportado por Ortega-Heras et al. (2012), quienes resaltaron la importancia de contar con uva de buena maduración fenólica para obtener buenos resultados con la MPF.

Otra diferencia entre estos ensayos fue el tipo de refrigerante utilizado, hielo seco en el N° 1 vs recipientes con agua congelada en el N° 3. Sacchi et al. (2005) expresan que solo sería esperable una mejora en la extracción de antocianos en la MPF cuando hay congelación del mosto previa fermentación, como cuando se utiliza CO<sub>2</sub>(s).

Sin embargo, finalmente en los presentes ensayos, los vinos MPF-3 fueron los que presentaron más antocianos y color contrariamente a lo sucedido en MPF-1. Por lo tanto los resultados de la técnica habrían sido más afectados por las características de la uva que por el tipo de refrigeración utilizado.

Adicionalmente hubo otras diferencias entre estos dos ensayos pudiendo contribuir a explicar los resultados obtenidos en cada caso. En MPF-3, el tiempo de maceración posterior al prefermentativo en frío fue 3 días inferior al definido en MPF-1 y en los correspondientes tratamientos testigo. En MPF-1 así como en experiencias previas (González-Neves et al., 2008), el máximo de AT se registró al noveno o décimo día de maceración, por lo que el descube de MPF-3 (décimo día) se habría realizado en el máximo de antocianos y previamente a que su contenido comenzara a disminuir. De todos modos de las citadas experiencias fue el único caso en que se han alcanzado concentraciones superiores al tratamiento testigo en la MPF. Por lo tanto es un elemento que si bien pudo haber contribuido a los mayores valores de antocianos en la MPF-3 no habría sido el más determinante.

Adicionalmente en el ensayo N° 3 las fermentaciones fueron lentas en todos los tratamientos como fue señalado. En consecuencia los contenidos de etanol se incrementaron lentamente y no hubo maceración postfermentativa, cuando en las condiciones de ensayo lo habitual son algunos días de maceración luego de alcanzada la máxima graduación alcohólica (González-Neves et al., 2005). El contenido de etanol es uno de los factores determinantes de la difusión de antocianos y taninos desde las uvas y su solubilidad en el mosto (Kennedy 2008, Canals et al., 2005, Amrani y Glories, 1994). Por lo tanto la acumulación de fenoles en el mosto/vino habría sido más lenta y menor en relación a lo esperado en condiciones normales. En dicho contexto, en la MPF los días extras de maceración habrían permitido una mayor extracción fenólica de la uva al mosto/vino. No obstante, los mostos MPF en el último día de maceración en frío, tuvieron un contenido de antocianos similar al máximo registrado en MT y el cual es un valor importante en términos absolutos (773 mg/L). En consecuencia ésta no habría sido la única causa de los buenos resultados obtenidos con la MPF-3.

Respecto al efecto de la MPF en la extracción de flavanos, en ambos ensayos se obtuvieron contenidos superiores a los tratamientos testigo y particularmente en las familias más hidrosolubles, las catequinas. Esto podría deberse al mayor tiempo de maceración respecto al testigo, que si bien es en medio acuoso, permitiría la acumulación de taninos incluso desde las semillas como lo demuestran resultados recientes (Hernández-Jiménez et al., 2012, Busse-Valverde et al., 2011, Busse-Valverde et al., 2010). Estos resultados están de acuerdo con los reportados por diferentes autores (Zinnai et al., 2006, Zini et al., 2003) si bien difieren de lo citado en otros trabajos (Koyama et al., 2007, Llaudy et al., 2005, Parenti et al., 2004, Feuillat, 1997). Las diferencias pueden deberse al tiempo total de maceración respecto al testigo, (igual a éste en Koyama et al., 2007, Parenti et al., 2004) y/o a la cepa vinificada y la composición la uva en cosecha (González-Neves et al., 2008).

Otro efecto claramente asociado a la técnica fue el incremento respecto a los restantes tratamientos del contenido en alcoholes superiores en los vinos, lo que está de

acuerdo a lo observado en experiencias anteriores del grupo de investigación (Gustavo González-Neves, comunicación personal, setiembre de 2012). Resultados similares fueron reportados por Álvarez et al. (2006) autor que adjudica la causa al aumento de precursores aromáticos causado por el efecto de degradación del hielo seco sobre los hollejos. En los presentes estudios las diferencias respecto a los restantes tratamientos se registraron independientemente del método de refrigeración utilizado por lo que el eventual aumento de precursores podría estar relacionado al tiempo adicional de maceración en frío. Otros autores han vinculado la mejora aromática de los vinos producidos con MPF al desarrollo de levaduras nativas no *Saccharomyces* en la etapa prefermentativa en frío (Casassa et al., 2007, Feuillat 1997). Coincidentemente Jackson (2008) expresan que la producción de alcoholes superiores tiene alta dependencia de la cepa de levadura. Igualmente citan que el incremento de materias en suspensión aumenta los contenidos de alcoholes superiores. En la MPF es esperable que se incremente tanto la población de levaduras como su diversidad (Feuillat, 1997) así como los elementos en suspensión al comienzo de la fermentación alcohólica, lo que podría explicar los resultados encontrados.

El análisis conjunto de estos resultados muestran que estimar el valor de extractibilidad de los antocianos podría ser particularmente importante para decidir sobre la conveniencia del empleo de la MPF en la vinificación de Tannat. Si la uva presentara alto índice EA%, utilizar hielo seco en fase prefermentativa en frío no sería suficiente en Tannat para atenuar los efectos de la falta de remontajes sobre la extracción de antocianos. Finalmente ajustar el tiempo de maceración convencional en la MPF contribuiría a la obtención de buenos resultados con la técnica.

## **4.2 ADICIÓN DE TANINOS**

En los ensayos N° 1, 3 y 4 donde se realizó el seguimiento analítico de la vinificación los tratamientos con adición de taninos, tuvieron valores de IPT superiores a los testigos, particularmente durante la primera mitad de la maceración. Sin embargo

cuando se utilizó taninos de semilla de uva (TS-1, TS-3 y TS-4) en la segunda mitad de la maceración los registros fueron inferiores a los obtenidos en el testigo. Una cinética de evolución similar se observó en los mismos ensayos para los AT. Estos resultados sugieren que parte de los taninos adicionados podrían precipitar involucrando en el proceso moléculas de antocianos. Sin embargo los vinos TS resultantes tuvieron mayor contenido de proantocianidinas sugiriendo que de existir precipitación, la misma sería parcial.

En todos los casos se constató un mayor contenido de antocianos en los mostos adicionados con taninos respecto a MT en la primera mitad de las maceraciones. Estos resultados son consistentes con lo reportado por Celotti et al. (1999) respecto a que estos compuestos disminuirían temporalmente las oxidaciones. Al mismo tiempo es consistente con las propiedades definidas para los taninos, en los cuales los oxidrilos en posición orto en el anillo B les confiere propiedades antioxidantes (Vivas y Glories, 1996). Sin embargo solo se observaron mayores contenidos de antocianos en el vino TS-2, donde la fuente comercial de taninos fue diferente a la empleada en TS-1, TS-3 y TS-4. En éstos no hubo efectos cuantificables (TS-3 y TS-4), o éste fue disminuir su concentración (TS-1). Los resultados no son concluyentes, ya que como lo expresan Bautista-Ortín et al. (2007) pueden estar condicionados por la composición de la uva de cada vendimia.

En los vinos con adición de taninos de semillas se obtuvieron contenidos de polifenoles totales y taninos (proantocianidinas) superiores a los vinos testigo en todos los ensayos. Estos resultados son contrarios a los reportados por Harbertson et al. (2012), quienes expresaron que el agregado de taninos enológicos a las dosis comercialmente recomendadas implica un incremento en los contenidos de taninos que es menor al requerido para obtener un impacto medible en el vino. Sin embargo están de acuerdo con reportes de otros autores (Bautista-Ortín et al., 2007, 2005). El incremento en polifenoles totales fue proporcional a la dosis utilizada, mientras en proantocianidinas prevaleció el efecto de la fuente comercial (diferencias mayores respecto a los vinos

testigos en TS-2) o del momento de adición, (mayores diferencias con el testigo en TD-4). Estos resultados están de acuerdo con Obreque-Slír et al. (2009) quienes reportan diferencias de composición de formulaciones comerciales de un mismo tipo de tanino y con Delteil (2000) y Celotti et al. (1999) quienes citan que parte de los taninos adicionados al encubado precipitan con proteínas o son adsorbidos por los hollejos.

Los resultados sobre el color del vino fueron variables. En los dos primeros ensayos su efecto fue negativo o no significativo. En el 2011 los resultados dependieron del ensayo en que fueron utilizados y de su modo de empleo. Adicionados en el encubado, en el primer ensayo incrementaron el color del vino mientras en el segundo tuvieron el efecto contrario. Sin embargo en este segundo ensayo, cuando la misma fuente de taninos se adicionó en el descube, el efecto en el color fue positivo. Por lo tanto el efecto fue positivo cuando el agregado fue en descube o cuando la maceración fue más corta en relación al testigo. El efecto no puede ser atribuido a la cantidad de taninos que llega al vino luego de la maceración ya que como se presentó las diferencias en proantocianidinas con el testigo fueron aún superiores en adiciones en encubado. Estos resultados sugieren que en adiciones prefermentativas de taninos, descubar próximo al máximo de antocianos (acortar el tiempo de maceración) permitiría mejorar el resultado de su aplicación. Esto podría deberse a una mayor interacción entre estas moléculas ya que en una maceración de mayor duración es esperable que el medio de reacción sea más complejo.

Finalmente, la adición de taninos enológicos de semilla de uva al descube tuvo el efecto más significativo sobre el color en los ensayos de taninos.

Con el empleo de taninos de quebracho se obtuvieron resultados aparentemente contradictorios. En el segundo ensayo los vinos TQ-2 tuvieron la menor IC. En el siguiente ensayo (N° 3), si bien el efecto inicial sobre el color también fue negativo, su evolución en el tiempo sugirió que estos taninos podrían tener un efecto positivo sobre la estabilidad de los pigmentos. Éste se expresaría luego de unos meses de estacionamiento

del vino. Es posible que el tiempo de evaluación de 3 meses en el ensayo N° 2 haya sido insuficiente para detectar dicho efecto.

## **5 CONCLUSIONES**

Los ensayos mostraron que el uso de las alternativas de vinificación evaluadas pueden modificar la composición fenólica y el color de los vinos tintos Tannat incluso 14 meses luego del desborre.

Los resultados sugieren que el empleo de taninos enológicos permitiría mejorar el color del vino y su estabilidad, siendo competencia del enólogo evaluar si las diferencias reportadas justifican su empleo comercial. Igualmente se mostró que no hay garantías a priori de que se obtengan resultados positivos con su empleo. Esto dependería del origen botánico del tanino utilizado, de si la adición es pre o post fermentativa y de la fuente comercial empleada. En adiciones prefermentativas reducir el tiempo de maceración en relación a la vinificación tradicional podría mejorar los resultados de su aplicación, si bien se deberá confirmar si se trata de una interacción entre ambos factores. La dosis de tanino empleada no habría sido un factor determinante del efecto de su adición.

Dado que los resultados sugieren que el momento en que se enriquece el mosto/vino en taninos puede condicionar los resultados y que Tannat posee concentraciones elevadas en estos compuestos, será valioso estudiar si es posible obtener los mismos resultados a partir del potencial natural de la variedad.

Se demostró que con la maceración prefermentativa en frío es posible obtener vinos con mayores contenidos de antocianos, color y menor relación taninos/antocianos en Tannat. Se observó que conocer la extractibilidad de los antocianos sería una información fundamental para decidir sobre el empleo de la técnica en Tannat. A su vez, que el método de refrigeración no es un factor determinante de los resultados obtenidos. Por el contrario el manejo del tiempo de maceración puede ser un elemento determinante del contenido de antocianos, color y relación taninos/antocianos obtenidos con la MPF.

Los ensayos brindaron resultados que contribuyen a mejorar la comprensión del efecto de las alternativas de vinificación evaluadas en la vinificación en tinto de Tannat.

## 6 BIBLIOGRAFÍA

- Alcalde-Eon C, Boido E, Carrau F, Dellacassa E, Rivas-Gonzalo J. 2006. Pigment profiles in monovarietal wines produced in Uruguay. *American Journal of Enology and Viticulture*, 57 (4): 449-459.
- Álvarez I, Aleixandre JL, García MJ, Lizama V. 2006. Impact of prefermentative maceration on the phenolic and volatile compounds in Monastrell red wines. *Analytica Chimica Acta*, 563: 109 – 115.
- Álvarez JM. 2007. Tanino: la revolución enológica mito o realidad. *Revista Enología*, 4 (2): 1 - 15
- Amrani K, Glories Y. 1995. Tanins et anthocyanes: localisation dans la baie de raisin et mode d'extraction. *Revue Française d'Oenologie*, 153: 28-31.
- Amrani, K.; Glories, Y. 1994. Étude en conditions modèles de l'extractibilité des composés phénoliques des pellicules et des pépins de raisins rouges. *Journal International de Sciences de la Vigne et du Vin*, 28 (4): 303-317.
- Atanasova V, Fulcrand H, Cheynier V, Moutounet M. 2002. Effect of oxygenation on polyphenol changes occurring in the course of wine-making. *Analytica Chimica Acta*, 458 (1): 15 – 27.
- Ayala F, Echávarri JF, Negueruela AI. 1997. A new simplified method for measuring the color of wines. I. Red and Rosé Wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 48 (3): 357-363.
- Bakker J, Bridle P, Timberlake C. 1986. Tristimulus measurements (CIELAB 76) of port wine colour. *Vitis* 25: 67-78.
- Baiano A, Gambacorta G, Terracone C, La Gatta B, Pati S, La Notte E. 2007. Influence of wine-making technologies on phenolic content and antioxidant power of Primitivo musts and wines. *Congreso Mundial de la Viña y el Vino (XXXIV, 2011, Budapest)*. Proceedings. Budapest. OIV. sp.

- Bautista-Ortín AB, Fernández-Fernández JI, López-Roca JM, Gómez-Plaza E. 2007. The effects of enological practices in anthocyanins, phenolic compounds and wine colour and their dependence on grape characteristics. *Journal of Food Composition and Analysis*, 20 (7): 546 – 552.
- Bautista-Ortín AB, Martínez-Cutillas A, Ros-García JM, López-Roca JM, Gómez-Plaza E. 2005. Improving colour extraction and stability in red wines: the use of maceration enzymes and enological tannins. *International Journal of Food Science and Technology*, 40 (8): 867 – 878.
- Bertrand A. 1993. Les principales substances chimiques actuellement dosées par chromatographie. Les acquisitions récentes en chromatographie du vin. Institut d'Oenologie, Université de Bordeaux II.
- Boido E, Alcalde-Eon C, Carrau F, Dellacasa E, Rivas-Gonzalo J. 2006. Aging effect on the pigment composition and color of *Vitis vinifera* L. cv. Tannat wines. Contribution of the main pigment families to wine color. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54 (18): 6692-6704.
- Bosso A, Guaita, M. 2008. Study of some factors involved in ethanal production during alcoholic fermentation. *European Food and Research Technology*, 227 (3): 911 – 917.
- Bosso A, Guaita M, Ballario P. 2004. L'estrazione differita degli antociani abbinata alla tecnica del délestage nella vinificazione di uve Nebbiolo. *Rivista di Viticoltura et Enologia*, 1 (2): 29-49.
- Bosso A, Guaita M, Follis R, Di Stefano R. 2002. Influenza de 6 diversi ceppi dilievito sulla composizione polifenolica di vini Barbera ottenuti con la técnica dell'estrazione differita degli antociani. *Rivista di Viticoltura et Enologia*, 55 (4): 25 - 56.
- Boulton R. 2001. The copigmentation of anthocyanins and its role in the color of red wine : a critical review. *American Journal of Enology and Viticulture*, 52(2): 67 - 87.

- Busse-Valverde N, Gómez-Plaza E, López-Roca JM, Gil-Muñoz R, Bautista-Ortín AB. 2011. The Extraction of Anthocyanins and Proanthocyanidins from Grapes to Wine during Fermentative Maceration Is Affected by the Enological Technique. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59 (10): 5450 – 5455.
- Busse-Valverde N, Gómez-Plaza E, López-Roca JM, Gil-Muñoz R, Fernández-Fernández JI, Bautista-Ortín AB. 2010. Effect of different enological practices on skins and seeds proanthocyanidins in three varietal wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58 (21): 11333 – 11339.
- Canals R, Llaudy M, Valls J, Canals J, Zamora F. 2005. Influence of ethanol concentration on the extraction of color and phenolic compounds from the skin and seeds of Tempranillo grapes at different stages of ripening. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 4019-4025.
- Canuti V, Puccioni S, Giovani G, Salmi M, Rosi I, Bertuccioli M. 2012. Effect of oenotannin addition on the composition of Sangiovese wines from grapes with different characteristics. *American Journal of Enology and Viticulture*, 63 (2): 220 – 231.
- Carbonneau, A., Moueix, A., Leclair, N. et Renoux, J. 1991. Proposition d'une méthode de prélèvement de raisins à partir de l'analyse de l'hétérogénéité de maturation sur un cep. *Bull. de l'O.I.V.* 727/728 : 679-690.
- Casassa F, Sari S, Diaz Sambueza M, Avagnina S, Galat E, Catania C. 2008. Efecto de dos variantes de maceración prefermentativa en frío (MPF) sobre la evolución cromática y organoléptica de vinos malbec. *Revista Enologia*, 1 (2): 1 - 11.
- Casassa F, Sari S, Avagnina de Del Monte S, Díaz-Sambueza M, Jofré V, Fanzone M, Catania C. 2007. Influencia de dos técnicas de maceración sobre la composición polifenólica, aromática y las características organolépticas de vinos cv. Merlot. *Viticultura y Enología Profesional*, (109): 5-20.
- Catania C, Avagnina S, Sari S, Casassa F. 2006. Influencia de distintos sistemas de maceración sobre el color, la composición polifenólica y las características

- organolépticas de vinos cvs. Merlot, Cabernet-Sauvignon y Sangiovese de la zona alta del Río Mendoza. Mendoza, INTA. s.p.
- Celotti E, Battistutta F, Comuzzo P, Poinssaut P, Zironi R. 1999. Impieghi di tannini enologici commerciali. *Vignevini*, 26 (7/8): 67 - 74.
- Cheynier V, Dueñas-Patron M, Souquet MJ, Sarni-Manchado P, Fulcrand H. 2006. Structure and properties of wine pigments and tannins. *American Journal of Enology and Viticulture*, 57(3): 298-305.
- Cortell JM, Halbleib M, Gallagher AV, Righetti TL, Kennedy JA. 2005. Influence of vine vigor on grape (*Vitis vinifera* L. cv. Pinot Noir) and wine proanthocyanidins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53, 5798–5808.
- Crespy A. 2002. Tanins de pépins de raisin : possibilités de stabilisation de la couleur, de protection contre l'oxydation et d'amélioration de la tenue en bouche sur vins rouges et rosés. *Revue française d'œnologie*, (195): 23 – 30.
- Crespy A, Urban N. 2002. Tanins de pépins de raisin: bilan de trois années d'expérimentation. *Revue des Œnologues*, 105: 11-14.
- Darias-Martín J, Carrillo M, Díaz E, Boulton RB. 2001. Enhancement of red wine colour by pre-fermentation addition of copigments. *Food Chemistry*, 73 (2): 217 – 220.
- Delteil D. 2000. Utilisation de tanins œnologiques sur les raisins et les vins rouges méditerranéens et rhodaniens. *Revue française d'œnologie*, (181): 20-22.
- Escribano-Bailón T, Dangles O, Brouillard R. 1996. Coupling reactions between flavylum ions and catechin. *Phytochemistry*, 41 (6) : 1583 - 1592.
- Ferrer M, González-Neves G, Echeverría G, Camussi G, Rusley A, Salvarrey J, Favre G, Fourment M. 2011. Comportamiento agronómico y potencial enológico de la uva Tannat en tres regiones climáticas uruguayas. *Revista Enología*, 6 (1): 1 – 12.
- Feuillat M. 1997. Vinification du Pinot noir en Bourgogne par macération préfermentaire à froid. *Revue des Œnologues*. 82: 29–31.

- Fulcrand H, Dueñas M, Salas E, Cheynier V. 2006. Phenolic reactions during winemaking and aging. *American Journal of Enology and Viticulture*, 57(3): 289 - 297.
- Gil-Muñoz R, Moreno-Pérez A, Vila-López R, Fernández-Fernández JI, Martínez-Cutillas, Gómez-Plaza E. 2009. Influence of low temperature prefermentative techniques on chromatic and phenolic characteristics of Syrah and Cabernet Sauvignon wines. *European Food Research and Technology*, (228): 777 – 788.
- Gil-Muñoz R, Gómez-Plaza E, Martínez A, López-Roca J. 1999. Evolution of phenolic compounds during wine fermentation and post-fermentation; influence of grape temperature. *Journal of Food Composition and Analysis*, (12): 259-272.
- Glories Y, Augustin M. 1993. Maturité phénolique du raisin, conséquences technologiques: application aux millésimes 1991 et 1992. In: *Actas du Colloque Journée Techn. CIVB, Bordeaux*. p. 56-61.
- Glories Y. 1984. La couleur des vins rouges : 1re. Partie : les équilibres des anthocyanes et des tanins. *Connaissance de la Vigne et du Vin*, 18 (3): 195 - 217.
- Gómez-Míguez M, González-Miret ML, Heredia FJ. 2007. Evolution of colour and anthocyanin composition of Syrah wines elaborated with prefermentative cold maceration. *Journal of Food Engineering*, (79): 271 - 278.
- González-Manzano S, Dueñas M, Rivas-Gonzalo JC, Escribano-Bailón MT, Santos-Buelga C. 2009. Studies on the copigmentation between anthocyanins and flavan-3-ols and their influence in the colour expression of red wine. *Food Chemistry*, (114): 649 – 656.
- González-Neves G, Ferrer M, Gil G. 2012. Differentiation of Tannat, Cabernet Sauvignon and Merlot grapes from Uruguay according to their general composition and polyphenolic potential. *Comunicata Scientiae*, 3 (1): 41 – 49.
- González-Neves G, Gil G, Ferrer M, Charamelo D, Balado J, Bochicchio R, Gatto G, Tessore A. 2010a. Prediction of the color and polyphenolic composition of the Young red wines from the phenolic potential of the grapes. *International Journal of Food Science and Technology*, 45 (9): 1843–1851.

- González-Neves G, Gil G, Barreiro L, Berriel V, Charamelo D, Favre G. 2010b. Evolución de los pigmentos en el primer año de vinos tintos Tannat elaborados por técnicas alternativas. *Revista Enología*, 3: 1 – 14.
- González-Neves G, Gil G, Barreiro L, Favre G. 2010c. Pigment profile of red wines cv. Tannat made with alternative winemaking techniques. *Journal of Food Composition and Analysis*, 23: 447 – 454.
- González-Neves G, Ferrer M, Gil G, Charamelo D, Balado J, Bochicchio R, Gatto G, Tessore A. 2010d. Estudio plurianual del potencial polifenólico de uvas Tannat en el sur de Uruguay. *Agrociencia*, 14 (2): 10 - 21.
- González-Neves G, Favre G, Charamelo D, Balado J, Barreiro L, Bachicchio R, Gatto G, Gil G, Tessore A. 2008. Estudio comparativo de la extracción de polifenoles en la elaboración de vinos tannat por técnicas alternativas. *Revista Enología*, 1 (5): 1 - 5.
- González-Neves G, Franco J, Barreiro L, Gil G, Moutounet M, Carbonneau A. 2007. Varietal differentiation of Tannat, Cabernet-Sauvignon and Merlot grapes and wines according to their anthocyanic composition. *European Food Research and Technology*, 225 (1): 111 – 117.
- González-Neves G. 2005. Etude de la composition polyphénolique des raisins et des vins des cépages Merlot, Cabernet-Sauvignon et Tannat provenant de vignes conduites en lyre et en espalier dans le sud de l'Uruguay. Montpellier, Ministère de l'agriculture. Ecole nationale supérieure agronomique de Montpellier. p. 279
- González-Neves G, Charamelo D, Balado J. 2004. Phenolic potential of Tannat, Cabernet-Sauvignon and Merlot grapes and their correspondence with wine composition. *Analytica Chimica Acta*, 513 (1): 191 – 196.
- González-Neves G, Ferrer M, Carbonneau A, Moutounet M, 2003. Adaptación de la vinificación en tinto en función del potencial polifenólico de las uvas. Experiencias realizadas en el 2001. *Agrociencia*, 7 (1): 59-67.
- Hagerman AE. 2002. *Tannin Handbook*. Miami University, Oxford OH 45056 [www.users.muohio.edu/hagermae/](http://www.users.muohio.edu/hagermae/).

- Hanlin RL, Hrmova M, Harbertson JF, Downey MO. 2010. *Australina Journal of Grape and Wine Research*, 16 (1): 173 – 188.
- Harbertson JF, Parpinello PG, Heymann H, Downey MO. 2012. Impact of exogenous tannin addition on wine chemistry and wine sensory character. *Journal of Food Chemistry*, 131: 999 - 1008.
- He F, Liang NN, Mu L, Pan QH, Wang J, Reeves MJ, Duan CQ. 2012. Anthocyanins and Their Variation in Red Wines II. Anthocyanin Derived Pigments and Their Color Evolution. *Molecules*, (17): 1483 – 1519.
- Hernández-Jiménez A, Kennedy JA, Bautista-Ortín AB, Gómez-Plaza E. 2012. Effect of ethanol on grape seed proanthocyanidin extraction. *American Journal of Enology and Viticulture*, 63 (1): 57 – 61.
- INAVI (Instituto Nacional de Vitivinicultura). 2011a. Estadísticas del vino. [En línea]. 20 de agosto 2012. <http://www.inavi.com.uy/categoria/27-estadisticas-de-vino.html>.
- INAVI (Instituto Nacional de Vitivinicultura). 2011b. Estadísticas del viñedo. [En línea]. 20 de agosto 2012. <http://www.inavi.com.uy/categoria/38-estadisticas-de-via-edos.html>.
- Jackson RS. 2008. *Wine Science: Principle and Applications*, (3rd ed.). Elsevier-Academic Press: Oxford, UK, pp. 287–295.
- Jöbstl E, O’Connell J, Fairclough JPA, Williamson MP. 2004. Molecular model for astringency produced by polyphenol/protein interactions. *Biomacromolecules*, 5: 942-949.
- Kennedy JA. 2008. Grape and wine phenolics: Observations and recent findings. *Ciencia e investigación Agraria*. 35 (2): 107 – 120.
- Koyama K, Goto-Yamamoto N, Hashizume K. 2007. Influence of maceration temperature in red wine vinification on extraction of phenolics from berry skins and seeds of grape (*Vitis vinifera*). *Journal of Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 71(4): 958 - 965.

- Laghi L, Parpinello JP, Del Río D, Calani L, Mattioli AU, Versari A. 2010. Fingerprint of enological tannins by multiple techniques approach. *Journal of Food Chemistry*, 121 (3): 783-788.
- Lerm E, Engelbrecht L, du Toit M. 2010. Malolactic fermentation: The ABC's of MLF. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 31(2): 186 - 212.
- Llaudy MC, Canals R, Cabanillas P, Canals JM, Zamora F. 2005. La maceración prefermentativa en frío. Efectos en la extracción del color y los compuestos fenólicos, e influencia del nivel de maduración de la uva. *ACE: Revista Enología*. 60: s.p.
- Lurton L. 2002. Composition et caractéristiques de deux tanins œnologiques extraits du raisin. *Revue Française d'Oenologie*. 195: 20 – 22.
- Main GL, Morris JR. 2007. Effect of Macerating Enzymes and Postfermentation Grape-Seed Tannin on the Color of Cynthiana Wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 58 (3): 365 – 372.
- Marais J. 2003. Effect of different wine-making techniques on the composition and quality of Pinotage wine. I. Low- temperature skin contact prior to fermentation. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 24 (2): 70 - 75.
- McRae J, Kennedy JA. 2011. Wine and Grape Tannin Interactions with Salivary Proteins and Their Impact on Astringency: A Review of Current Research. *Molecules*, (16): 2348 – 2364.
- Medina K, Boido E, Dellacassa E, Carrau F. 2005. Yeast Interactions with Anthocyanins during Red Wine Fermentation. *American Journal of Enology and Viticulture*, 56 (2): 104 – 109.
- Moutounet M, Leaute B, Delbos C, Doco T, Meudec E, Souquet JM. 2004. Analyse de la composition de tanins œnologiques. *Revue Française d'Oenologie*, (208): 22 - 27.
- Obradovic D. Grape-derived tannins and their application. 2006. *Australian and New Zealand Grapegrower and Winemaker*, 509: 66 - 73.

- Obreque-Sl er E, Peña-Neira A, López-Sol s R, Ramírez-Escudero C, Zamora-Marín F. 2009. Phenolic Characterization of Commercial Enological Tannins. *European Food Research and Technology*, 229 (6): 859 – 866.
- OIV. 2009. International Oenological Codex. Organisation Internationale de la Vigne et du Vin. Paris, France. 368p.
- Ortega-Heras M., Pérez-Magari o S., González-Sanjos  M. 2012. Comparative study of the use of maceration enzymes and cold pre-fermentative maceration on phenolic and anthocyanic composition and colour of a Mencía red wine. *LWT – Food Science and Technology*, (48): 1-8.
- Parenti A, Gori C, Blondi-Bartolini A. 2006. Criomacerazione prefermentativa su uve Sangiovese: criogeni e metodiche a confronto. *Vignevini*, (4): 115-120.
- Parenti A, Spugnoli P, Calamai L, Ferrari S, Gori C. 2004. Effects of cold maceration on red wine quality from a Tuscan Sangiovese grape. *European Food Research and Technology*, 21 (8): 360 – 366.
- Parker M, Smith P, Birse M, Francis I, Kwiatkowski K, Lattey B, Liebich, Herderich M. 2007. The effect of pre- and post-ferment additions of grape derived tannin on Shiraz wine sensory properties and phenolic composition. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 13(1): 30 - 37.
- Peyrot des Gachons C, Kennedy JA. 2003. Direct method for determining seed and skin proanthocyanidin extraction into red wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, (51): 5877-81.
- Puech J, Prida A, Isz S. 2007. Quality assessment of oenological tannins utilising global selectivity chemical sensors array (“Electronic tongue”). *South African Journal of Enology and Viticulture*, 28 (2): 101 – 106.
- Ribéreau-Gayon P, Glories I, Maujeau A, Dubourdieu D. 2006. *Handbook of Enology*. (Eds). Bordeaux: Wiley. 441p.
- Ribéreau-Gayon P, Stonestreet E. 1966. Dosage des tanins du vin rouge et détermination de leur structure. *Chimie Analytique*, (48): 188-196.
- Ribéreau-Gayon P, Stonestreet E. 1965. Le dosage des anthocyanes dans les

- vins rouges. *Bulletin Societé Chimie*, (9): 2649.
- Rinaldi A, Gambuti A, Moine-Ledoux V, Moio L. 2010. Evaluation of the astringency of commercial tannins by means of the SDS–PAGE-based method. *Food Chemistry*, 122 (4): 951 – 956.
- Romero-Cascales I, Fernández-Fernández J, López-Roca J, Gómez-Plaza E. 2005. The maceration process during winemaking extraction of anthocyanins from grape skins into wine. *European Food Research and Technology*, (221): 163-167.
- Sacchi K, Bisson L, Adams D. 2005. A review of the effect of winemaking techniques on phenolic extraction in red wines. *American Journal Enology and Viticulture*, 56(3): 197 - 206.
- Sanz L, Castro IM, Moreno-Arribas MV. 2008. Identification of the origin of commercial enological tannins by the analysis of monosaccharides and polyalcohols. *Food Chemistry*, 111 (3): 778-783.
- Saucier C, Little D, Glories Y. 1997. First evidence of acetaldehyde-flavanol condensation products in red wine. *American Journal of Enology and Viticulture*, 48 (3): 370-373.
- Sims CA, Bates RP. 1994. Effects of skin fermentation time on the phenols, anthocyanins, ellagic acid sediment, and sensory characteristics of a red *Vitis rotundifolia* wine. *American Journal of Enology and Viticulture*, 45 (1): pp. 56-62.
- Singleton V, Rossi J, 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic and phosphotungstic acid reagents. *American Journal Enology Viticulture*, (16): 144-158.
- Soto-Vázquez E, Río Segade S, Orriols Fernández I. 2010. Effect of the winemaking technique on phenolic composition and chromatic characteristics in young red wines. *European Food Research and Technology*, (231): 789 – 802.
- Souquet J, Cheynier V, Sarni-Manchado P, Moutounet M. 1996. Les composés phénoliques du raisin. *Vigne et Vin Publications Internationales-Martillac* (33): 99 - 107.

- Swain T, Hillis W. 1959. The phenolic constituents of *Prunus domestica*. I. The quantitative analysis of phenolic constituents. *Journal of Science and Food Agriculture*, (10): 63-68.
- Usseglio-Tomasset L. 1995. *Chimie éologique*. 2a. ed. Tec y Doc Lavoisier, París. 431p.
- Versari A, Boulton R, Parpinello JP. 2008. A comparison of analytical methods for measuring the color components of red wines. *Food Chemistry*, 106 (1): 397 – 402.
- Vidal S, Francis L, Noble A, Kwiatkowski M, Cheynier V, Waters E. 2004. Taste and mouth-feel properties of different types of tannin-like polyphenolic compounds and anthocyanins in wine. *Analytica Chimica Acta*, 513 (1): 57 – 65.
- Vila H, Catania C, Ojeda H. 2005. influencia del tiempo de maceración sobre el color, la composición tanica y la astringencia de vinos Cabernet-Sauvignon y Malbec de Argentina. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias UNCuyo*, 37 (1): 97 - 111.
- Vivas N, Nonier MF, Vivas de Gaulejac N, Absalon C, Bertrand A, Mirabel M. 2004. Differentiation of proanthocyanidin tannins from seeds, skins and stems of grapes (*Vitis vinifera*) and heartwood of Quebracho (*Schinopsis balansae*) by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry and thioacidolysis/liquid chromatography/electrospray ionization mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, (513): 247 – 256.
- Vivas N, Nonier M, Vivas de Gaulejac N. 2003. Incidence de préparations commerciales de tanins sur les caractéristiques chromatiques des vins rouges. *Le Progrès Agricole et Viticole*, 120 (20): 431-435.
- Vivas N, Vivas de Gaulejac N, Nonier MF. 2002. Mise au point sur les tanins oenologiques et bases d'une nouvelle définition qualitative. *Bulletin de l'O.I.V.* 853-854.
- Vivas N, Glories Y. 1996. Role of oak wood ellagitannins in the oxidation process of red wines during aging. *American Journal of Enology and Viticulture*, 47 (1): 103-107.

- Vivas, N.; Glories, Y.; Lagune, L.; Saucier, C.; Augustin, M. 1994. Estimation du degré de polymérisation des procyanidines du raisin et du vin par la méthode au p-diméthylaminocinnamaldéhyde. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, 28 (4): 319 - 336.
- Vrhovsek U, Vanzo A, Nemanic J. 2002. Effect of red wine maceration techniques on oligomeric and polymeric proanthocyanidins in wine, cv. Blaufränkisch. *Vitis*, 41 (1): 47 - 51.
- Zamora F. 2003. *Elaboración y crianza del vino tinto: aspectos científicos y prácticos*. Madrid. Mundiprensa S.A. 225p.
- Zimman A, Joslin WS, Lyon ML, Meier J, Waterhouse AL. 2002. Maceration variables affecting phenolic composition in commercial-scale cabernet sauvignon winemaking trials. *American Journal of Enology and Viticulture*, 53 (2): 93 – 98.
- Zini S, Canuti V, Siliani A, Bertuccioli M. 2003. Criomacerazione in Toscana: esperienze sul Sangiovese. *Industria delle bevande*, (32): 16 - 23.
- Zinnai A, Venturi F, Calamita Y, Andrich G. 2006. La Criomacerazione Nella Vinificazione di uve Sangiovese. In *vite qualitas, in vino excellentia*. *Industrie delle bevande*, 1 (2): 63 - 69.

## 7 **ANEXO 1**

### **7.1 Empleo de taninos enológicos y maceración prefermentativa en frío en una experiencia de elaboración de vinos tintos Tannat**

Guzmán Favre<sup>1</sup>, Darwin Charamelo<sup>2</sup>, Gustavo González-Neves<sup>1</sup>

*<sup>1</sup> Tecnología de los Alimentos, Facultad de Agronomía, UDELAR  
Garzón 780 cp. 12900. Montevideo-Uruguay. Tel. (00598) 23563294  
[gfavre@fagro.edu.uy](mailto:gfavre@fagro.edu.uy)*

*<sup>2</sup>Instituto Nacional de Vitivinicultura (INAVI). Dr. Pouey 463 - C.P. 90200*

## **Resumen**

La maceración prefermentativa en frío (MPF) y la adición de taninos enológicos (TA) al mosto son alternativas propuestas para aumentar la intensidad y calidad del color de los vinos tintos. Adicionalmente, con la MPF se busca aumentar la relación antocianos/taninos, lo que es importante para la estabilidad del color. Para evaluar la aplicación de estas alternativas en la elaboración de vinos tintos Tannat se realizó un ensayo en escala reducida (70 kg de uva por tratamiento). El testigo fue elaborado con una maceración tradicional (MT), realizada durante 8 días en simultáneo con la fermentación. En la MPF se maceró 5 días a temperaturas inferiores a 15° C, finalizando con una maceración tradicional de 8 días. En la TA fueron agregados 100 mg/L de taninos de semilla, al inicio de una maceración de 8 días. Durante las maceraciones se midieron diariamente intensidad colorante, antocianos y polifenoles totales. Al descube se determinaron la composición general, color y contenidos polifenólicos de los vinos. La extracción de antocianos y polifenoles totales fue más lenta en la MPF, obteniendo los vinos con menores contenidos de antocianos e intensidad y calidad del color, aunque tuvieron los mayores contenidos de proantocianidinas y catequinas. La TA generó vinos con más proantocianidinas y catequinas que la maceración tradicional, pero no aumentó la intensidad colorante. Los vinos con mayores contenidos de antocianos y mejor color se obtuvieron con la MT, gestionada de acuerdo con las características de la variedad y la composición de la uva empleada en el ensayo.

**Palabras clave:** *Vitis vinifera*, taninos enológicos, antocianos, compuestos fenólicos.

## Use of enological tannins and alternative macerations in a Tannat red winemaking essay

### Abstract

The prefermentative cold maceration (PCM) and the addition of enological tannins (TA) to the must are alternatives proposed to enhance the intensity and quality of wine colour. Additionally the PCM try to increase anthocyanin/tannin quotient, important to promote colour stability. To evaluate the performance of these enological-alternatives in the winemaking of Tannat red wines, an experiment was performed in a small scale (70 kg per treatment). The control treatment was elaborated with a traditional maceration carried out through 8 days simultaneously with fermentation. The PCM was macerated 5 days at temperatures lower than 15° C prior fermentation following by 8 days of traditional maceration. In TA 100 mg/L of seed tannins were added at the beginning of 8 days maceration. Daily measurements of colour intensity, anthocyanins and total polyphenols were taken during macerations. At devatting general composition, colour and polyphenols in wines were measured. The lowest anthocyanin and total phenolic extraction was registered in PCM musts, and resulted in wines with the lowest content of anthocyanin, intensity and quality of the colour, although they had the highest contents of catechins and proanthocyanidins. The TA gave wines with more catechins and proanthocyanidins than traditional maceration (MT) but did not increase colour intensity. The wines with the highest content of anthocyanins and better colour where those elaborated with MT, which was carried on according to the characteristics of the cultivar and grape composition at harvest. Key words: *vitis vinifera*, enology tannins, anthocyanins, phenolic compounds

## **Introducción**

En la vinificación en tinto, las condiciones en que transcurre la maceración tienen un gran efecto en la proporción relativa de antocianos y taninos que pasan de la uva al vino (Fulcrand *et al.*, 2006), determinando entre otros factores, la intensidad y estabilidad del color. Actualmente hay disponibles alternativas de vinificación, como la adición de taninos enológicos al mosto y la maceración prefermentativa en frío, que modificando las condiciones de maceración, buscan obtener mejores resultados que los esperables mediante el proceso de maceración tradicional.

Tannat es una variedad de alto potencial de síntesis de taninos y antocianos (González-Neves *et al.*, 2003), compuestos que tienen incidencia fundamental en el color y demás propiedades sensoriales de los vinos tintos. Sin embargo, es igualmente importante que la vinificación favorezca la formación de pigmentos estables que garanticen la estabilidad del color en el tiempo.

En trabajos previos del grupo de investigación se ha avanzado en el estudio de la incidencia sobre las características citadas de la maceración prefermentativa en frío en Tannat. En González-Neves *et al.* (2008) se reporta que la MPF provoca que la acumulación de fenoles totales y antocianos se de con mayor lentitud durante la maceración en frío en relación a la vinificación tradicional. Los contenidos de estos compuestos en los vinos y sus diferencias con los testigos dependieron de la vendimia considerada (2006 y 2007). Mientras en ambos años de estudio los vinos MPF tuvieron contenidos menores de antocianos a los MT, el IPT fue superior al testigo en la vendimia 2007, donde el nivel de maduración de la uva fue menor. En cuanto al efecto sobre los pigmentos y su evolución, González-Neves *et al.* (2010 a y b) exponen resultados que sugieren que la MPF puede incrementar la síntesis de pigmentos estables como las vitisinas en relación a la vinificación tradicional.

Los taninos enológicos son formulaciones comerciales de taninos extraídos de diferentes órganos y especies vegetales (Laghi *et al.*, 2010) que se utilizan principalmente buscando mejorar la intensidad, calidad y estabilidad del color del vino. Los taninos extraídos de las uvas, tienen la propiedad de formar complejos moleculares con los antocianos (Fulcrand *et al.*, 2006) siendo importante contar con un adecuado contenido de éstos desde el comienzo de la fermentación para obtener pigmentos estables en el vino (Sacchi *et al.*, 2005).

Parker *et al.* (2007) trabajando con adiciones de taninos enológicos de semilla de uva en Syrah, no encontraron resultados positivos en relación a los vinos testigo. Resultados similares reportan Delteil *et al.* (2000) en Grenache, Syrah y Merlot. Sin embargo otros autores los consideran una herramienta versátil para la vinificación en tinto. Obradovic (2005), utilizando taninos de uva (hollejos y semillas) en la vinificación de uvas Syrah, y Main y Morris (2007) en agregados postfermentativos de taninos de semilla de uva a vinos de la variedad Cynthiana, obtuvieron resultados favorables en relación a la vinificación tradicional.

En la maceración prefermentativa en frío, las bajas temperaturas impiden el comienzo de la fermentación, determinando un tiempo de maceración en fase acuosa. En dichas condiciones se favorece la extracción de antocianos, al ser moléculas hidrosolubles (Amrani y Glories, 1994).

Varios autores han reportado aumentos de intensidad y estabilidad de color en vinos elaborados con MPF como Álvarez *et al.* (2006) empleando uva Monastrell y Gómez-Míguez *et al.* (2007) con uva Syrah. Otros trabajos han señalado efectos negativos o divergentes con la aplicación de la técnica como Budic-Leto *et al.* (2003) en vinificaciones del cultivar Babic y González-Neves *et al.* (2009) en Tannat.

El presente ensayo fue realizado con el objetivo principal de evaluar los efectos de la maceración prefermentativa en frío y de la adición de taninos enológicos sobre el color y la composición fenólica de vinos tintos Tannat. La maceración tradicional, con una gestión adaptada a las condiciones del ensayo (González-Neves *et al.*, 2003), se utilizó como testigo para evaluar las alternativas empleadas.

## **Materiales y métodos**

Las vinificaciones fueron realizadas en el año 2010, en la bodega experimental de Facultad de Agronomía, a partir de uvas del cultivar Tannat de un viñedo comercial del Departamento de Canelones conducido en espaldera e implantado sobre portainjerto SO4 a la densidad de 3333 plantas por hectárea, sin riego. Las uvas se cosecharon a primeras horas de la mañana e inmediatamente fueron transportadas a la bodega en cajones de plástico de 20 kg. Las uvas se cosecharon con una acidez de 4.5 g/L en H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, pH de 3.26 y un contenido de azúcares de 201 g/L. El potencial fenólico de la uva (según Glories y Augustin, 1993) fue de 1887 mg/L (potencial total en antocianos: ApH1), 861 mg/L (potencial en antocianos extraíbles: ApH3.2), y un índice de extractibilidad (EA%) de 54.4. A continuación se separaron 6 fracciones, de 70 kg de uva cada una, tomando racimos al azar de los diferentes cajones. La uva fue procesada con una descobajadora-moledora Alfa 60 R (Italcom, Italia) de acero inoxidable y rodillos de goma, y el mosto obtenido fue inmediatamente encubado en tanques de acero inoxidable de un hectolitro de capacidad.

Los tratamientos evaluados fueron: maceración tradicional (MT), con 8 días de duración; maceración con adición en el encubado de 100 mg/L de taninos enológicos de semilla (TA) y conducida como MT; maceración prefermentativa en frío (MPF) con agregados de 1.5 kg de CO<sub>2(s)</sub> (PRAXAIR) dos veces al día a partir del encubado de forma de mantener la temperatura por debajo de los 15° C durante 5 días y posteriormente 8 días conducida como MT. En todos los casos la temperatura de fermentación se mantuvo entre 26 y 28 ° C.

Luego de la molienda cada tratamiento recibió una dosis de 5 g de anhídrido sulfuroso por cada 100 kg de uva. En los mostos MT y TA se sembraron 20 g de levaduras secas activas por

hectolitro (*Saccharomyces cerevisiae* WE372, Anchor, Sudáfrica) comenzando los remontajes y bazuqueos en la mañana siguiente. La siembra de levaduras en los mostos con MPF se hizo una vez finalizado el tratamiento de frío, momento en que se comenzó con los remontajes, realizando ligeros bazuqueos en la fase prefermentativa.

En todos los tratamientos y dos veces al día, luego del remontaje (o del bazuqueo en la etapa prefermentativa de MPF), se hicieron medidas de densidad y temperatura sobre 200 mL de mosto/vino extraído de cada tanque de vinificación. Al mismo tiempo, cada mañana se tomó una muestra de 100 mL de mosto/vino para determinar el contenido de antocianos totales (según Ribéreau-Gayon y Stonestreet, 1965), el índice de polifenoles totales (A280) y la intensidad colorante (de acuerdo con Glories, 1984). Finalizada la maceración se procedió al prensado con una prensa de mano de acero inoxidable. El vino de gota se unió al vino de prensa. Los vinos fueron analizados al descube. Se determinaron los parámetros enológicos clásicos, de acuerdo con O.I.V. (2009). La composición fenólica se evaluó mediante los índices espectrofotométricos clásicos. Los polifenoles totales se evaluaron utilizando el reactivo de Folin Ciocalteu (Singleton y Rossi, 1965), las catequinas a través del método de Swain y Hillis (1959) y las proantocianidinas por hidrólisis ácida (Ribereau-Gayon y Stonestreet, 1966). El color fue evaluado mediante los índices propuestos por Glories (1984) y los índices de copigmentación propuestos por Boulton (2001).

El pH se midió con un peachímetro Hanna 8521 (Hanna Instruments, Inglaterra). Las mediciones de absorbancia se realizaron con un espectrofotómetro Shimadzu UV-visible 1240 mini (Shimadzu, Japón) durante las maceraciones y con un espectrofotómetro Shimadzu UV-visible 1800 (Shimadzu, Japón) en los vinos, empleando celdas de cuarzo de 1 cm de recorrido óptico

para medir A280, y celdas de vidrio de 1 cm para antocianos totales y de 1 mm para las mediciones del color.

Los polifenoles totales fueron expresados en mg de ácido gálico por litro, los antocianos en mg de malvidin 3-glucósido por litro, las catequinas en mg de D-catequina por litro y las proantocianidinas en mg de cloruro de cianidina por litro.

Todos los análisis fueron hechos por duplicado.

Los resultados fueron procesados estadísticamente con el Software Infostat, versión Profesional (2010). Se realizó el análisis de varianza y la comparación de medias de cada variable entre tratamientos, utilizando el método de comparación múltiple de medias de Tukey con un nivel de significación del 5%.

## **Resultados y discusión**

### *Seguimiento de las maceraciones*

Los contenidos de antocianos totales (AT), índice de polifenoles totales (IPT) y valores de intensidad colorante (IC) registraron un máximo con un posterior descenso (Figuras 1-3) independientemente del tratamiento considerado, como ha sido reportado por otros autores (Amrani y Glories, 1994; González-Neves *et al.*, 2008). Si bien los mostos de la MPF tuvieron los máximos valores más tardíamente que los MT y TA, el comportamiento fue similar al descrito anteriormente. El sexto día de maceración se registró un importante descenso en IPT e IC (Figuras 2 y 3). Los datos referidos corresponden a las primeras mediciones realizadas luego de finalizar el tratamiento térmico y comenzar los remontajes, por lo que la homogenización del mosto, mucho mayor que la obtenida mediante bazuqueos en la etapa prefermentativa, podría explicar estos resultados.

Los valores de las variables citadas dependen del balance entre la extracción (solubilización y difusión) de los compuestos implicados desde los hollejos, las pérdidas por precipitación, hidrólisis o readsorción, y la posterior transformación en otros compuestos (Amrani y Glories, 1994). Los antocianos evolucionan hacia pigmentos más estables y otras moléculas, sobre todo poliméricas (Cheynier *et al.*, 2006). Adicionalmente, en la IC intervienen las variaciones en el pH del medio durante la maceración ya que de éste depende la proporción de antocianos que se encuentre en forma coloreada (Fulcrand *et al.*, 2006). La salificación del ácido tartárico, dada por la extracción de cationes Calcio y principalmente Potasio desde los hollejos, contribuye al aumento del pH del mosto/vino y al descenso observado en la IC.

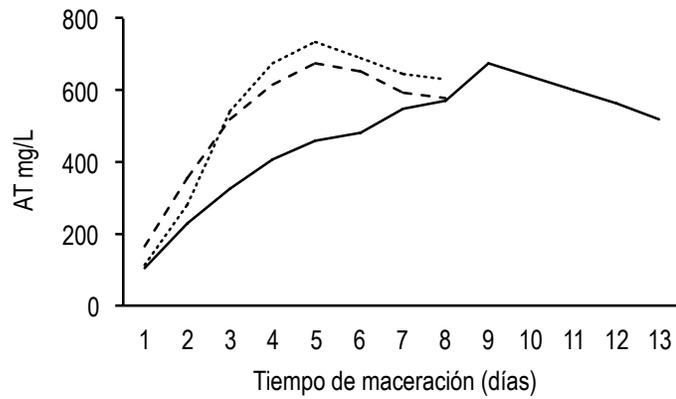


Figura 1 Evolución de los antocianos totales (AT) durante la maceración según tratamiento. Los AT se expresan en mg/L de malvidina-3-glucósido. Maceración tradicional (MT), maceración con adición de taninos enológicos (TA), maceración fermentativa en frío (MPF). MT .... TA ---- MPF \_\_\_\_

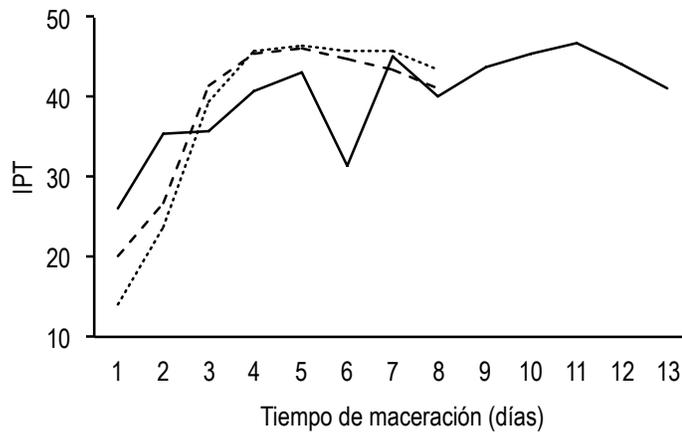


Figura 2 Evolución del índice de polifenoles totales (IPT) durante la maceración según tratamiento. El IPT se midió por espectrofotometría a 280 nm. Maceración tradicional (MT), maceración con adición de taninos enológicos (TA), maceración fermentativa en frío (MPF). MT .... TA ---- MPF \_\_\_\_

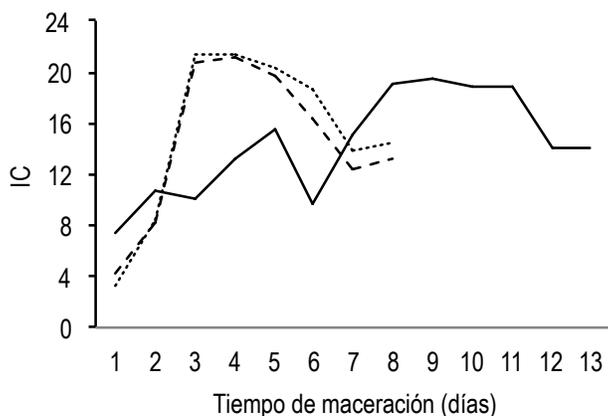


Figura 3 Evolución de la Intensidad colorante (IC) durante la maceración según tratamiento. La IC es la suma de las medidas espectrofotométricas a 420, 520 y 620 nm. Maceración tradicional (MT), maceración con adición de taninos enológicos (TA), maceración prefermentativa en frío (MPF). MPF. MT ..... TA ---- MPF —

Como se puede apreciar en la Figura 2 el IPT también descendió hacia el final de la maceración, a diferencia de lo reportado en otros trabajos (Marais, 2003; González-Neves *et al.*, 2008), indicando que los procesos de degradación de polifenoles predominaron sobre la extracción de estos compuestos verificada en esta etapa.

En las Figuras 1 y 2 se aprecia como en la MPF la acumulación de AT e IPT fue inicialmente más lenta que en los restantes tratamientos. Una cinética similar ha sido reportada por otros autores (Koyama *et al.*, 2007; González-Neves *et al.*, 2008). A su vez, durante el tratamiento de frío la extracción de AT fue más lenta que la de polifenoles totales (Cuadro 1), contrariamente a lo reportado en otros trabajos (Marais, 2003; Koyama *et al.*, 2007; González-Neves *et al.*, 2008). Los antocianos son extraídos principalmente al inicio de la maceración (Amrani y Glories, 1994). Las uvas de la variedad Tannat tienen la característica de presentar bajos niveles de extractibilidad de antocianos (González-Neves *et al.*, 2004), lo que indica que estos compuestos van a ser extraídos con alguna dificultad en la vinificación. En consecuencia, se considera

recomendable realizar operaciones mecánicas (remontajes, bazuqueos) más frecuentes o más intensas desde el inicio de la maceración (González-Neves *et al.*, 2010c). Cuando el comienzo de los remontajes ha sido aplazado, por aplicación de técnicas como la extracción diferida de antocianos o la MPF, se han verificado menores concentraciones de antocianos en los vinos Tannat que las obtenidas mediante maceración tradicional (González-Neves *et al.*, 2008, 2009, 2010a y b, 2012).

Por otra parte, Sacchi *et al.* (2005) y Pinelo *et al.* (2006) señalan que la presencia de etanol, CO<sub>2</sub> y SO<sub>2</sub>, junto con el aumento de la temperatura generado por la fermentación, incrementan la permeabilidad de las membranas, facilitando la extracción de los antocianos en esa etapa en relación con la fase prefermentativa.

Las diferencias encontradas con los resultados de ensayos previos (González-Neves *et al.*, 2008, 2010a, 2010b) podrían deberse a la interacción entre la técnica de vinificación y la composición de la uva empleada en cada caso.

Cuadro 1 Diferencias porcentuales en el contenido de AT (antocianos totales en mg/L malvidina-3-gl) e IPT (índice de polifenoles totales) entre MT (maceración tradicional) y MPF (maceración prefermentativa en frío), y entre MT y TA (maceración con taninos enológicos) durante los días de maceración en frío.

Día de maceración	% de AT en TA respecto a MT	% de IPT en TA respecto a MT	% de AT en la MPF respecto a MT	% de IPT en la MPF respecto a MT
1	46	43	-8	84
2	26	12	-17	49
3	-4	5	-40	-9
4	-9	-1	-39	-11
5	-8	0	-38	-7

Si bien luego de la etapa de maceración en frío la concentración de AT e IPT continuó aumentando, los contenidos finales de estos compuestos en el vino MPF fueron inferiores a los verificados en el MT.

El vino TA tuvo contenidos de polifenoles totales (IPT) inicialmente superiores a MT (6 UA), seguramente debido al agregado de los taninos enológicos (Figura 2). Sin embargo, las diferencias fueron disminuyendo en el transcurso de la maceración, finalizando con un valor inferior en los TA. Una cinética similar fue observada en la acumulación de antocianos (Figura 1). Vivas *et al.* (2002) y Zamora (2003) indican que los procesos de polimerización pueden conducir a la formación de moléculas suficientemente grandes como para precipitar. A su vez no hay garantías de que los taninos comerciales se integren y comporten en el vino de la misma forma que los que naturalmente difunden de la uva durante la vinificación (Vivas *et al.*, 2002).

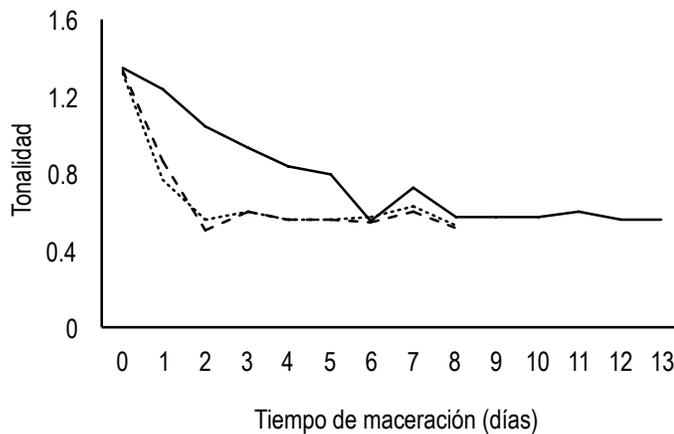
La evolución de la intensidad colorante (IC) fue similar en los mostos/vinos de MT y TA (Figura 3), a pesar de que los taninos de semilla han sido reportados como excelentes copigmentos de los antocianos (Obradovic, 2006). La copigmentación provoca un aumento del color del vino (Boulton, 2001), por lo que el vino TA debería haber presentado mayor IC que el MT, lo que no fue observado. Estos tratamientos tampoco difirieron en tonalidad (Figura 4), lo que implica que no hay evidencia de un efecto de protección de los taninos enológicos agregados en TA ante eventuales procesos oxidativos, en contraste con lo esperable según algunos autores (Sanz *et al.*, 2008).

Los mostos con MPF tuvieron mayor intensidad colorante que los MT y TA en las primeras 48 hs, principalmente por las elevadas absorbancias a 420 nm y 620 nm. La absorbancia a 520 nm fue la componente de la IC más afectada negativamente en la etapa prefermentativa (datos no

presentados), y en consecuencia la tonalidad fue muy alta en dicho período. En la etapa referida, la relación antocianos/taninos fue muy baja en los mostos MPF en relación a MT y TA (Cuadro 1). Posteriormente durante el proceso de maceración convencional todos los tratamientos tuvieron tonalidades similares entre sí (Figura 4).

El máximo de IC en el vino de la MPF se registró al cuarto día de maceración convencional y su valor fue inferior al de la MT.

Al final de las maceraciones los valores de IC fueron similares entre sí en todos los tratamientos (Figura 3). Por lo tanto las técnicas alternativas a MT evaluadas, no aumentaron el color del vino



durante el encubado.

Figura 4 Evolución de la Tonalidad durante la maceración según tratamiento. La tonalidad se calculó como el cociente de las medidas espectrofotométricas a 420 y 520 nm (420/520). Maceración tradicional (MT), maceración con adición de taninos enológicos (TA), maceración prefermentativa en frío (MPF). MT .... TA ---- MPF \_\_\_\_

### *Análisis de los vinos al descube*

#### Composición general:

Los resultados analíticos de los parámetros enológicos clásicos (Cuadro 2) muestran que los vinos tuvieron un grado alcohólico similar entre sí, lo que es una constatación de la homogeneidad de la composición de los lotes de uvas destinados a los distintos tratamientos.

Los niveles de acidez volátil fueron muy bajos, indicando que las vinificaciones se dieron en buenas condiciones sanitarias, por lo que no hubo desarrollo de microorganismos de alteración durante las maceraciones.

Los contenidos de azúcares residuales indican que las fermentaciones fueron completas en todos los casos.

Cuadro 2 Análisis de parámetros enológicos clásicos en los vinos al descube según tratamiento. MT = maceración tradicional, TA = maceración con taninos enológicos, MPF = maceración prefermentativa en frío.

	Alcohol	Acidez Total	Acidez Volátil	pH	Extracto seco	Azúcares
MT	10,84a	5,20a	0,10a	3,44ab	29,65a	1,60a
TA	10,61a	5,30a	0,13a	3,42b	29,70a	1,56a
MPF	10,54a	5,15a	0,11a	3,46a	29,90a	1,46a

#### Familias polifenólicas:

Las diferencias en AT fueron significativas entre tratamientos (Cuadro 3). Particularmente los vinos MPF registraron diferencias importantes respecto a los MT (100 mg/L, 16 %) y en menor medida frente los obtenidos con TA (62 mg/L, 9 %).

Por lo tanto, la maceración en frío tuvo un efecto contrario al buscado con la técnica, reduciendo el contenido de antocianos en el vino en relación a los elaborados por maceración tradicional, confirmando lo observado en el seguimiento de las maceraciones. Este resultado concuerda con lo observado en experiencias previas realizadas con Tannat (González-Neves *et al.*, 2008, 2010a

y b, 2012) y con lo señalado por otros autores (Sacchi *et al.*, 2005), pero es contradictorio con lo reportado en otros estudios (Álvarez *et al.*, 2006; Catania *et al.*, 2006; Gómez-Miguez *et al.*, 2007; Casassa *et al.*, 2008).

Cuadro 3 Familias polifenólicas al descube según tratamiento. MT = maceración tradicional, TA = maceración con taninos enológicos, MPF = maceración prefermentativa en frío.

	Antocianos Totales	Polifenoles Totales	Catequinas	Proantocianidinas
MT	706 a	1249 b	890 c	1604 c
TA	644 b	1267 b	1042 b	1720 b
MPF	592 c	1400 a	1680 a	1952 a

En éstos, se trabajó con otras variedades y condiciones de vinificación, haciendo difícil la comparación con nuestros resultados. Como fue expresado, la baja extractibilidad de antocianos (alto EA %) de las uvas Tannat podría explicar los menores contenidos de estos compuestos en los vinos. En el caso de los vinos elaborados con adición de taninos, su posible precipitación incluyendo antocianos podría explicar el menor contenido de los mismos respecto a MT. Ambos tratamientos tuvieron las mismas condiciones de maceración, siendo la adición de taninos en el encubado en TA la única operación que los diferenció. Los vinos TA tuvieron contenidos inferiores a MT de color polimérico (cuadro 4), por lo que no se puede atribuir el descenso de antocianos a la generación de dicho tipo de pigmentos.

Al analizar las fracciones fenólicas relacionadas a los taninos (polifenoles totales, catequinas y proantocianidinas) se constata que los mayores valores fueron observados sistemáticamente en los vinos obtenidos con MPF, particularmente en las fracciones monoméricas, las catequinas (Cuadro 3).

Amrani y Glories (1994) y Koyama *et al.* (2007) señalaron que los fenoles de bajo peso molecular de los hollejos son los primeros en ser extraídos durante la maceración. En función de los resultados presentados, éste pudo haber sido el principal efecto de la MPF sobre la composición de los vinos Tannat elaborados en este ensayo. No obstante el contenido de proantocianidinas también fue significativamente mayor en la MPF, 18 % y 12 % en relación a MT y TA respectivamente. Estos resultados son coincidentes con los reportados por Busse-Valverde *et al.* (2011) en estudios de maceración prefermentativa en frío realizada con hielo seco en uva Monastrell. Estos resultados están de acuerdo con lo señalado por Sacchi *et al.* (2005), quienes expresan que el hielo seco también puede afectar las células que contienen los taninos y por lo tanto su extracción. A su vez, se debe tener presente que el vino MPF tuvo 5 días más de maceración que los demás. Es esperable que el mayor tiempo de maceración produzca un aumento del contenido de taninos en el vino, a pesar de las bajas temperaturas y la ausencia de alcohol iniciales (Sacchi *et al.*, 2005).

Finalmente, en oposición a lo buscado con la técnica, MPF dio lugar a los vinos con la mayor concentración de taninos en relación a la de antocianos (Figura 5).

El efecto del empleo de taninos enológicos se manifestó en los mayores valores de catequinas y proantocianidinas en el vino TA en relación a MT (Cuadro 3). La principal diferencia fue en el contenido de catequinas, lo que está de acuerdo con lo reportado por Koyama *et al.* (2007) sobre que los taninos de semilla se caracterizan por un bajo grado de polimerización. Estos resultados son contrarios a los reportados por Harbertson *et al.* (2012), quienes expresaron que el agregado de taninos enológicos a las dosis comercialmente recomendadas implica un incremento en los contenidos de taninos que es menor al requerido para obtener un impacto medible en el vino.

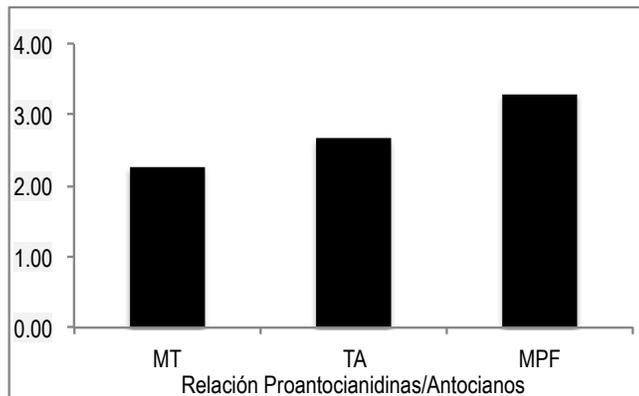


Figura 5 Relación Antocianos/Proantocianidinas al descube según tratamiento. El contenido de antocianos se expresa en mg/L de malvidina-3-o-gl y el de proantocianidinas en mg/L de cloruro de cianidina. Maceración tradicional (MT), maceración con adición de taninos enológicos (TA), maceración prefermentativa en frío (MPF).

Color:

Al descube, los vinos elaborados por MT tuvieron una IC superior a los restantes tratamientos (Cuadro 4) producto de mayor absorbancia a 420 nm y particularmente a 520 nm (datos no presentados). Estos resultados son coincidentes con investigaciones de MPF en Tannat realizadas en el 2006 mientras difieren de las llevadas a cabo en 2007 con uva de menor grado de maduración, donde la IC de los vinos MPF fue superior al testigo (González-Neves *et al.*, 2009). En coincidencia, Álvarez *et al.* (2006) hallaron los mejores resultados con esta técnica en vinificaciones de uva inmadura, en tanto otros autores (Ortega-Heras *et al.*, 2012) reportan lo contrario. Por lo tanto, el nivel de maduración de la uva no sería el único factor que incide en los resultados de la vinificación por MPF.

Las diferencias de intensidad colorante de los vinos MT respecto a los TA (9.0 % superior) fueron similares a las observadas a nivel de los antocianos, sugiriendo que el menor nivel de pigmentos en los vinos TA fue la causa del menor color registrado en relación al testigo.

Respecto a la calidad del color, los vinos realizados con MPF tuvieron la mayor tonalidad (Cuadro 4) posiblemente como consecuencia de fenómenos oxidativos en la etapa prefermentativa. Casassa *et al.* (2008) citan resultados similares como consecuencia de oxidaciones en la etapa de maceración en frío. Los vinos elaborados con MT y TA tuvieron valores similares entre sí por lo que no hubo signos de que el agregado de taninos mejorara la calidad del color. Parker *et al.* (2007) y Delteil (2000) no hallaron que el empleo de taninos enológicos mejorara el color del vino en las diferentes variedades y modalidades en que los emplearon. Parker *et al.* (2007) concluyeron que cuando naturalmente existe una concentración adecuada de taninos en el vino no es de esperar que los adicionados se solubilizan en una proporción importante ni que interactúen en forma significativa con los componentes del vino.

Cuadro 4 Intensidad colorante, tonalidad e índices de copigmentación en el vino al descube según tratamiento. IC = intensidad colorante, A = color debido a antocianos, C = color debido a copigmentación, P = color debido a polímeros. MT = maceración tradicional, TA = maceración con taninos enológicos, MPF = maceración prefermentativa en frío.

	IC	A	C	P	Tonalidad
MT	13,4 a	3,26 a	4,03 a	0,94 a	0,43 b
TA	12,2 b	2,78 b	3,64 b	0,85 b	0,42 b
MPF	12,40 b	3,10 a	3,37 c	0,70 c	0,47 a

En cuanto a los índices de copigmentación (Boulton, 2001), MT dio lugar a los vinos con mayor color debido a pigmentos poliméricos (P) y a copigmentación (C) y, junto a MPF, al mayor color debido a antocianos libres (A) (Cuadro 4). Se aprecia que los mayores valores de estos índices se encontraron en los tratamientos que tuvieron los mayores contenidos de antocianos (Cuadro 3). Versari *et al.* (2008) hallaron que la copigmentación se explicaba casi completamente por los

niveles de pigmentos monoméricos (antocianos), lo que coincide con nuestros resultados, y no por el de taninos como citan otros trabajos (Boulton, 2001).

Sacchi *et al.* (2005) expresan que comenzar la fermentación con altos contenidos de antocianos y taninos favorece su estabilización. Sin embargo, parte del fundamento es la rápida estabilización de estas moléculas con metabolitos de fermentación (como ser acetaldehído y ácido pirúvico). Éstos no son generados durante la fase prefermentativa y en un medio a bajas temperaturas no sería esperable un aumento del color ni de su estabilidad (Sacchi *et al.*, 2005). En consecuencia, podría pensarse que existen pérdidas de antocianos durante la maceración en frío debido a esta causa. A su vez, los fenómenos de readsorción de antocianos son más importantes y rápidos en ausencia de etanol (Amrani y Glories, 1995).

## **Conclusiones**

Los vinos Tannat obtenidos con MPF tuvieron menor intensidad y calidad de color que los elaborados con MT, mientras fueron superiores en taninos y fenoles totales, contrariamente a lo buscado con la técnica.

El aumento de la concentración de taninos desde el inicio de la maceración en TA no generó resultados que puedan ser evaluados como positivos, a nivel de composición fenólica y color, en relación a MT y a las recomendaciones comerciales de estos compuestos. Por lo tanto, su empleo sistemático en la vinificación de uvas Tannat no se justificaría, en función del elevado contenido natural de estos compuestos en esta variedad.

La maceración clásica o tradicional (MT) permitió obtener los vinos con mayor contenido de antocianos e intensidad y calidad de color.

Los resultados de este ensayo deben ser confirmados por futuras investigaciones, que permitan ampliar el conocimiento de las condiciones que determinan los resultados de aplicar las alternativas de elaboración consideradas.

## **Agradecimientos**

A la Agencia Nacional de Investigación e Innovación (ANII) por su apoyo a través del financiamiento del proyecto PR\_FMV\_2009\_1\_2622.

Guzmán Favre agradece a la Agencia Nacional de Investigación e Innovación (ANII) por su apoyo a través de la beca BE\_POS\_NA\_2010\_2338.

Al Instituto Nacional de Vitivinicultura (INAVI), y en particular a la Mag. Qca. Graciela Gil y al personal del Laboratorio, por sus aportes para la realización de este trabajo.

A la Empresa Abastecimientos, y particularmente al Enól. Andrés Zecchi, por sus aportes de insumos empleados en este trabajo.

A la Empresa Nortedur, y particularmente al Enól. Gerardo Bartora, por sus aportes de insumos empleados en este trabajo.

## **Bibliografía**

**Álvarez I, Aleixandre JL, García MJ, Lizama V.** 2006. Impact of prefermentative maceration on the phenolic and volatile compounds in Monastrell red wines. *Analytica Chimica Acta*, 563: 109 – 115.

**Amrani K, Glories Y.** 1995. Tanins et anthocyanes : localisation dans la baie de raisin et mode d'extraction. *Revue française d'œnologie*, 153: 28 - 31.

**Amrani K, Glories Y.** 1994. Étude en conditions modèles de l'extractibilité des composés phénoliques des pellicules et des pépins de raisins rouges. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, 28(4): 303 - 317.

**Boulton R.** 2001. The copigmentation of anthocyanins and its role in the color of red wine : a critical review. *American Journal of Enology and Viticulture*, 52(2): 67 - 87.

**Budic-Leto I, Louric T, Vrhovsek U.** 2003. Influence of different maceration techniques and ageing on proanthocyanidins and anthocyanins of red wine cv. Babic (*Vitis vinifera*, L.). *Food Technology and Biotechnology*, 41(4): 299 – 303.

**Busse-Valverde N, Gómez-Plaza E, López-Roca JM, Gil-Muñoz R, Bautista-Ortín AB.** 2011. The extraction of anthocyanins and proanthocyanidins from grapes to wine during fermentative maceration is affected by the enological technique. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59 (10): 5450 - 5455.

**Casassa F, Catania C, Sari S, Diaz Sambueza M, Avagnina S, Galat E, Catania C.** 2008. Efecto de dos variantes de maceración prefermentativa en frío (MPF) sobre la evolución cromática y organoléptica de vinos Malbec. *Revista Enología*, 2.

**Catania C, Avagnina S, Sari S, Casassa F.** 2006. Influencia de distintos sistemas de maceración sobre el color, la composición polifenólica y las características organolépticas de vinos cvs. Merlot, Cabernet-Sauvignon y Sangiovese de la zona alta del Río Mendoza. Mendoza: INTA. Sp.

**Cheyrier V, Dueñas-Patron M, Souquet MJ, Sarni-Manchado P, Fulcrand H.** 2006. Structure and properties of wine pigments and tannins. *American Journal of Enology and Viticulture*, 57(3): 298 - 305.

**Delteil D.** 2000. Utilisation de tanins oenologiques sur les raisins et les vins rouges méditerranéens et rhodaniens. *Revue française d'œnologie*, 181: 20 - 22.

**Fulcrand H, Dueñas M, Salas E, Cheyrier V.** 2006. Phenolic reactions during winemaking and aging. *American Journal of Enology and Viticulture*, 57(3): 289 - 297.

**Glories Y, Augustin M.** 1993. Maturité phénolique du raisin, conséquences technologiques: application aux millésimes 1991 et 1992. In: Actas du Colloque Journée Techn. CIVB, Bordeaux. p. 56-61.

**Glories Y.** 1984. La couleur des vins rouges : 1re. Partie : les equilibres des anthocyanes et des tanins. *Connaissance de la Vigne et du Vin*, 18(3): 195 - 217.

**Gómez-Míguez M, González-Miret ML, Heredia FJ.** 2007. Evolution of colour and anthocyanin composition of Syrah wines elaborated with pre-fermentative cold maceration. *Journal of Food Engineering*, 79(1): 271 - 278.

**González-Neves G, Gil G, Favre G, Ferrer M.** 2012. Influence of grape composition and winemaking on the anthocyanin composition of red wines of Tannat. *International Journal of Food Science and Technology*, 47 900 – 909.

**González-Neves G, Gil G, Barreiro L, Berriel V, Charamelo D, Favre G.** 2010a. Evolución de los pigmentos en el primer año de vinos tintos Tannat elaborados por técnicas alternativas. *Revista Enología*, 3: 1 - 14.

**González-Neves G, Gil G, Barreiro L, Favre G.** 2010b. Pigment profile of red wines cv. Tannat made with alternative winemaking techniques. *Journal of Food Composition and Analysis*, 23: 447 – 454.

**González-Neves G, Ferrer M, Gil G, Charamelo D, Balado J, Bochicchio R, Gatto G, Tessore A.** 2010c. Estudio plurianual del potencial polifenólico de uvas Tannat en el sur de Uruguay. *Agrociencia*, 14 (2): 10 - 21.

**González-Neves G, Gil G, Barreiro L, Berriel V, Favre G.** 2009. Incidencia de distintas técnicas de vinificación sobre el color y los contenidos de pigmentos de vinos tintos jóvenes Tannat. En: *Actas de 32 Congreso Mundial de la Viña y el Vino*; Zagreb: O.I.V. s.p.

**González-Neves G, Favre G, Charamelo D, Balado J, Barreiro L, Bochicchio R, Gatto G, Gil G, Tessore A.** 2008. Estudio comparativo de la extracción de polifenoles en la elaboración de vinos Tannat por técnicas alternativas. *Revista Enología*, 1: 1 - 5.

**González-Neves G, Ferrer M, Carbonneau A, Moutounet M.** 2003. Adaptación de la vinificación en tinto en función del potencial polifenólico de las uvas. Experiencias realizadas en el 2001. *Agrociencia*, 7(1): 59 - 67.

**Harbertson JF, Parpinello PG, Heymann H, Downey MO.** 2012. Impact of exogenous tannin addition on wine chemistry and wine sensory character. *Journal of Food Chemistry*, 131: 999 - 1008.

- Koyama K, Goto-Yamamoto N, Hashizume K.** 2007. Influence of maceration temperature in red wine vinification on extraction of phenolics from berry skins and seeds of grape (*Vitis vinifera*). *Journal of Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 71(4): 958 - 965.
- Laghi L, Parpinello JP, Del Río D, Calani L, Mattioli AU, Versari A.** 2010. Fingerprint of enological tannins by multiple techniques approach. *Journal of Food Chemistry*, 121(3): 783 - 788.
- Main GL, Morris JR.** 2007. Effect of Macerating Enzymes and Postfermentation Grape-Seed Tannin on the Color of Cynthiana Wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 58(3): 365 – 372.
- Marais J.** 2003. Effect of different wine-making techniques on the composition and quality of Pinotage wine: I. Low- temperature skin contact prior to fermentation. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 24(2): 70 - 75.
- Obradovic D.** Grape-derived tannins and their application. 2006. *Australian and New Zealand Grapegrower and Winemaker*, 509: 66 - 73.
- O.I.V.** 2009. *Récueil des méthodes d'analyse des moûts et des vins*. Paris : Organización Internacional de la Viña y el Vino. 368p.
- Ortega-Heras M., Pérez-Magariño S., González-Sanjosé M.** 2012. Comparative study of the use of maceration enzymes and cold pre-fermentative maceration on phenolic and anthocyanic composition and colour of a Mencía red wine. *LWT – Food Science and Technology*, 48, 1-8.
- Parker M, Smith P, Birse M, Francis I, Kwiatkowski K, Lattey B, Liebich, Herderic M.** 2007. The effect of pre- and post-ferment additions of grape derived tannin on Shiraz wine sensory properties and phenolic composition. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 13(1): 30 - 37.

- Pinelo M, Arnous A, Meyer AS.** 2006. Upgrading of grape skins: Significance of plant cell-wall structural components and extraction techniques for phenol release. *Trends in Food Science and Technology*, 17: 579 – 590.
- Ribereau-Gayon P, Stonestreet E.** 1966. Dosage des tanins du vin rouge et détermination de leur structure. *Chimie Analytique*, 48: 188 - 196.
- Ribereau-Gayon P, Stonestreet E.** 1965. Le dosage des anthocyanes dans le vins rouge. *Bulletin de la Société de Chimie*, 9: 2649.
- Sacchi K, Bisson L, Adams D.** 2005. A review of the effect of winemaking techniques on phenolic extraction in red wines. *American Journal Enology and Viticulture*, 56(3): 197 - 206.
- Sanz L, Castro IM, Moreno-Arribas MV.** 2008. Identification of the origin of commercial enological tannins by the analysis of monosaccharides and polyalcohols. *Food Chemistry*, 111(3): 778 - 783.
- Singleton V, Rossi J.** 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic and phosphotungstic acid reagents. *American Journal Enology Viticulture*, 16: 144 - 158.
- Swain T, Hillis W.** 1959. The phenolic constituents of *Prunus domestica* : I. The quantitative analysis of phenolic constituents. *Journal of Science and Food Agriculture*, 10: 63 - 68.
- Versari A, Boulton R, Parpinello JP.** 2008. A comparison of analytical methods for measuring the color components of red wines. *Food Chemistry*, 106(1): 397 – 402.
- Vivas N, Vivas de Gaulejac N, Nonier MF.** 2002. Mise au point sur les tanins oenologiques et bases d'une nouvelle définition qualitative. *Bulletin de l'O.I.V.*, 75: 853 - 854.
- Zamora F.** 2003. Elaboración y crianza del vino tinto: aspectos científicos y prácticos. Madrid: Mundiprensa. 225p.