

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA  
FACULTAD DE AGRONOMÍA**

**EXTRACCIÓN DE POLIFENOLES Y COMPOSICIÓN DE  
VINOS TINTOS TANNAT ELABORADOS POR TÉCNICAS DE  
VINIFICACIÓN ALTERNATIVAS**

**por**

**Diego Germán PICCARDO SILVA**

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

MONTEVIDEO  
URUGUAY  
Abril, 2015

Tesis aprobada por el tribunal integrado por Qui. MsC. Graciela Gil, Ing. Agr. PhD Milka Ferrer, Ing. Agr. MsC Gerardo Echeverría, el 28 de abril de 2015. Autor: Ing Agr Diego Piccardo. Director Ing. Agr. PhD. Gustavo González-Neves.

A Alfonsina, más que a nada en el mundo...

*"Lo que uno quiere de verdad, es lo que está hecho para uno; entonces hay que tomarlo, o intentar. En eso se te puede ir la vida, pero es una vida mucho mejor..."*

*Mario Benedetti (La Tregua)*

## **AGRADECIMIENTOS**

A Gustavo González-Neves por el apoyo y la confianza recibida durante el desarrollo de esta tesis y desde mucho antes.

A Milka Ferrer, Graciela Gil y Gerardo Echeverría por los aportes realizados durante la corrección de este trabajo, que contribuyeron a mejorar.

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

A la Escuela Superior de Vitivinicultura Pte. Tomás Berreta, lugar en donde se realizó el ensayo y gran parte de los análisis que aquí se presentan.

A Santiago Casella, Ismael Ricceto, Lorena Pascual, Diego Molinari, Verónica Gallero y Adrián García por su participación en la elaboración y análisis de los vinos de los diferentes ensayos.

A Verónica Cabrera, Silvana Torchelo y Fabiana Rodríguez por la colaboración en la organización de las cosechas y las determinaciones analíticas y sensoriales.

A Graciela Calero, Emilia Patarino, Flavia Laserre, Carlos García, Néstor Camelia, Marta Trabal, Alejandro Suárez y Graciela Gramaldo quienes participaron en esta investigación desde sus diferentes áreas de trabajo.

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

A Guzmán Favre, Cecilia Baldi, Natalia Hernández y Sofía Traverso, por su colaboración en las determinaciones analíticas.

A mis padres por apoyarme incondicionalmente y desde siempre en mis proyecciones y en mis sueños.

Finalmente, a Rosario por acompañarme en el camino del vino, y en la vida.



1.5.4.3. Hidrólisis de las pectinas, degradación celular y extracción de compuestos de los hollejos .....	23
1.5.4.4. Formación de compuestos volátiles.....	25
1.6. HIPÓTESIS, OBJETIVOS Y RESULTADOS ESPERADOS DEL PROYECTO .....	27
1.6.1. <u>Hipótesis</u> .....	27
1.6.2. <u>Objetivos</u> .....	28
1.6.3. <u>Resultados esperados</u> .....	29
2. <u>MATERIALES Y MÉTODOS</u> .....	30
2.1. ENSAYO 2010 .....	31
2.1.1. <u>Determinación de la composición de la uva</u> .....	31
2.1.2. <u>Cosecha de la uva y encubado</u> .....	33
2.1.3. <u>Tratamientos</u> .....	33
2.1.4. <u>Seguimiento de la cinética de fermentación</u> .....	35
2.1.5. <u>Composición fenólica del mosto/vino durante la vinificación</u> .....	35
2.1.6. <u>Prensado</u> .....	36
2.1.7. <u>Análisis físico-químico de los vinos</u> .....	36
2.1.8. <u>Análisis sensorial de los vinos</u> .....	37
2.2. ENSAYO 2011 .....	37
2.2.1. <u>Determinación de la composición de la uva</u> .....	37
2.2.2. <u>Cosecha de la uva y encubado</u> .....	37
2.2.3. <u>Diseño experimental y tratamientos</u> .....	38
2.2.4. <u>Seguimiento de la cinética de fermentación</u> .....	39
2.2.5. <u>Composición fenólica del mosto/vino durante la vinificación</u> .....	39
2.2.6. <u>Prensado</u> .....	40
2.2.7. <u>Análisis físico-químico de los vinos</u> .....	40
2.2.8. <u>Análisis sensorial de los vinos</u> .....	40
2.2.9. <u>Análisis estadístico</u> .....	41
2.3. ENSAYO 2012 .....	41
2.3.1. <u>Determinación de la composición de la uva</u> .....	41
2.3.2. <u>Cosecha de la uva y encubado</u> .....	41

2.3.3. <u>Diseño experimental y tratamientos</u> .....	41
2.3.4. <u>Seguimiento de la cinética de fermentación, composición durante la vinificación, prensado, análisis químico y sensorial de los vinos</u> .....	42
2.3.5. <u>Análisis estadístico.</u> .....	43
3. <u>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</u> .....	44
3.1. ENSAYO 2010 .....	44
3.1.1. <u>Composición de la uva en cosecha</u> .....	44
3.1.2. <u>Desarrollo de la fermentación</u> .....	45
3.1.3. <u>Evolución del índice de polifenoles totales</u> .....	48
3.1.4. <u>Evolución del contenido de antocianos</u> .....	52
3.1.5. <u>Composición físico-química de los vinos al descube</u> .....	56
3.1.6. <u>Composición fenólica de los vinos al descube</u> .....	58
3.1.7. <u>Composición fenólica de los vinos al descube, 3 y 6 meses</u> .....	61
3.1.8. <u>Análisis sensorial de los vinos a los 6 meses.</u> .....	64
3.2. ENSAYO 2011 .....	66
3.2.1. <u>Composición de la uva en cosecha</u> .....	66
3.2.2. <u>Desarrollo de la fermentación</u> .....	67
3.2.3. <u>Evolución del índice de polifenoles totales</u> .....	70
3.2.4. <u>Evolución del contenido de antocianos durante la vinificación</u> .....	73
3.2.5. <u>Intensidad colorante y tonalidad</u> .....	76
3.2.6. <u>Composición físico-química de los vinos</u> .....	84
3.2.7. <u>Composición fenólica de los vinos al descube</u> .....	86
3.2.8. <u>Color fenólica de los vinos al descube</u> .....	87
3.2.9. <u>Composición fenólica de los vinos al descube, 3 y 6 meses</u> .....	89
3.2.10. <u>Análisis sensorial de los vinos a los 6 meses.</u> .....	93
3.3. ENSAYO 2012 .....	94
3.3.1. <u>Composición de la uva en cosecha</u> .....	94
3.3.2. <u>Desarrollo de la fermentación</u> .....	95
3.3.3. <u>Evolución del índice de polifenoles totales</u> .....	97
3.3.4. <u>Evolución del contenido de antocianos</u> .....	100
3.3.5. <u>Intensidad colorante y tonalidad</u> .....	102

3.3.6. <u>Composición físico-química de los vinos</u> .....	104
3.3.7. <u>Composición fenólica de los vinos al descube</u> .....	105
3.3.8. <u>Color de los vinos al descube</u> .....	107
3.3.9. <u>Composición fenólica de los vinos al descube, 3 y 6 meses</u> .....	108
3.4. SÍNTESIS DEL EFECTO DE LA TÉCNICA DE VINIFICACIÓN EN LA COMPOSICIÓN DEL VINO .....	113
3.4.1. <u>Maceración pre-fermentativa en frío</u> .....	113
3.4.2. <u>Maceración pre-fermentativa en caliente</u> .....	117
3.4.3. <u>Maceración carbónica</u> .....	122
4. <u>CONCLUSIONES</u> .....	123
5. <u>BIBLIOGRAFÍA</u> .....	125
6. <u>ANEXOS</u> Extracción de polifenoles y composición de vinos tintos Tannat elaborados por técnicas de maceración prefermentativa .....	145

## RESUMEN

La maceración pre-fermentativa en frío (MF) y maceración pre-fermentativa en caliente (MC) incrementan la extracción de compuestos de la uva y promueven la aparición de nuevos pigmentos en los vinos. La maceración carbónica (CA) se basa en desarrollar el metabolismo anaerobio de bayas, donde ocurre la difusión de los compuestos de los hollejos a la pulpa y la aparición de aromas característicos del proceso. Con el objetivo de evaluar el efecto de estas técnicas sobre el contenido fenólico de los vinos y su color, se realizaron ensayos sobre uvas Tannat durante los años 2011 y 2012. El diseño experimental fue completamente al azar, con dos repeticiones. Los tratamientos fueron: MF (5 días a temperatura entre 5-10 °C y 8 días de maceración fermentativa), MC (6 horas a 60 °C y 8 días con maceración fermentativa), CA (racimos enteros en ambiente anaerobio con posterior fermentación) y maceración tradicional (MT, maceración fermentativa de 8 días). Los mostos fueron analizados desde la molienda hasta el descube registrando polifenoles totales, antocianos y color. Los vinos fueron analizados al descube y a los 3 y 6 meses, determinando parámetros enológicos clásicos y de composición polifenólica. Se realizó un ensayo preliminar en el año 2010, evaluando una maceración tradicional (MT, 7 días de maceración fermentativa), MF (7 días a temperatura entre 5-10 °C y 7 días de maceración fermentativa), CA1 y CA2 (14 y 21 días de maceración carbónica respectivamente y 7 días de fermentación sin maceración) y maceración post-fermentativa en caliente (MPostC, 7 días de maceración fermentativa y 12 horas de maceración entre 40-45 °C). Los resultados del ensayo preliminar mostraron una mayor extracción de taninos en relación a antocianos en MPostC y una baja intensidad colorante de los vinos CA. Por tanto, en los ensayos siguientes se evaluó una MC en lugar de MPostC y se aumentó la maceración anaerobia en CA. Los resultados obtenidos muestran diferencias en la extracción de compuestos determinando la composición de los vinos y sus características organolépticas, al descube y durante la conservación.

**Palabras clave:** maceración en frío, termo-vinificación, maceración carbónica, metabolismo anaerobio, Tannat.

# **POLYPHENOL EXTRACTION AND COMPOSITION OF TANNAT RED WINES PRODUCED BY PREFERMENTATIVE MACERATION**

## **TECHNIQUES**

### **SUMMARY**

Pre-fermentative cold maceration (MF) and pre-fermentative hot maceration (MC) increase the extraction of compounds from grapes and encourage the formation of new pigments in wines. Carbonic maceration (CA) develops an anaerobic metabolism in berries, where the diffusion of compounds from the skins to the pulp and the appearance of characteristic flavors of the process occur. In order to evaluate the effect of these techniques on the polyphenolic content of wines and their color during maceration and storage, an experiment was conducted on Tannat grapes during the years 2011 and 2012. The experimental design was completely randomized, with two replicates. The treatments were: MF (5 days at temperatures between 5-10 °C and 8 days of fermentative maceration), MC (6 hours at 60 °C and 8 days fermentative maceration), CA (whole clusters in anaerobic environment with subsequent fermentation) and traditional maceration (MT, fermentative maceration for 8 days). The musts were analyzed from barreling until the end of alcoholic fermentation, recording total polyphenols, anthocyanins and color. The wines were analyzed to racking and at 3 and 6 month where it was determinate the classic oenological parameters and the polyphenolic composition. A preliminary study was conducted in 2010, assessing a MT (7 days fermentative maceration), MF (7 days at temperatures between 5-10 °C and 7 days of fermentative maceration), CA1 and CA2 (14 and 21 days of carbonic maceration respectively and 7 fermentation days without maceration) and post-fermentation hot maceration (MPostC, fermentative maceration of 7 days and 12 hours between 40-45 °C). The results showed an increase of tannin extraction relative to anthocyanin in MPostC and low color intensity of wines CA. Therefore, in the following investigation the condition of MC and CA was modified. The results show differences in the extraction of compounds determining the composition of wines and their organoleptic characteristics.

**Keywords:** cold maceration, thermo-vinification, carbonic maceration, anaerobic metabolism, Tannat.

## **1. INTRODUCCIÓN**

### **1.1. LA PRODUCCIÓN DE VINO EN URUGUAY**

Uruguay posee en la actualidad 8000 hectáreas de viñedos, las cuales produjeron en promedio para el año 2013 118 millones de kilos de uva, donde se destinó el 97 % a la elaboración de vinos (Inavi, 2014). Para el mismo año, el 95% de la producción total de uva correspondió a variedades de *Vitis vinifera* y más del 80% a uvas tintas. La uva fue procesada por 241 bodegas de las cuales el 90 % están ubicadas en la zona sur del país. Durante el período comprendido entre 1998 y 2013, Uruguay elaboró 86 millones de litros de vino en promedio, siendo 33% tintos, 34% rosados, 16% claretes y 17% vinos blancos. Se exportaron 20 millones de litros de vino en el año 2012, donde los vinos tintos son más relevantes (75% de las exportaciones).

### **1.2. EL CULTIVAR TANNAT**

El cultivar Tannat (*Vitis vinifera* L.) es originario de los bajos Pirineos y se cultiva en Madiran, al suroeste de Francia (Álvarez, 1909).

En Uruguay, este cultivar representa el 25 % de las vides implantadas, siendo el país con mayor superficie de Tannat del mundo. Dada la adaptación de Tannat a las condiciones agroecológicas del Uruguay, es la variedad más representativa del sector vitivinícola nacional.

En madurez tecnológica, las uvas de este cultivar presentan una alta concentración de azúcares, manteniendo valores elevados de acidez total. A su vez, presenta un alto potencial de síntesis de antocianos y taninos, generando vinos con cuerpo y de gran color, elementos determinantes de su calidad (González-Neves et al. 2012, 2004a y b, 2003, Alcalde-Eon et al. 2006, Boido et al. 2006).

### **1.3. LA MACERACIÓN EN LA VINIFICACIÓN EN TINTO**

#### **1.3.1. Introducción**

Las características sensoriales y analíticas de un vino dependen fuertemente de la composición de la uva al momento de cosecha así como también de las técnicas de extracción empleadas durante la vinificación. Algunos de los componentes del vino provienen directamente de la uva, estando ligada su concentración al tipo de vinificación, otros son productos metabólicos de los microorganismos que intervienen en los procesos de transformación, mientras que otros compuestos se generan a través de reacciones entre las diversas sustancias presentes en el medio durante su conservación y crianza (González-Neves et al. 2010b y c, Boido et al. 2006, Zamora 2003). Es por esto que los vinos presentan una composición más compleja que las uvas, ya que ciertos componentes de éstas son transformados parcial o totalmente por los procesos de vinificación (González-Neves et al., 2006).

El vino tinto es un vino de maceración, entendiéndose como un proceso físico-químico que incluye el intercambio fraccionado de sustancias entre las partes sólidas de la uva (hollejos, semillas y eventualmente escobajos) y el mosto presente luego de estrujada la vendimia (Casassa y Harbertson 2014, De Beer et al. 2006, Gómez-Míguez et al. 2006). Dicha extracción de los componentes contenidos en la fracción sólida de la vendimia por el mosto, aporta principalmente compuestos fenólicos, aromas y precursores aromáticos, así como también compuestos nitrogenados, polisacáridos, minerales, etc. (Sacchi et al. 2005, Ribéreau-Gayon et al. 1998). Los compuestos fenólicos y sus combinaciones son los responsables del color de los vinos tintos y el soporte de sus características organolépticas (Monagas et al. 2005, Boulton 2001) en tanto que los precursores de aroma determinan la tipicidad varietal (Hidalgo, 2003).

La maceración debe ser conducida de forma de ajustar las proporciones relativas de las sustancias extraídas, principalmente antocianos y taninos, a fin de obtener una buena evolución de la composición del vino durante la crianza

(Harbertson et al. 2012, Zamora 2003, Glories 1984a y b). La extracción durante la maceración debe ser fraccionada y selectiva sobre los compuestos organolépticamente deseables, algunos de los cuales, a su vez, no deben ser extraídos en su totalidad (Ribéreau-Gayon et al., 1998).

Por otra parte, se debe tener en cuenta que durante la vinificación de un vino tinto, la maceración y la fermentación alcohólica ocurren de forma simultánea. La superposición de estos dos procesos condiciona la cinética de disolución de las moléculas responsables del color y el aroma del vino tinto (González-Neves et al. 2009, Balik 2006). En particular, los compuestos fenólicos están localizados en diferentes partes de la uva y tienen diferente solubilidad y capacidad de difusión con respecto a la fase acuosa o alcohólica, a la temperatura y a las condiciones químicas del mosto. Por tanto solamente la tercera parte de los compuestos fenólicos presentes en la uva son extraídos en el vino (Hidalgo, 2003).

### **1.3.2. Fenómenos que ocurren durante la maceración**

Durante la maceración, ocurren dos procesos físicos: la disolución y la difusión de las sustancias extraídas. La disolución implica la extracción al mosto/vino de los compuestos que, en primer lugar se encuentran almacenados en forma libre en las vacuolas de las células de los hollejos (azúcares, ácidos, sales, polifenoles, antocianos y compuestos que proporcionan gusto/aroma) y en segundo lugar, están combinados con estructuras celulares, los presentes en el tonoplasto o en la pared celular (Amendola et al. 2010, Kennedy 2008, Amrani y Glories 1994).

La extracción requiere de la degradación de la pared celular y la ruptura de la cutícula por lo que se ve favorecida con el incremento del alcohol y la temperatura durante la fermentación (Amendola et al. 2010, Pinelo et al. 2006). Por otra parte, la extracción también está determinada por el cultivar, el grado de madurez de la uva y la actividad enzimática en el mosto (González-Neves et al. 2010d, Zamora 2003).

La difusión es fundamental durante la maceración ya que limita la extracción de los compuestos de la uva al mosto/vino, estando determinada por la naturaleza del compuesto, su concentración y su localización en la baya (Amendola et al. 2010, Kennedy 2008, Pinelo et al. 2006). A su vez, puede verse afectada por la temperatura, la solubilidad del compuesto en el medio, el gradiente de concentración entre los sólidos de la uva y el mosto/vino, el equilibrio químico y las reacciones que ocurran en el medio (Kennedy 2008, González-Neves et al. 2007, Boulton 2001).

El grado de extracción logrado en la maceración determina la cantidad y estabilidad del color, la astringencia, la estructura de los taninos, el potencial de añejamiento (Budic-Leto et al. 2008, González-Neves et al. 2007 y 2004a y b) y el tipo y complejidad de los aromas. La magnitud de la extracción y la tasa de difusión de estos compuestos depende a su vez de la concentración, localización celular e interacción de los fenoles con otros metabolitos de la uva (Kennedy 2008, Pinelo et al. 2006, Gómez-Plaza et al. 2005), de la composición química propia de la pared celular del hollejo (Pinelo et al. 2006), de los métodos de procesamiento empleados (Budic-Leto et al. 2008, Sacchi et al. 2005) y del gradiente de concentración entre los hollejos macerados y el vino (Gómez-Plaza et al., 2005).

El control de la maceración (tiempo de encubado, temperatura de fermentación, número e intensidad de los remontajes), la concentración de etanol en el medio, el uso de diversas tecnologías o la aplicación de técnicas alternativas de maceración, modifican las condiciones de extracción determinando la composición del vino (Zamora, 2003).

### **1.3.3. Evolución de los compuestos fenólicos durante la maceración**

Los compuestos fenólicos de la baya tienen cinéticas de extracción diferentes a lo largo de la maceración. El desarrollo simultáneo de la maceración en conjunto con la fermentación alcohólica tiene una influencia marcada en la extracción de

polifenoles, dado que el etanol contribuye a desintegrar las membranas vacuolares y las paredes celulares de los hollejos (Kennedy 2008, González-Neves et al. 2007).

Los ácidos hidroxibenzoicos y los hidroxicinámicos son solubles en medio acuoso y se encuentran en el mosto desde el inicio de la maceración (Casassa et al. 2007, Koyama et al. 2007).

Los antocianos son compuestos fácilmente solubles en agua y por tanto se disuelven desde el inicio de la maceración, independientemente de la concentración de etanol del medio (Ortega-Regules et al. 2008, González-Neves et al. 2007, Romero-Cascales et al. 2005a y b). La extracción de estos compuestos requiere de la degradación de las pectinas de la laminilla media y luego, de la pared celular para permitir que los contenidos vacuolares de las células se disuelvan en el mosto/vino (Hanlin et al. 2010, Ortega-Regules et al. 2008, Bosso et al. 2004). Esta extracción ocurre a una tasa muy rápida, alcanzando la máxima concentración de formas monoméricas durante los primeros 4-5 días de fermentación (Romero-Cascales et al. 2005a y b). Luego de alcanzado este pico, se registra un descenso (de hasta un 60 %), pero al mismo tiempo aumenta la concentración de pigmentos poliméricos (Cheynier et al. 2006, Fulcrand et al. 2006, Morata et al. 2003). La pérdida de antocianos monoméricos se asocia a fenómenos de adsorción sobre las paredes celulares y sólidos presentes en la maceración, a pequeñas pérdidas por degradación e incluso a precipitaciones con cristales de bitartrato de potasio (Cheynier et al. 2006, Romero-Cascales et al. 2005a y b). A su vez, se ha observado que las distintas antocianidinas se difunden de forma diferencial en el mosto, al menos durante las primeras etapas de la maceración. Los antocianos di-sustituidos (cianidina y peonidina), se difunden más rápidamente que los tri-sustituidos y sus formas aciladas. Sin embargo, se observa una disminución en sus proporciones durante los primeros días de maceración, en tanto aumentan las proporciones de malvidina y petunidina (González-Neves et al., 2009). Estas variaciones en las proporciones de cada antocianidina se deben a reacciones de condensación y degradación que se producen desde el inicio de la fermentación, donde la presencia de antocianidinas di-

sustituidas va de la mano con importantes contenidos de etanol y polifenol-oxidasas en el medio (González-Neves et al. 2009, Di Stefano et al. 1994). El aumento de la concentración de etanol reduce además los fenómenos de copigmentación y también provoca una disminución de la solubilidad de ciertos co-pigmentos, lo cual ocasiona una disminución del color.

La extracción de los taninos parece estar limitada a su solubilidad (Sacchi et al., 2005). Los flavan-3-oles y las proantocianidinas oliméricas así como sus unidades galoiladas se extraen desde los hollejos, escobajos y especialmente semillas, más lentamente que los antocianos, y se ven favorecidos por un medio creciente en etanol y temperatura (Souquet et al., 2000). A su vez, su difusión en el vino está influenciada por el tiempo de maceración y el contenido de anhídrido sulfuroso (Koyama et al. 2007, González-Neves et al. 2005). La extracción de flavan-3-oles empieza lentamente en la etapa pre-fermentativa, especialmente a partir de monómeros, dímeros y trímeros, galocatequinas y prodelfinidinas de hollejos (González-Manzano et al., 2009 y 2006), y se mantiene hasta la fase post-fermentativa de la maceración (Hidalgo, 2003). Los taninos de hollejos son extraídos en las primeras horas de vinificación, mientras que la extracción de taninos de semillas se incrementa con el tiempo de maceración (Koyama et al., 2007). Estudios recientes han demostrado que los taninos de semilla están presentes en el mosto desde el comienzo de la maceración, aunque su proporción es menor a la de los taninos de hollejos en esta etapa (Hernández-Jiménez et al. 2012, Busse-Valverde et al. 2011 y 2010).

#### **1.3.4. Etapas de la maceración**

La maceración convencional se puede dividir en tres etapas de acuerdo con la composición y condiciones físico-químicas del medio de extracción (Figura 1).

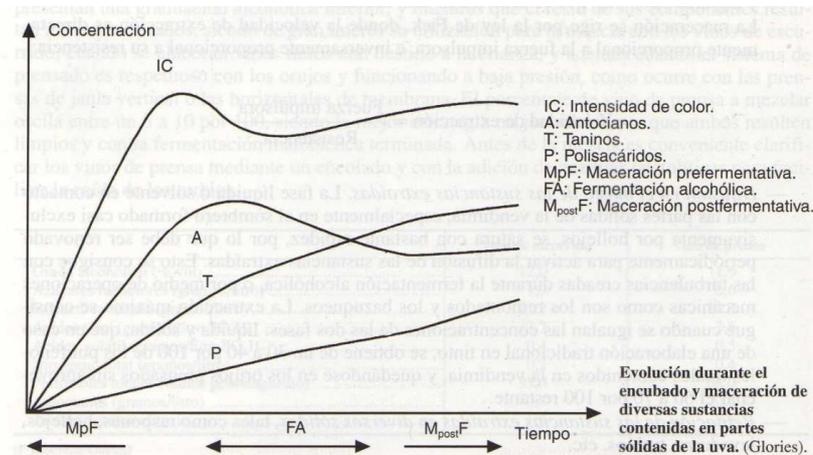


Figura 1. Evolución durante el encubado y maceración de diversas sustancias contenidas en partes sólidas de la uva (tomado de Hidalgo, 2003).

#### 1.3.4.1. Etapa pre-fermentativa

La etapa pre-fermentativa comprende desde la rotura de la baya hasta el inicio de la fermentación alcohólica (Hidalgo, 2003). Ocurre en medio acuoso y en general a temperatura moderada (Zamora, 2003) y cuya duración fundamentalmente depende de la temperatura y de la fase de latencia de las levaduras.

#### 1.3.4.2. Etapa fermentativa

La maceración fermentativa se realiza durante la fermentación alcohólica, teniendo una duración comprendida entre 3 y 10 días, en el transcurso de los cuales se alcanza para casi todas las sustancias el máximo de su nivel de extracción (Hidalgo, 2003). Ocurre en condiciones crecientes de temperatura y concentraciones de etanol, a medida que se desarrolla la fermentación alcohólica, y en la cual se concentra la extracción de compuestos fenólicos y aromáticos. La duración de esta etapa depende de la concentración inicial de azúcares, de la cepa de levadura utilizada, la composición nutricional del mosto, la concentración de oxígeno disuelto y la temperatura (Ribéreau-Gayon et al., 1998).

### **1.3.4.3. Etapa post-fermentativa**

La etapa post-fermentativa tiene una duración variable, desde pocos días hasta algunas semanas, siendo propio de los vinos elaborados para crianza y donde las sustancias extraídas se estabilizan o incluso pueden disminuir, salvo la concentración de taninos que puede seguir aumentando (Hidalgo, 2003). Tiene lugar en un medio hidroalcohólico y en condiciones de descenso de temperatura.

## **1.4. JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN**

En Uruguay, los vinos tintos de mayor relevancia son obtenidos a partir de las variedades Tannat, Cabernet-Sauvignon y Merlot (Inavi, 2014). Debido a la superficie de viñedo implantada, a su adaptación a las condiciones eco-fisiológicas del país y a la tipicidad de sus vinos, la variedad Tannat destaca como la más importante.

Los vinos Tannat presentan elevados contenidos de polifenoles totales, antocianos, catequinas y proantocianidinas, una intensidad colorante superior y mayores tonalidades rojas respecto a los vinos elaborados a partir de Cabernet Sauvignon y Merlot. La riqueza polifenólica y antociánica de los vinos Tannat está relacionada con el potencial enológico de sus uvas y ha sido reportada en numerosos trabajos previos realizados por el equipo de investigación en Enología de Facultad de Agronomía, UDELAR (González-Neves 1999, González-Neves et al. 2006, 2005, 2004 a y b, 2003, 2001, 1998, González-Neves y Ferrer 2008 y 2000, González-Neves y Gatto 2001).

Desde el punto de vista sensorial, los vinos Tannat se destacan particularmente por su intensidad tánica, su persistencia en boca y un color intenso con marcadas tonalidades azules en los vinos jóvenes (González-Neves et al., 2006).

Los vinos elaborados a partir de esta variedad presentan un perfil antociánico característico, con menores proporciones de malvidina y glucósidos acetilados, respecto a los vinos Cabernet-Sauvignon y Merlot, sugiriendo un color menos estable en el tiempo (González-Neves et al., 2005). Se ha constatado que, si bien los vinos elaborados mediante maceraciones tradicionales mantienen el perfil antociánico característico de la uva de origen durante cierto tiempo, la estabilidad del color de los vinos Tannat es menor a la de los vinos de otras variedades (González-Neves et al. 2007, 2005 y 2001, Alcalde-Eon et al. 2006). En este sentido, se debe recordar que la composición antociánica experimenta cambios radicales en el curso de la conservación y crianza de los vinos tintos, con formación de pigmentos derivados de los antocianos, que pasan a tener un rol primordial en el color de los vinos (Alcalde-Eon et al. 2006, Fulcrand et al. 2006).

Tanto a nivel internacional como nacional, varias prácticas alternativas de vinificación han sido propuestas para regular e incrementar la extracción de compuestos de las uvas durante la maceración, así como también promover la aparición en el vino de los pigmentos derivados de antocianos, que son más estables que éstos en el tiempo. Entre las reacciones más importantes a promover se encuentran la condensación y adición de los antocianos con los taninos y con compuestos que se producen en la fermentación alcohólica. Estas moléculas tienen color diferente a los antocianos originales, mayor estabilidad y en el caso de las condensaciones entre los antocianos y los taninos dan lugar a pigmentos poliméricos, que van a ser los pigmentos de los vinos tintos añejos, junto con algunos de los derivados de antocianos citados (González-Neves et al. 2010a, Alcalde-Eon et al. 2006, Fulcrand et al. 2006, Sacchi et al. 2005).

Las técnicas de maceración pre-fermentativa en frío y maceración pre-fermentativa en caliente procuran la extracción de los compuestos hidrosolubles localizados en los hollejos, a través de la modificación de la temperatura previa a la fermentación alcohólica. Se obtiene así vinos con mayor contenido de polifenoles totales, antocianos y mayor intensidad colorante, modificando el perfil aromático de

los vinos respecto a una elaboración tradicional (Delteil 2004, Sahonet 2002). La maceración carbónica se basa en desarrollar el metabolismo anaerobio de bayas sometidas a una atmósfera saturada en CO<sub>2</sub>, donde se da la difusión de los compuestos de los hollejos hacia la pulpa, así como también la aparición de nuevos aromas característicos de este proceso (Flanzy, 2003).

Actualmente, no hay suficientes experiencias nacionales que permitan recomendar de manera confiable la aplicación de alguna de estas técnicas en particular, como alternativa para la variedad Tannat.

## **1.5. VINIFICACIONES ALTERNATIVAS EN VINOS TINTOS**

### **1.5.1. Maceración pre-fermentativa en frío**

De acuerdo a la resolución OENO 12/2005 de OIV, la maceración pre-fermentativa en frío puede definirse como un “procedimiento que consiste en hacer macerar en frío las uvas rojas despalilladas y/o estrujadas o eventualmente enteras mantenidas en contacto con el mosto a una temperatura y durante un tiempo adaptado al objetivo buscado, antes del inicio de la fermentación alcohólica”. El objetivo de esta técnica consiste en “favorecer la extracción de los constituyentes del hollejo por medio de procedimientos difusionales y enzimáticos con el fin de aumentar la complejidad aromática y gustativa de los vinos y mejorar las características del color”.

En esta técnica de vinificación, parte de la maceración ocurre en ausencia de alcohol permitiendo la difusión selectiva de compuestos hidrosolubles de la uva: tales como antocianos y taninos de bajo peso molecular (Heredia et al. 2010, Álvarez et al. 2006, Llaudy et al. 2005). La difusión prioritaria de antocianos, durante la fase pre-fermentativa, determina un aumento de color de los vinos obtenidos (Zamora, 2003).

### **1.5.1.1. Factores que determinan la maceración pre-fermentativa en frío**

Las temperaturas y los tiempos en que se realiza esta práctica son muy variables, citándose entre 3 y 15 °C durante un periodo de 3 a 7 días (Nel et al. 2014, Nel 2011, Llaudy et al. 2005, Sacchi et al. 2005). Esta vinificación puede realizarse en ausencia o presencia de oxígeno, con levaduras nativas o con siembra de levaduras seleccionadas tanto previo al inicio de la maceración en frío como luego de finalizada la misma (Sacchi et al. 2005, Feuillat y Peyron 2003). Es muy común el uso de enzimas pectolíticas durante esta etapa, ya que la actividad enzimática es por lo general baja a las temperaturas citadas (Parley, 1997).

La temperatura afecta la tasa de extracción de los compuestos durante la etapa pre-fermentativa. En general, las temperaturas utilizadas durante la maceración pre-fermentativa en frío se encuentran entre 0 y 15 °C (Moreno-Pérez et al. 2013, Gambacorta et al. 2011, Casassa et al. 2007, De Beer et al. 2006, Reynolds et al. 2001). Si bien varias investigaciones asumen que la temperatura es constante durante la maceración pre-fermentativa en frío, se ha observado gran variación en la extracción dependiendo del agente de frío utilizado (Moreno-Pérez et al. 2013, Álvarez et al. 2006, Gómez-Plaza et al. 2006). El efecto de esta técnica depende de cómo sea suministrado el frío. La disminución de la temperatura a través del uso de hielo seco produce una degradación de los tejidos de los hollejos por congelación de las células al sublimarse a -80 °C (Bosso et al. 2006, Hidalgo 2003). Este efecto es diferente al obtenido utilizando un equipo de frío con un intercambiador de calor o una cámara frigorífica, en donde no existe desintegración de los tejidos de los hollejos y la temperatura alcanzada puede mantenerse constante, favoreciendo la extracción de compuestos durante esta etapa (Gómez-Míguez et al. 2007, Álvarez et al. 2006). Sin embargo, el efecto de la temperatura también depende de la composición de la materia prima y por ello los resultados que conciernen a este factor son poco reproducibles (Casassa et al., 2007).

Se ha reportado una duración variable de la etapa de maceración pre-fermentativa, desde 1 hasta 15 días de duración (Ortega-Heras et al. 2012, Casassa et al. 2007, Gómez-Míguez et al. 2007, De Beer et al. 2006, Llaudy et al. 2005, Zoecklein et al. 1999). Dentro de ese rango, la duración depende de la forma y la eficiencia con la cual se suministra el frío y de los objetivos buscados. Desde el punto de vista de la extracción polifenólica, a medida que se incrementa el tiempo de contacto durante la maceración pre-fermentativa en frío, aumenta la extracción de polifenoles hasta un cierto tiempo (Marais, 2003a y b). Superando este límite los procesos disolutivos y difusionales se anulan (Cuénat et al., 1996) con el riesgo del desarrollo de levaduras apiculadas y oxidaciones anticipadas, en tanto, la extracción de precursores aromáticos aumenta hasta el cuarto día de maceración pre-fermentativa en frío (Albanese et al. 2012, Jofré et al. 2006)

Otro factor que determina la extracción durante la maceración pre-fermentativa en frío es la composición del medio. Durante las primeras 48 horas y con temperaturas inferiores a los 10 °C, el solvente es agua vegetal vacuolar. El agua, que es el solvente predominante durante la etapa pre-fermentativa, afecta la extracción de dos maneras: en primer lugar, permite la solubilidad diferencial de compuestos hidrosolubles (aquellas estructuras químicas glicosidadas: antocianos, precursores aromáticos, cis y trans-piceidos, quercitina y otros flavonoles) (Pinelo et al., 2005); en segundo lugar, la ausencia de etanol permite que el medio se mantenga menos polar, lo que implicaría un aumento teórico de los antocianos copigmentados, especialmente los derivados de la malvidina, también menos polares. Si la maceración pre-fermentativa en frío se prolonga y la temperatura se eleva levemente, el medio se torna débilmente alcohólico. La presencia de etanol aumenta las concentraciones finales de antocianos p-cumarilados y proantocianidinas de semillas, consideradas poco solubles en agua (Cheynier et al., 2006).

### **1.5.1.2. Extracción durante la maceración pre-fermentativa en frío**

El efecto de la maceración pre-fermentativa en frío sobre la extracción de los compuestos localizados principalmente en los hollejos, depende de cómo sea conducida y de la naturaleza del compuesto.

La extracción de los antocianos ocurre durante los primeros días, dependiendo fuertemente de la temperatura del tratamiento (Gómez-Míguez et al. 2007, Gómez-Plaza et al. 2005). La maceración pre-fermentativa en frío a 15 °C mejora la extracción de antocianos (Gómez-Míguez et al., 2007), en tanto que a 0 °C incrementa el índice de color de los vinos (Mazza y Ford, 2005). La malvidina-3-glucósido es el antociano mayormente extraído independientemente de la temperatura (Gómez-Míguez et al. 2007, Álvarez et al. 2006). El medio acuoso de esta etapa favorece su disolución prioritaria frente a las cuatro formas antociánicas restantes, debido a que ésta es la menos polar. A su vez, la maceración pre-fermentativa promueve la copigmentación al presentar altos porcentajes de color copigmentado que se mantienen durante la fermentación alcohólica, en tanto, durante una maceración clásica el color copigmentado disminuye de manera significativa (Ortega-Heras et al. 2012, González-Neves et al. 2010b y c, 2009, Casassa et al. 2007). Una extracción preferencial de derivados malvidínicos y un mayor porcentaje de color copigmentado determinan el elevado color registrado en los vinos elaborados por ésta técnica.

La maceración pre-fermentativa en frío promueve también la extracción de taninos de hollejos. Luego de aplicado el tratamiento térmico se registran concentraciones elevadas de taninos (González-Neves et al., 2007), sugiriendo una extracción preferencial de taninos de hollejos (Salinas et al., 2005). Los primeros compuestos fenólicos extraídos durante la maceración son polímeros de proantocianidinas modificados con otros componentes de la baya (carbohidratos, proteínas), principalmente las procianidinas contenidas en las vacuolas de las células del hollejo (Busse-Valverde et al. 2010, Kennedy 2008).

Si bien los efectos positivos de una maceración pre-fermentativa en frío sobre el color del vino dependen de la variedad y la calidad de la vendimia (Ortega-Heras et al. 2012, Gil-Muñoz et al. 2009, Catania et al. 2006), éstos tienden a minimizarse durante su conservación (Parley et al. 2001, Gil-Muñoz et al. 1997). Se ha postulado que la intervención racional de dosis controladas de oxígeno permiten que la extracción selectiva y suplementaria obtenida se fije rápidamente luego del descube en pigmentos estables, conservando el efecto obtenido con esta técnica (Casassa et al., 2007).

A través de esta técnica de vinificación se facilita la manifestación de los caracteres aromáticos propios del cultivar, ya que se favorece la liberación a partir de los hollejos, de aromas libres y ligados (Feuillat y Peyron, 2003). Al disminuir la temperatura, el volumen de los líquidos intracelulares aumenta, ocasionando rupturas en las membranas y facilita la extracción de los compuestos aromáticos (Moreno-Pérez et al., 2013). Los vinos sometidos a ésta técnica, presentan cambios aromáticos debido a la hidrólisis de sus precursores glicosidados extraídos en la etapa pre-fermentativa (Albanese et al. 2012, Zoecklein et al. 1999), durante la cual se produce un incremento de la solubilidad en medio acuoso (Somers y Verette, 1988). Estudios realizados por Jofré et al. (2006) y Zoecklein et al. (1999) muestran que los vinos obtenidos por maceración pre-fermentativa en frío presentan variantes en la concentración de precursores aromáticos, los cuales aumentan desde la siembra de la levadura hasta una concentración máxima que luego disminuye. Esta caída en la concentración de glicósidos en los estadios finales de la fermentación alcohólica se debe a una combinación de factores que incluyen su precipitación, absorción e hidrólisis. Si esta disminución se debe a una hidrólisis podría resultar en la liberación de agliconas aromáticas activas, implicando un incremento en el aroma del vino. De lo contrario, si la disminución es el resultado de la precipitación o absorción de glicósidos se observa una pérdida de precursores aromáticos, lo que determina que no se diferencien los vinos elaborados por maceración pre-fermentativa en frío respecto a un vino testigo.

### **1.5.1.3. Otros efectos de la maceración pre-fermentativa en frío**

Se ha demostrado que el empleo de bajas temperaturas durante la etapa pre-fermentativa tiene un impacto importante sobre las levaduras propias del mosto (Feuillat y Peyron, 2003). Cuando se prolonga la etapa pre-fermentativa se alteran las condiciones microbiológicas del mosto. Esto se debe a que no existe un efecto selectivo del etanol y a que las bajas temperaturas favorecen el desarrollo de una microflora diferente de la presente en una vinificación tradicional (Casassa et al. 2008, Casassa y Catania 2006). El posible desarrollo de levaduras criófilas y su influencia en la liberación de ciertos aromas, especialmente esteres volátiles, puedan explicar la complejidad aromática de los vinos tintos sometidos a esta vinificación (Feuillat y Peyron, 2003).

Las enzimas polifenol-oxidasas (PPO) son responsables de la oxidación de los compuestos fenólicos del vino. Luego de la molienda, la rotura de los hollejos permite la liberación de dichas enzimas que comienzan a ejercer su acción oxidante siempre que haya oxígeno molecular disuelto. Durante la maceración pre-fermentativa en frío, al potenciar la extracción en fase acuosa, la etapa pre-fermentativa se prolonga. Se debe tener en cuenta que las enzimas procedentes de la materia prima y especialmente la laccasa, que pueden estar presentes en trazas aun en uvas visualmente sanas, pueden ocasionar un detrimento en el color del vino (Casassa 2007).

### **1.5.2. Maceración pre-fermentativa en caliente – termo-vinificación**

La maceración pre-fermentativa en caliente es una técnica en la cual los racimos enteros o estrujados son calentados antes de la fermentación alcohólica, con el objetivo de obtener mostos o vinos más coloreados (Boulet 2003, Auw et al. 1996). El calor actúa alterando los tejidos de los hollejos y transfiriendo sus componentes al mosto. Las temperaturas a las que se eleva el mosto durante la etapa

pre-fermentativa varían entre 40 y 80 °C, a la vez que la duración de la maceración depende de la temperatura (entre 12 y 24 h) (Atanackovic et al. 2012, Ribéreau-Gayon et al. 1998).

Con esta técnica de vinificación se busca promover la difusión de los compuestos fenólicos desde los hollejos al mosto incrementando el color del vino, sin embargo y dependiendo de la temperatura a la cual se realiza el tratamiento, la extracción de los compuestos provenientes de la uva se potencia, determinando cambios sustanciales en la composición general del vino (Ribéreau-Gayon et al., 1998).

#### **1.5.2.1. Extracción durante la maceración pre-fermentativa en caliente**

Durante la maceración pre-fermentativa en caliente, el calentamiento daña las membranas de las células de los hollejos liberando al mosto los antocianos que están localizados dentro de su estructura (El Darra et al. 2013, Sacchi et al. 2005, Lowe et al. 1976). Luego de este proceso, el mosto puede ser enfriado y prensado o prensado y enfriado a temperaturas de fermentación y el jugo es fermentado como una vinificación en blanco (Lowe et al., 1976). Varios estudios sobre termo-vinificación han demostrado que con esta técnica se produce un incremento en la concentración de antocianos (Baiano et al. 2009, Sacchi et al. 2005, Lowe et al. 1976), mientras que la concentración de flavonoles permanece baja (Baiano et al., 2009).

Durante el calentamiento y su posterior maceración el incremento en la extracción de antocianos determina que se alcancen valores elevados de intensidad colorante, estando este fenómeno determinado por el tiempo y la temperatura de maceración (Andrade-Neves et al. 2013, Auw et al. 1996). Entre los 40 y 80 °C, la ganancia en antocianos aumenta de forma lineal al aumentar la temperatura. Por encima de 80 °C la extracción de antocianos se estabiliza. Durante la fermentación alcohólica se produce una caída importante de los antocianos y la intensidad colorante del mosto. Esta disminución se debe a varias causas: la precipitación en

forma coloidal a partir de un cierto nivel de alcohol en el medio, las hidrólisis enzimática de las moléculas de antocianos producidas por las levaduras, la combinación de los antocianos con proteínas y la refijación de las sustancias extraídas a partes sólidas de la vendimia, entre otras (Netzel et al. 2003, Hidalgo 2003). Sin embargo, al terminar la fermentación alcohólica los vinos resultan con más color que los elaborados por sistemas tradicionales y estando dotados de una mayor estabilidad (El Darra et al. 2013, Atanackovic et al. 2012).

Abyari et al. (2006) plantea que el aumento en el tiempo y la temperatura de calentamiento tiene un efecto en la copigmentación que resulta en un incremento en el espectro visible (efecto hipercromico) y un incremento en el máximo de absorbancia (efecto batocrómico). Sin embargo, si el aumento de la temperatura es lento la copigmentación disminuye, debido a que estos pigmentos son exotérmicos y su equilibrio tiende a desplazarse hacia la forma chalcona siendo esta una pérdida importante en el color del vino (Brouillard y Dangles, 1994).

El calentamiento por encima de los 40 °C eleva notablemente la cantidad extraída del resto de los compuestos fenólicos de la vendimia. Durante la fermentación alcohólica dichas sustancias también disminuyen, resultando vinos con concentraciones superiores en más de 20 a 30 % respecto a los elaborados por vinificación tradicional (El Darra et al. 2013, Atanackovic et al. 2012, Baiano et al. 2009, Netzel et al. 2003).

La termo-vinificación tiene un impacto importante en la concentración de compuestos aromáticos. Los vinos elaborados por esta técnica presentan altos contenidos de ésteres de acetato. Esto se puede explicar por tres factores. En primer lugar al existir una rápida extracción de compuestos fenólicos durante el tratamiento térmico la fermentación puede realizarse en ausencia de hollejos, lo que determina que se forme menos CO<sub>2</sub> durante la fermentación, minimizando la pérdida de compuestos volátiles. Por otra parte, la ausencia de tratamientos mecánicos durante la fermentación también reduce la pérdida de estos compuestos. Finalmente, las altas

temperaturas inactivan enzimas como esterasas o transferasas protegiendo los aromas (Fischer et al., 2000).

#### **1.5.2.2. Otros efectos de la maceración pre-fermentativa en caliente**

En los mostos termotratados aumenta principalmente el contenido de ácido tartárico, así como también el de los cationes mayoritarios (Baiano et al. 2009). Sin embargo durante la fermentación alcohólica se reduce su contenido, llegando a alcanzar concentraciones similares a los vinos elaborados por métodos tradicionales. Como resultado, la acidez total del mosto se incrementa en un 20 a un 40 %, pero, durante la fermentación alcohólica disminuye hasta valores similares a los tratamientos elaborados por sistemas tradicionales. En esta etapa se producen precipitaciones importantes de las sales del ácido tartárico con los cationes de potasio y de calcio (Hidalgo, 2003).

Durante el calentamiento del mosto la carga microbiana disminuye. Como la temperatura no es homogénea existe una selección de levaduras termo-resistentes. Luego del tratamiento pueden ocurrir contaminaciones con levaduras, lo cual, sumado a la extracción de factores de crecimiento producidos por el calentamiento, determina que el mosto fermente rápidamente con levaduras no deseadas ocasionando un detrimento en la calidad del vino. La población de las bacterias lácticas y acéticas en los mostos desaparece, encontrándose en los vinos niveles normales de estos microorganismos. La fermentación maloláctica de los vinos termotratados es difícil debido a la merma de la población microbiana y a la mayor riqueza en alcohol y polifenoles que presentan un efecto inhibitorio (Hidalgo, 2003).

Los mostos termotratados realizan la fermentación alcohólica más rápidamente que los de una elaboración tradicional, debido a una mayor disponibilidad de sustancias nitrogenadas para las levaduras, principalmente de nitrógeno amoniacal (Hidalgo, 2003).

Por otra parte, el calentamiento del mosto desnaturaliza las enzimas polifenoloxidasas (PPO) previniendo el amarronamiento del vino y determinando vinos con mayor color y mejor tonalidad (Nel et al. 2014, Nel 2011, Sacchi et al. 2005).

### **1.5.3. Maceración post-fermentativa en caliente**

La maceración post-fermentativa en caliente consiste en calentar de 12 horas a 4 días a temperaturas entre 30 y 50 °C al vino-orujo, al finalizar la fermentación alcohólica y antes que comience la fermentación maloláctica (Catania et al., 2006).

Este calentamiento inhibe la acción de enzimas polifenol-oxidasas a la vez que se potencia la extracción de compuestos fenólicos (principalmente taninos) y polisacáridos, que ayudan al suavizado de los primeros y contribuyen al volumen en boca. También se favorecen reacciones de polimerización entre antocianos y taninos que permiten una mayor estabilidad del color del vino durante su crianza (Casassa et al., 2007). Gervaux et al. (1998) encontró que los vinos obtenidos con esta vinificación presentaban mayor contenido de compuestos fenólicos (incrementos cercanos del 30% respecto a un vino testigo) y mejor color. Sin embargo, se plantea que esta técnica debe ser usada con prudencia ya que en caso de uvas cosechadas inmaduras se extraen aromas herbáceos y taninos amargos. Por otra parte, el calor puede degradar los antocianos ocasionando detrimentos significativos en el color del vino (Blouin et al., 2000).

Previo a realizar esta técnica, se debe tener la precaución de que no existan azúcares sin fermentar, así como también evitar la acetificación de los hollejos en contacto con el aire (Hidalgo, 2003) ya que ambos factores pueden comprometer la calidad del vino.

Gervaux et al. (1998) han considerado la actividad laccasa en mostos obtenidos con distintas tecnologías de maceración demostrando que una maceración final en caliente (40 °C) elimina la actividad de esta enzima.

#### **1.5.4. Maceración carbónica**

La maceración carbónica es una técnica tradicional de las regiones de Beaujolais y Languedoc, en Francia y Rioja, en España (Johnson y Robinson, 2003). Puede definirse como un proceso metabólico anaeróbico que ocurre en el interior de las bayas conservados en atmósfera de CO<sub>2</sub>, en ausencia de oxígeno (Tesniere y Flanzy 2011, Flanzy 2003). En tales condiciones, en el interior de las bayas ocurre una fermentación enzimática intracelular, por enzimas glicolíticas propias de la uva, produciéndose etanol y glicerol, entre otros compuestos intermedios (Tesniere y Flanzy 2011, Sauvage et al. 1991). La enzima alcohol deshidrogenasa es la principal vía de suministro de energía (Tesniere et al., 1994).

La vinificación por maceración carbónica se realiza en dos etapas (Pace et al. 2014, Sacchi et al. 2005, Hidalgo 2003):

- Maceración carbónica, donde la vendimia entera se sitúa en una atmósfera saturada en anhídrido carbónica.
- Fermentación alcohólica de los mostos escurridos o prensados procedentes de la etapa anterior.

Esta técnica puede llevarse a cabo de forma estricta (la vendimia permanece con las bayas enteras y en su interior realizan un metabolismo anaerobio sin intervención microbiana) o combinada con actividad fermentativa (las operaciones de manipulación de la vendimia producen la rotura de parte de la bayas, interviniendo microorganismos que fermentan parte del mosto donde bayas enteras van a estar sumergidas) (Pace et al. 2014, Flanzy et al. 1987).

Durante la maceración carbónica se producen tres actividades enzimáticas: la degradación del ácido málico, la degradación de las paredes celulares de los tejidos vegetales y la hidrólisis de las proteínas en aminoácidos.

#### 1.5.4.1. Metabolismo anaerobio del ácido málico y sus consecuencias

El ácido málico que contiene la vendimia es transformado en ácido pirúvico por la enzima málica, produciendo la descarboxilación de la molécula con desprendimiento de anhídrido carbónico. El ácido pirúvico pierde otro carbono y forma acetaldehído, el cual es transformado en alcohol etílico por la enzima alcohol deshidrogenasa (Figura 2) (Tesniere y Flanzky 2011, Hidalgo 2003, Flanzky et al. 1987).

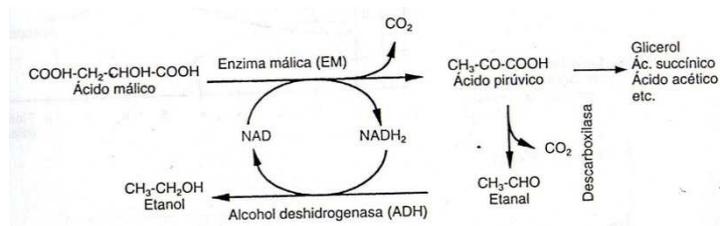


Figura 2: Metabolismo del ácido málico del racimo en anaerobiosis (Hidalgo, 2003)

La consecuencia de este metabolismo es una reducción del ácido málico, con la formación de  $\text{CO}_2$  y alcohol etílico, así como la aparición de otras sustancias derivadas del ácido pirúvico, que también tiene importancia en los vinos elaborados. La reducción del ácido málico acompaña a un aumento del glicerol, acetaldehído y ácido succínico. En consecuencia, se produce una disminución de la acidez total y un aumento del pH (Pace et al. 2014, Flanzky 2003).

El  $\text{CO}_2$  es utilizado para inducir el metabolismo anaeróbico de la vendimia, y es absorbido por esta durante las primeras horas de la maceración, a la vez que los racimos comienzan a desprender  $\text{CO}_2$  hacia la atmósfera procedente del catabolismo del ácido málico (Flanzky et al. 1987, Peynaud 1984). Estos fenómenos gaseosos están muy ligados a la temperatura, disminuyendo el  $\text{CO}_2$  absorbido cuando la

temperatura aumenta, mientras que al mismo tiempo se incrementa el emitido por una mayor activación del metabolismo (Ribéreau-Gayon et al. 1998, Flanzky et al. 1987).

La producción de alcohol etílico se ve afectada por la temperatura en que se realiza la maceración carbónica (Spranger et al. 2004, Ribéreau-Gayon et al. 1998, Flanzky et al. 1987), el tiempo de maceración (Flanzky 2003, Miller y Howell 1989) y la relación entre los racimos enteros y el mosto en fermentación proveniente de las bayas estrujadas (Miller y Howell, 1989). La producción de etanol alcanzada al finalizar este proceso es de 1.5 a 2.5 % vol. (Spranger et al. 2004, Peynaud 1984). Las temperaturas bajas forman más lentamente el etanol que las elevadas, aunque con el tiempo se alcanza una mayor cantidad de este compuesto (Hidalgo 2003, Flanzky et al. 1987). El tiempo de maceración influye en el metabolismo del ácido málico en relación con la temperatura: con maceraciones cortas (8 días) las temperaturas que permiten obtener mayores contenidos de etanol se encuentran entre 30-35°C; con maceraciones más largas (15 días) la temperatura óptima es de 25°C (Tesniere y Flanzky 2011, Flanzky et al. 1987). El contenido de etanol aumenta a medida que aumenta el tiempo de maceración; las bayas producen 1.5 a 2.5% de alcohol antes de que la célula muera por el contenido de alcohol y la falta de oxígeno y, es posible, que a un cierto nivel de alcohol se produzca una inhibición de la producción de etanol (Miller y Howell, 1989).

A partir del ácido pirúvico, como producto intermedio del metabolismo del ácido málico, se forman otros compuestos secundarios, donde destacan el glicerol, el acetaldehído, así como diversos ácidos: succínico, acético, fumárico, aspártico, shiquímico, entre otros, de gran importancia desde el punto de vista aromático (Tesniere y Flanzky 2011, Hidalgo 2003, Miller y Howell, 1989).

La disminución del ácido málico en la baya conlleva a una disminución de la acidez que no se compensa con la formación de nuevos ácidos (Ricardo-Da Silva 1993, Tesniere et al. 1989). Por tanto, los vinos obtenidos a partir de ésta

vinificación presentan un pH elevado respecto a los elaborados por vinificaciones tradicionales. A medida que aumenta el tiempo de maceración carbónica, el aumento en el pH es mayor debido fundamentalmente a una mayor disminución de la acidez (Tesniere y Flanzky 2011, Ricardo-Da Silva 1993, Tesniere et al. 1989).

#### **1.5.4.2. Hidrólisis de las proteínas**

Al finalizar la fermentación intracelular, el contenido de nitrógeno total aumenta, descendiendo las fracciones de nitrógeno amoniacal y proteico e incrementándose la forma aminada. Esto se debe a la acción de las enzimas proteolíticas, que degradan las proteínas formando aminoácidos libres, cuya composición depende de la variedad de uva y su grado de maduración (Tesniere y Flanzky 2011, Flanzky et al. 1987). La disminución en el contenido de nitrógeno mineral se explica por su consumo por las levaduras en la vendimia estrujada, que realiza la fermentación alcohólica en la parte inferior del depósito (Hidalgo 2003).

Tesniere et al. (1994) plantean que existe una síntesis de proteínas en las células de las bayas sometidas a anaerobiosis. Si bien no está claro que poli-péptidos son ni sus funciones, es probable que algunos de ellos contribuyan a la tolerancia a las condiciones anaerobias.

#### **1.5.4.3. Hidrólisis de las pectinas, degradación celular y extracción de compuestos de los hollejos**

Las sustancias pécticas que se localizan en las paredes celulares de los tejidos vegetales de la uva son hidrolizadas durante la maceración carbónica por las enzimas pectolíticas, teniendo como consecuencia el ablandamiento de la vendimia y una continua rotura de los racimos encubados (Hidalgo, 2003). A su vez, el aumento de la presión interna generada por el CO<sub>2</sub> produce micro-fisuras en los hollejos (Tesniere y Flanzky 2011, Flanzky et al. 1987) lo que contribuyen a degradar los tejidos celulares.

La degradación de las paredes celulares produce una difusión de los compuestos fenólicos contenidos en las células de los hollejos, principalmente antocianos, hacia la pulpa, la cual ocurre más rápidamente cuanto mayor es la temperatura (Flanzy et al., 1987). El incremento en la extracción de los compuestos fenólicos se potencia por la presencia de alcohol en el medio (Miller y Howell, 1989).

El contenido de antocianinas disminuye con el tiempo de la maceración carbónica (Ramos et al., 2003). El porcentaje de malvidina y sus derivados localizados en la piel se incrementan significativamente a expensas de los derivados de delfinidina, peonidina y petunidina (Pace et al., 2014). Estos derivados de la malvidina son los últimos en extraerse desde los hollejos durante la maceración carbónica; los derivados de delfinidina se extraen completamente hacia fin de la misma. Los derivados de la petunidina y la peonidina muestran diferente comportamiento en función del estado de madurez de la uva (Pace et al., 2014). La disminución de los antocianos de la piel durante la maceración carbónica se puede observar en el contenido de antocianos totales y monoméricos. Los fenómenos de difusión de los antocianos en la pulpa son muy limitados (Tesniere y Flanzy 2011, Flanzy et al. 1987). Menos del 4% de la malvidina-3-glucósido de los hollejos se encuentra presente en la pulpa a los 10 días de iniciado el metabolismo anaerobio. La relación entre antocianos no acilados y acilados se mantiene constante durante toda la maceración anaerobia. Sin embargo, el glucósido de p-cumarico-3-malvidina disminuye más rápidamente durante el proceso que la malvidina-3-glucósido, lo que induce una distribución progresiva de la primera a la segunda forma explicada por una desacilación hidrolítica. Los vinos de maceración carbónica presentan una tonalidad violácea, ya que dentro de las bayas se produce el fenómeno de copigmentación entre los antocianos y los fenoles de la uva, presentando un incremento del color, además de la variación hacia tonos azulados (Ricardo-Da Silva, 1993). La relación A420/A520 aumenta de forma constante durante esta etapa, mientras que el contenido de antocianos monoméricos se reduce ligeramente. Esto

puede ser explicado por la formación de complejos antocianos-taninos durante el metabolismo anaerobio.

Por otra parte, la concentración de los ésteres hidroxicinámicos empieza a caer a partir del tercer día de maceración anaerobia, con una variación más rápida del éster tartárico del ácido p-cumárico (pCT) que del éster tartárico del ácido caféico (CT). Durante la maceración carbónica hay un incremento en la relación CT/pCT, que parece ser característica de este tipo de vinificaciones. En una maceración convencional, la relación CT/pCT disminuye debido a los fenómenos de oxidación del mosto. Las causas de las diferencias en la evolución durante el metabolismo anaerobio se deben a la especificidad de las enzimas hidrolíticas y a las esterasas de la uva que degradan los esteres de los ácidos hidroxicinámicos (Ramos et al., 2003). El éster tartárico de los ácidos hidroxicinámicos puede ser metabolizado por las levaduras durante la fermentación originando ciertos compuestos aromáticos de los vinos típicos de este proceso de elaboración.

En cuanto a la extracción de taninos, los vinos de maceración carbónica aumenta la extracción de proantocianidinas debido al prensado de los hollejos parcialmente degradados con esta técnica de vinificación (Ricardo-Da Silva, 1993). En términos generales, el contenido total de compuestos fenólicos de estos vinos es del 50% respecto a los elaborados de forma tradicional (Sacchi et al. 2005, Miller y Howell 1989).

Luego de 8-10 días de fermentación anaerobia, la extracción de compuestos fenólicos se ve disminuida ya que las enzimas pierden su actividad y el proceso se detiene debido a que estas son inhibidas por la presencia del CO<sub>2</sub>.

#### **1.5.4.4. Formación de compuestos volátiles**

Los vinos elaborados por maceración carbónica se caracterizan por su potencia y calidad aromática. Esto supone que presentan un aroma común cuyo

origen es el metabolismo anaerobio del racimo, además de otros procedentes de la vendimia o de la posterior fermentación alcohólica (Flanzy et al., 1987).

Los aromas específicos de la maceración carbónica derivan del ácido fumárico, shiquimico y aspártico, junto a los compuestos fenólicos; formándose fenoles volátiles como: vinil benceno, acetato de fenil-2-etilo, benzaldehído, vinil-4-gayacol, vinil-4-fenol. Etil-4-gayacol, etil-4-fenol, eugenol, vainillato de metilo, vainillato de etilo, y cianamato de etilo (Hidalgo 2003, Ribéreau-Gayon et al. 1998).

Esta vinificación permite una elevada extracción de aromas varietales, así como también la formación durante la fermentación alcohólica de una mayor cantidad de sustancias aromáticas derivadas de los aminoácidos, alcoholes superiores y sus acetatos (Hidalgo 2003, Ribéreau-Gayon et al. 1998).

Durante las primeras 24 horas de anaerobiosis, el total de alcoholes disminuyen, en particular el 1-butanol y 2-feniletanol. Luego de 1 a 6 días de anaerobiosis, se observa que los alcoholes totales aumentan, principalmente en las formas libres odorantes, lo cual se debe a la ruptura de los enlaces de las formas combinada. Además, el alcohol isopentilo cuando esta acetilado, aumenta en anaerobiosis, pudiendo ser uno de los compuestos característicos de este tipo de vinificación (Tesniere et al., 1989).

El tiempo de anaerobiosis en bayas del cv. Cariñena, presenta un efecto significativo en el aumento de todos los terpenos, principalmente 3,7-dimetil-1,5-octaien-3,7-diol, dado que no está presente en uvas frescas pero si en sus vinos elaborados por maceración carbónica (Tesniere et al., 1989). Resultados similares fueron obtenido en los vinos de Moscatel de Frontignan elaborados por maceración carbónico, en un ensayo realizado por Bitteur et al. (1996), donde se reportan mayores contenidos de terpenos libres respecto a la uva y a los vinos de esta variedad elaborados de forma tradicional.

A medida que se incrementa la anaerobiosis los ésteres se incrementan de forma regular, principalmente los ésteres de etilo, mientras que en baya prácticamente no se detectan. La concentración de los ésteres, como el dietil succinato y cinamato de etilo, es mayor cuando hay presencia de alcohol en el medio. El dietil succinato se encuentra luego de 8 días de anaerobiosis. El cinamato de etilo contribuye a la diferenciación aromática de los vinos de maceración carbónica respecto a una vinificación tradicional (Tesniere et al. 1989, Bitteur et al. 1996).

Como aromas defectuosos, se señala la posible aparición de aromas herbáceos provenientes de compuestos C6 de los escobajos encubados, así como aromas producidos por la formación de sulfuro de hidrógeno derivados de la reducción de compuestos azufrados de la vendimia (Hidalgo, 2003). Por otra parte, Bitteur et al. (1996) y Tesniere et al. (1989) observaron que las bayas sometidas a anaerobiosis presentan menor concentración de compuestos C6. Estos autores explican que la disminución del oxígeno intracelular limitan las oxidaciones de los lípidos, tales como el ácido linoleico y linolénico, precursores de dichos compuestos.

## **1.6. HIPÓTESIS, OBJETIVOS Y RESULTADOS ESPERADOS DEL PROYECTO**

### **1.6.1. Hipótesis**

Como hipótesis general se plantea que existe un efecto de las técnicas de vinificación empleadas (maceración pre-fermentativa en frío, maceración pre-fermentativa en caliente y maceración carbónica) que determina un incremento en la composición polifenólica de los vinos y su color, tanto durante el proceso de maceración como su conservación.

Las hipótesis específicas fueron:

- Los compuestos fenólicos se extraen de forma diferencial según el tratamiento evaluado, determinando diferencias en la intensidad colorante y los parámetros cromáticos, y por tanto, en el tipo de vino a elaborar.
- El perfil de antocianos, y los contenidos de polifenoles totales, catequinas, proantocianidinas, y parámetros cromáticos del vino son característicos del proceso de elaboración determinando su conservación y crianza.
- El tipo de vinificación determina las características visuales, olfativas y gustativas del vino, contribuyendo a su diferenciación y tipicidad.

### **1.6.2. Objetivos**

El objetivo general de esta investigación fue determinar el efecto de tres técnicas de vinificación alternativas a la convencional (maceración pre-fermentativa en frío, maceración pre-fermentativa en caliente y maceración carbónica) sobre el contenido de polifenoles de los vinos y su color, a lo largo del proceso de maceración y durante la conservación.

Los objetivos específicos planteados fueron:

- Estudiar la cinética de extracción de polifenoles totales y antocianos, así como también la evolución de la intensidad colorante y los parámetros cromáticos, durante los diferentes tipos de maceración.

- Evaluar los contenidos de polifenoles totales, antocianos, catequinas, proantocianidinas, y parámetros cromáticos de los vinos obtenidos con cada técnica, al descube y durante su conservación (3 y 6 meses).
- Determinar las características visuales, olfativas y gustativas de los vinos al descube y durante su conservación (3 y 6 meses), desde el punto de vista sensorial.

### **1.6.3. Resultados esperados**

Como resultado general se espera que la información generada permita una difusión y aplicación racional de estas tecnologías en el sector, de forma de ajustar la vinificación de acuerdo al potencial polifenólico de las uvas, el estado sanitario de las mismas y el tipo de vino que se desea elaborar.

De forma específica, los resultados esperados son:

- Que el conocimiento de la cinética de extracción de los compuestos fenólicos y su impacto sobre el color permita tomar decisiones sobre la técnica de vinificación alternativa a implementar.
- Que la determinación del efecto de la técnica de vinificación sobre la composición del vino joven y su evolución durante la conservación permita su aplicación de acuerdo al estilo de vino a elaborar.
- Que la caracterización sensorial de los vinos producidos con cada técnica de vinificación permita decidir el vino a elaborar de acuerdo a las preferencias del consumidor.

## **2. MATERIALES Y MÉTODOS**

Esta investigación se llevó a cabo durante los años 2010, 2011 y 2012, realizando un ensayo por año. Los tratamientos evaluados en cada ensayo, fueron ajustados en relación a los resultados obtenidos en el año previo (Figura 3).

El año 2010 fue tomado como ensayo preliminar en donde se evaluaron las técnicas de maceración pre-fermentativa en frío de siete días (MF), maceración post-fermentativa en caliente de 12 h a temperaturas entre 40-45 °C (MPostC) y maceración carbónica con duración de 14 y 21 días (CA1 y CA2 respectivamente) comparadas con una vinificación tradicional (MT), que fue utilizada como testigo. La maceración fermentativa fue de 7 días para todos los tratamientos excepto los de maceración carbónica, en donde los mostos fermentaron en ausencia de hollejos y semillas.

En base a los resultados obtenido en el ensayo preliminar, se diseñó un nuevo ensayo para el año 2011 en el cual se disminuyeron los días de maceración pre-fermentativa en frío de 7 a 5 (MF), se sustituyó el tratamiento de maceración post-fermentativa en caliente por un tratamiento de maceración pre-fermentativa en caliente de 6 h a temperaturas entre 60-65 °C (MC) y se aumentó a 30 días la maceración carbónica (CA). La maceración fermentativa tuvo una duración de 8 días, excepto para el tratamiento de maceración carbónica, en donde los mostos fermentaron en ausencia de hollejos y semillas.

En el ensayo realizado en el año 2012 se modificó únicamente el tratamiento de maceración carbónica (CA), en donde se decidió realizar una maceración en ambiente anaerobio durante 15 días seguida de una maceración fermentativa de 8 días.

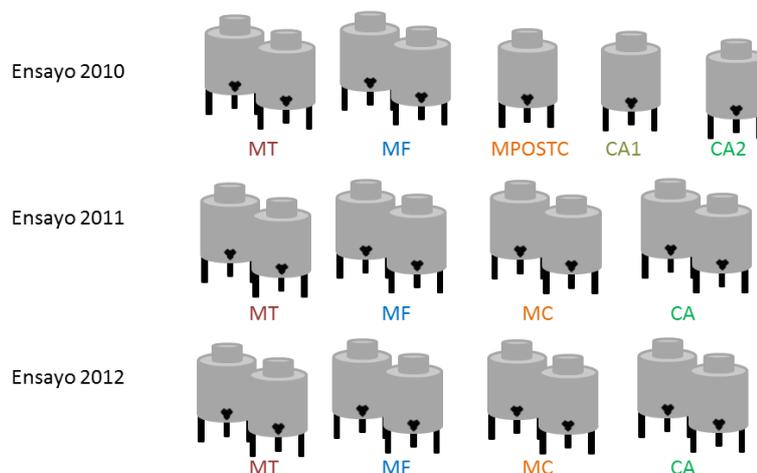


Figura 3. Resumen de los ensayos realizados y tratamientos evaluados por ensayo. MT es Maceración tradicional, MF es Maceración pre-fermentativa en frío, MPostC es Maceración post-fermentativa en caliente, MC es Maceración pre-fermentativa en caliente, CA1 es Maceración carbónica de 14 días, CA2 es Maceración carbónica de 21 días, CA es Maceración carbónica.

## 2.1. ENSAYO 2010

El ensayo se realizó sobre uvas del cv. Tannat (*Vitis vinifera* L.) de un viñedo comercial ubicado en la zona de Canelón Chico, Canelones. La uva cosechada fue trasladada a la bodega de la Escuela Superior de Vitivinicultura “Pte. Tomás Berreta” (El Colorado, Canelones) donde se procesó y se distribuyó entre los distintos tratamientos.

### 2.1.1. Determinación de la composición de la uva

La cosecha se realizó el 17 de marzo del 2010 en madurez tecnológica de las uvas, y fue determinada a través del seguimiento del contenido de azúcares, la acidez total y el pH de las bayas, analizados según la metodología propuesta por OIV (2009). Se determinó el potencial polifenólico de la uva, de acuerdo al método propuesto por Glories y Augustín (1993), analizando antocianos según Ribéreau-Gayon y Stonestreet (1965) y A280 nm según Ribéreau-Gayon (1970).

Estos análisis se determinaron sobre un muestreo de 500 bayas según la metodología propuesta por Carbonneau et al. (1991), tomando grupo de bayas de 3 a 5 granos de diferentes racimos y partes del racimo, en forma aleatoria dentro del viñedo. El muestreo se realizó por duplicado.

Del total de bayas de la muestra, la mitad se utilizó para calcular los índices de Glories y Augustin (1993) con modificaciones según González-Neves et al. (2004b) 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)
- % de taninos de hollejos (dpell%)
- % de taninos de semilla (Mp%)

Los análisis del potencial fenólico se realizaron a partir de uvas procesadas con licuadora Phillips de 600 W y 3 velocidades (China). Las determinaciones espectrofotométricas se realizaron utilizando un espectrofotómetro Shimadzu UV-visible mini 1240 (Tokio, Japón) empleando celdas de cuarzo de 1 cm de recorrido óptico para medir A280 y de vidrio de 1 cm de recorrido óptico para antocianos.

Las determinaciones analíticas se realizaron por duplicado.

Con las restantes 250 bayas se determinó por duplicado el peso medio de la baya, utilizando una balanza Precisa BJ 410 C (Suiza) y las variables de composición general: acidez total, pH y azúcares. Estas determinaciones se realizaron en el jugo obtenido con un extractor de jugo Phillips HR 1854 (China). Los contenidos de azúcares se determinaron usando un refractómetro Atago MasterTA (Tokio, Japón); el pH se registró con pH-metro Orion 410A (EE.UU.).

### **2.1.2. Cosecha de la uva y encubado**

La uva se cosechó en las primeras horas de la mañana, en cajones de plástico de 20 Kg y en bodega, se distribuyó entre los distintos tratamientos.

Se encubó 60 Kg de uva por tanque , de los cuales dos fueron vinificados por maceración pre-fermentativa en frío (MF), uno por maceración post-fermentativa en caliente (MPostC), un por maceración carbónica de 14 días (CA1), uno por maceración carbónica de 21 días (CA2) y dos por vinificación tradicional (MT) (Figura 3). La uva pesada correspondientes a los tratamientos MF, MPostC y MT se procesó con una descobajadora-moledora Heilbronn (AMOS, Italia) y encubó en los recipientes de acero inoxidable de 100 l de capacidad para realizar las vinificaciones. Los racimos correspondientes a los tratamientos CA1 y CA2 se encubaron sin descobajar ni estrujar.

Las dosis de anhídrido sulfuroso (Bass, Alemania) fue de 5 g/hl y 20 g/hl de levadura seca activa *Saccharomyces cerevisiae* LWUY4 (DMS, Chile). En las vinificaciones por MF las levaduras se agregaron luego al finalizar el tratamiento pre-fermentativo de frío.

### **2.1.3. Tratamientos**

Los tanques vinificados por MF se encubaron, se adicionó anhídrido sulfuroso y se llevaron a cámara de frío durante siete días, con temperatura contralada entre 5 y 10°C. Posteriormente, la temperatura del mosto se elevó a 20 °C, momento en el cual se inoculó con levaduras seleccionada y se sometió a una maceración en presencia de hollejos y fermentación alcohólica durante 7 días.

Al mosto del tratamiento MPostC se le adicionó anhídrido sulfuroso y se inoculó con levaduras seleccionadas realizando una maceración fermentativa de 7 días a temperatura ambiente. Posteriormente, se elevó la temperatura del vino a 40-

45 °C durante 12 horas utilizando un intercambiador de placas sumergido dentro del mosto y agitando mediante bazuqueos con el fin de homogeneizar el medio.

Los racimos enteros se encubaron en los tanques y se sometieron a una atmósfera saturada en CO<sub>2</sub> durante un periodo de 14 días para el tratamiento CA1 y 21 días para el tratamiento CA2, a una temperatura media de 26 °C. Luego, los racimos se prensaron y el mosto fermentó en ausencia de orujos. Al mosto resultante se le adicionó anhídrido sulfuroso y se inoculó con levaduras seleccionadas para realizar la fermentación alcohólica.

La vinificación por MT fue utilizado como testigo. Una vez obtenido el mosto, se le adicionó anhídrido sulfuroso y se inoculó con levaduras seleccionada. El mosto se sometió a una maceración de 7 días a temperatura ambiente, luego de lo cual, los vinos se separaron de los orujos.

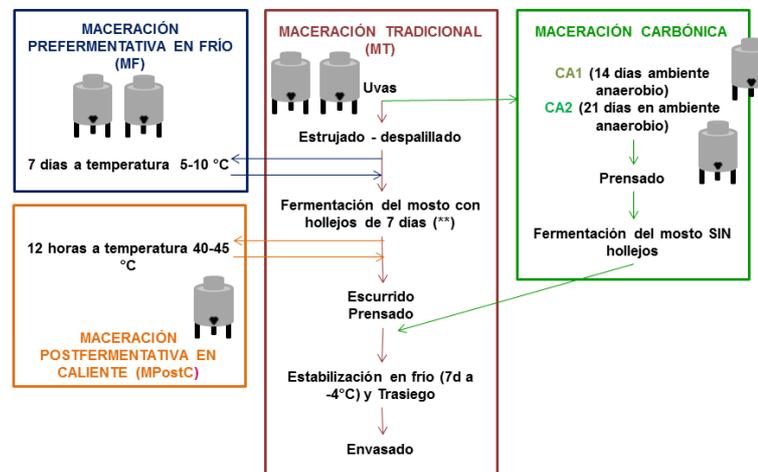


Figura 4. Tratamientos evaluados durante el ensayo 2010. MT es Maceración tradicional, MF es Maceración pre-fermentativa en frío, MPostC es Maceración posfermentativa en caliente, CA1 es Maceración carbónica de 14 días, CA2 es Maceración carbónica de 21 días.

En el transcurso de las vinificaciones se efectuaron manualmente operaciones de remontaje con baldes de 15 L de capacidad. La frecuencia e intensidad de los remontajes se efectuó teniendo en cuenta la etapa del proceso de vinificación en que

se encontrara cada tratamiento. Durante la etapa pre-fermentativa se realizaron bazuqueos (pigeage) de los mostos. Los remontajes se comenzaron una vez que se sembró la levadura y fueron seguidos de bazuqueos, con el fin de uniformizar el mosto/vino durante la maceración y desagregar el sombrero de los hollejos formados durante la fermentación.

#### **2.1.4. Seguimiento de la cinética de fermentación**

Las temperaturas de fermentación se controlaron entre los 20 y 26 °C. Dos veces al día, luego del primer balde de remontaje se registró las medidas de densidad y temperatura del mosto/vino de cada tanque, empleando un mostímetro Dujardin-Salleron (Francia) y un termómetro.

#### **2.1.5. Composición fenólica del mosto/vino durante la vinificación**

El mosto/vino se analizó por duplicado desde la molienda hasta el descube. Se extrajo una muestra por recipiente cada 24 horas, luego de homogeneizar el contenido mediante remontajes.

Previo al análisis, los mostos se descarbonataron cinco minutos utilizando una bomba de vacío y se centrifugaron Rotofix (EE.UU) a 3500 rpm durante cinco minutos. Durante la maceración se determinó contenido de fenoles totales (IPT) y antocianos.

Los polifenoles totales se estimaron a través de medidas de la absorbancia a 280 nm (Ribéreau-Gayon, 1970). Los antocianos totales se determinaron por el método de Ribéreau-Gayon y Stonestreet (1965). Las medidas se realizaron con un espectrofotómetro SHIMADZU, UVmini-1240, empleando celdas de cuarzo de 1 cm de recorrido óptico para medir A280 y de vidrio de 1 cm. de recorrido óptico para antocianos.

### **2.1.6. Prensado**

Al finalizar la maceración, se realizó el prensado con una prensa manual de acero inoxidable. Se unificó el vino de gota con el vino de prensa, siendo conservados en recipientes de vidrio de 10 L de capacidad.

### **2.1.7. Análisis físico-químico de los vinos**

Dos muestras de cada vino se analizaron al descube y a los tres y seis meses del final de la fermentación alcohólica. Se determinaron los parámetros enológicos clásicos (alcohol, acidez total, pH, anhídrido sulfuroso total y libre, acidez volátil) empleando los métodos propuestos por OIV (1990).

La composición fenólica de los vinos se determinó a través de medidas de la absorbancia a 280 nm (Ribéreau-Gayon, 1970). Los antocianos totales se determinaron por el método de Ribéreau-Gayon y Stonestreet (1965).

El color se evaluó por el método de Glories (1984a y b) determinando la intensidad colorante (IC), tonalidad (TON) y porcentajes de amarillo (%AM), rojo (%RO) y azul (%AZ).

Las medidas se realizaron con un espectrofotómetro SHIMADZU, UVmini-1240, empleando celdas de cuarzo de un centímetro de recorrido óptico para media A280, de vidrio de un centímetro de recorrido óptico para medir antocianos y de vidrio de un milímetro de recorrido óptico para determinar los parámetros cromáticos.

### **2.1.8. Análisis sensorial de los vinos**

Se realizó una evaluación de las características visuales, olfativas y gustativas de los vinos a través de un Análisis Sensorial Descriptivo Cualitativo los seis meses, por un panel de 12 jurados expertos, trabajando sobre muestras anónimas.

## **2.2. ENSAYO 2011**

El ensayo se realizó sobre uvas del cv. Tannat (*Vitis vinifera* L.) de un viñedo ubicado en la zona de El Colorado, Canelones. La uva cosechada fue trasladada a la bodega de la Escuela Superior de Vitivinicultura “Pte. Tomás Berreta” (El Colorado, Canelones) donde se procesó y se distribuyó entre los distintos tratamientos.

### **2.2.1. Determinación de la composición de la uva**

Las uvas fueron cosechadas el 23 de marzo de 2011 en madurez tecnológica. La fecha de cosecha fue determinada a través del seguimiento de la composición general de la baya así como de los índices de Glories y Augustin (1993), con la metodología descrita para el ensayo correspondiente al año 2010.

### **2.2.2. Cosecha de la uva y encubado**

El transporte, las operaciones de despalillado y estrujado, el encubado, el sulfitado y levadurado de la uva se realizaron tal cual fue descrito para el ensayo correspondiente al año 2010. La diferencia más relevante respecto al ensayo anterior es que en el ensayo 2011 se encubaron 70 Kg de uva por tanque realizando dos vinificaciones por tratamiento.

### 2.2.3. Diseño experimental y tratamientos

El diseño experimental fue completamente al azar, con dos repeticiones por tratamiento, donde la unidad experimental consistió en un tanque de acero inoxidable de 100 l de capacidad conteniendo el mosto correspondiente a la molienda de 70 kg de uva. Los tratamientos evaluados en este ensayo fueron maceración pre-fermentativa en frío (MF), maceración pre-fermentativa en caliente (MC), maceración carbónica (CA) y vinificación tradicional (MT) (Figura 5).

Luego del encubado, se adicionó anhídrido sulfuroso a los tanques vinificados por MF y se llevaron a cámara de frío durante 5 días, con temperatura controlada entre los 5 y los 10°C. Posteriormente, la temperatura se elevó hasta 20 °C, momento en el cual los mostos se inocularon con levaduras seleccionadas y se sometieron a una maceración fermentativa durante ocho días.

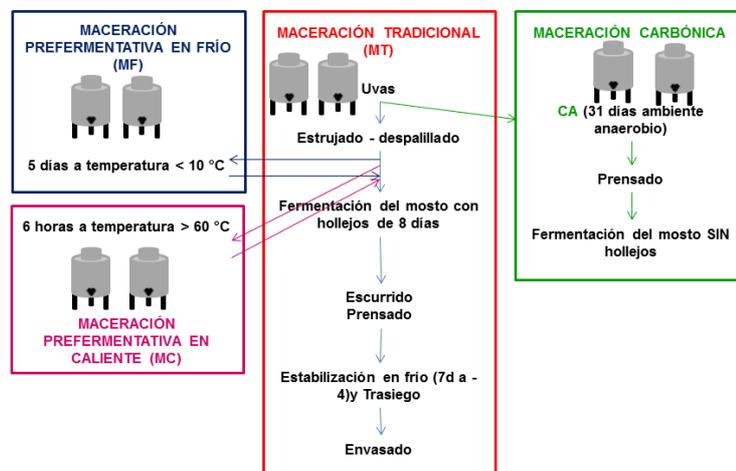


Figura 5. Tratamientos evaluados durante el ensayo 2011. MT es Maceración tradicional, MF es Maceración pre-fermentativa en frío, MC es Maceración pre-fermentativa en caliente y CA es Maceración carbónica.

La vinificación por MC consistió en la aplicación, previa a la fermentación alcohólica, de temperaturas comprendidas entre 60-65 °C durante seis horas, utilizando un intercambiador de placas sumergido dentro del mosto en cada tanque,

agitando periódicamente de manera manual para homogeneizar. Luego, se disminuyó la temperatura a 20 °C, se le adicionó anhídrido sulfuroso y se inoculó con levaduras seleccionadas, realizando ocho días de maceración con fermentación alcohólica.

Luego del encubado, los tanques correspondientes al tratamiento CA fueron saturados con CO<sub>2</sub> y cerrados herméticamente. Los racimos se mantuvieron durante 30 días en un ambiente anaerobio a temperatura entre 20-25 °C al que se le realizaron suministros diarios de CO<sub>2</sub>. El mosto proveniente del aplastamiento de los racimos fue descartado semanalmente. A los 30 días del encubado los racimos fueron despalillados, estrujados y prensados. El jugo de gota realizó la fermentación alcohólica en ausencia de sus hollejos.

La vinificación por MT (maceración fermentativa de ocho días) fue utilizado como testigo.

Para homogeneizar el mosto se realizaron bazuqueos y remontajes dependiendo del tratamiento y la etapa de la maceración en que se encontraba, de acuerdo a lo realizado para el ensayo anterior.

#### **2.2.4. Seguimiento de la cinética de fermentación**

Los mostos fueron analizados por duplicado desde la molienda hasta el descube, tal como fue descrito en el ítem 2.1.4.

#### **2.2.5. Composición fenólica del mosto/vino durante la vinificación**

El mosto/vino se analizó desde la molienda hasta el descube, determinando contenido de fenoles totales (IPT) y antocianos, según la metodología descrita en el ensayo anterior.

A su vez, sobre las mismas muestras se determinó color por el método de Glories (1984a y b) determinando la intensidad colorante (IC), tonalidad (TON) y porcentajes de amarillo (%AM), rojo (%RO) y azul (%AZ) y a través del sistema propuesto por Bakker et al. (1997) conocido como CIELAB (Commission Internationale de l'Eclairage) calculando las variables  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  de acuerdo con lo propuesto por Ayala et al. (1997).

#### **2.2.6. Prensado**

Al finalizar la maceración, se procedió al prensado en donde se unió el vino de gota con el de prensa, siendo conservados en recipientes de vidrio de 10 L de capacidad.

#### **2.2.7. Análisis físico-químico de los vinos**

Se determinaron los parámetros enológicos clásicos según OIV. (2009), el índice de fenoles totales y el contenido de antocianos al igual que en los vinos elaborados 2010.

Las catequinas se determinaron a través del método de Swain y Hillis (1959) y las proantocianidinas por hidrólisis ácida (Ribéreau-Gayon y Stonestreet, 1965). El color se evaluó por el método de Glories (1984a y b) y CIELAB.

#### **2.2.8. Análisis sensorial de los vinos**

Se realizó una evaluación de las características sensoriales del vino a través de un Análisis Sensorial Descriptivo Cualitativo los seis meses, con la metodología y el panel de degustación especificado para la investigación realizada en el año anterior.

### **2.2.9. Análisis estadístico**

Las diferencias estadísticas entre los tratamientos fueron determinadas aplicando análisis de varianza y prueba de comparación de medias por Test de Tukey ( $p < 0.05$ ) a los resultados obtenidos.

## **2.3. ENSAYO 2012**

El ensayo se realizó sobre uvas del cv. Tannat (*Vitis vinifera* L.) de un mismo viñedo utilizado para el ensayo correspondiente al año 2011. La uva cosechada fue trasladada a la bodega de la Escuela Superior de Vitivinicultura “Pte. Tomás Berreta” (El Colorado, Canelones) donde se procesó y se distribuyó entre los distintos tratamientos.

### **2.3.1. Determinación de la composición de la uva**

La uva se cosecho el 25 de marzo de 2012 en madurez tecnológica de las uvas la cual se determinó siguiendo la metodología descripta en los ensayos precedentes.

### **2.3.2. Cosecha de la uva y encubado**

El manejo de la uva cosecha así como su procesamiento en bodega fue descripto en el ítem 2.2.2., correspondiente a la Cosecha y encubado del ensayo realizado para la vendimia 2011

### **2.3.3. Diseño experimental y tratamientos**

El diseño experimental fue completamente al azar, con dos repeticiones por tratamiento. Los tratamientos evaluados en este ensayo fueron maceración pre-fermentativa en frío (MF), maceración pre-fermentativa en caliente (MC), maceración carbónica (CA) y vinificación tradicional (MT) (Figura 6).

Para el ensayo realizado en este año, se repitieron los tratamientos MF, MC y MT siguiendo los mismos protocolos utilizados para los ensayos 2011, que fueron descriptos anteriormente.

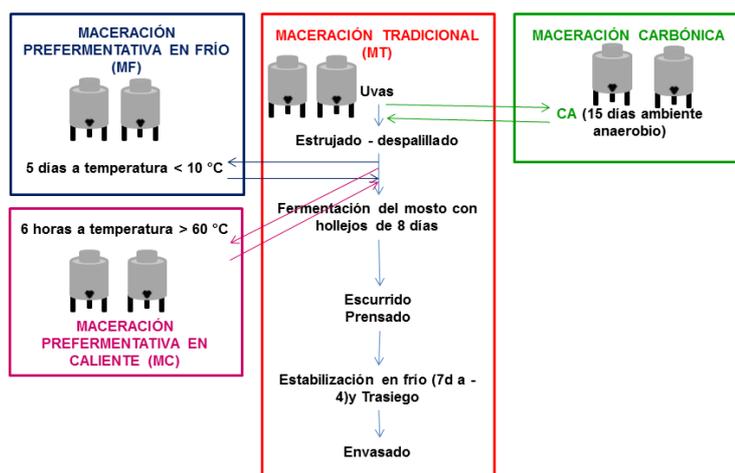


Figura 6. Tratamientos evaluados durante el ensayo 2012. MT es Maceración tradicional, MF es Maceración pre-fermentativa en frío, MC es Maceración pre-fermentativa en caliente y CA es Maceración carbónica.

Los tanques correspondientes al tratamiento CA fueron saturados con CO<sub>2</sub> luego del encubado y cerrados herméticamente. Los racimos se mantuvieron durante 15 días en un ambiente anaerobio a temperatura entre 20-25 °C (temperatura ambiente) al que se le realizaron suministros diarios de CO<sub>2</sub>. El mosto proveniente del aplastamiento de los racimos se descartó semanalmente. A los 15 días del encubado los racimos despalillaron y estrujaron. Al mosto se le adicionó anhídrido sulfuroso e inoculó levadura seca activa, realizando una maceración fermentativa por ocho días.

#### **2.3.4. Seguimiento de la cinética de fermentación, composición durante la vinificación, prensado, análisis químico y sensorial de los vinos**

Los mostos/vinos fueron analizados por duplicado tal como fue descripto anteriormente.

### **2.3.5. Análisis estadístico**

Las diferencias estadísticas entre los tratamientos fueron determinadas aplicando análisis de varianza y prueba de comparación de medias (Tukey,  $p < 0.05$ ).

### **3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

#### **3.1. ENSAYO 2010**

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

Al momento de la cosecha, la uva presento valores de concentración de azúcares por debajo de los esperados para la variedad en años de adecuadas condiciones climáticas para la maduración, determinando un bajo contenido de alcohol en el vino (Cuadro 1). Se observó una elevada acidez total con pH adecuados para la cosecha, relación ampliamente reportada (Ferrer et al. 2011, González-Neves et al. 2012 y 2004b), característica del comportamiento de esta variedad en nuestras condiciones de cultivo.

Cuadro 1. Composición de la uva en madurez tecnológica

Azúcar (g/L)	Alcohol Probable (% v/v)	Acidez total (gH <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> /L)	pH
203,4	11,3	5,01	3,39

La uva presentó un bajo contenido de polifenoles y antocianos totales, con contenidos elevados de antocianos extraíbles, determinando un índice de extractibilidad de los mismos de 35 %, lo cual implica una alta extracción de antocianos (Cuadro 2). Se observó también un bajo porcentaje de taninos de hollejos en relación a los taninos de semillas, los cuales son menos polimerizados y más astringentes. Los resultados obtenidos para este año no son representativos del comportamiento general de la variedad Tannat de acuerdo a los resultados reportados por González-Neves et al. (2012 y 2004b) en años anteriores.

Cuadro 2. Composición fenólica de la uva en madurez tecnológica

I.P.T.	Antocianos Totales (ApH1)	Antocianos Extraíbles (ApH3,2)	EA (%)	dpell	dTpep	dpell (%)	Mp (%)
73,8	1443	924	35,9	32,1	43,3	42,6	57,4

IPT es índice de polifenoles totales, EA es índice de extractibilidad de antocianos, dpell es contenido de taninos de hollejos, dTpep es contenido de taninos de semillas, Mp es contenido de taninos de hollejos expresado en porcentaje.

### 3.1.2. Desarrollo de la fermentación

La fermentación alcohólica se llevó a cabo a temperaturas entre los 20 y 26 °C para todos los tratamientos evaluados (Figura 7 y 8) tal como fue establecido, desarrollándose sin paradas de fermentación (Figura 9 y 10). La temperatura de maceración determina la extracción de compuestos de los hollejos (Ribéreau-Gayon et al., 1998). El aumento de la temperatura conjuntamente con el incremento en el contenido de alcohol durante la fermentación, son factores que contribuyen a degradar los tejidos del hollejo y de las pepitas, y por tanto, capaces de incrementar la extracción de las partes sólidas de la uva por el mosto (Sacchi et al., 2005).

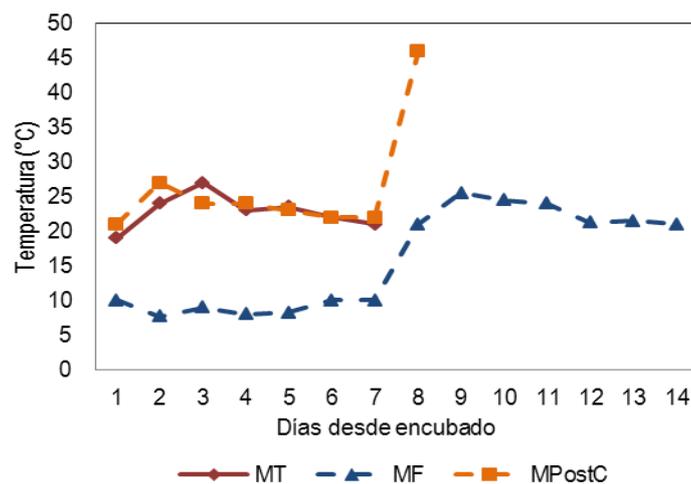


Figura 7. Evolución de la temperatura (°C) desde el encubado hasta fin de fermentación alcohólica para los tratamientos MT, MF y MPostC. MT es Maceración tradicional; MF es Maceración pre-fermentativa en frío y MPostC es Maceración post-fermentativa en caliente.

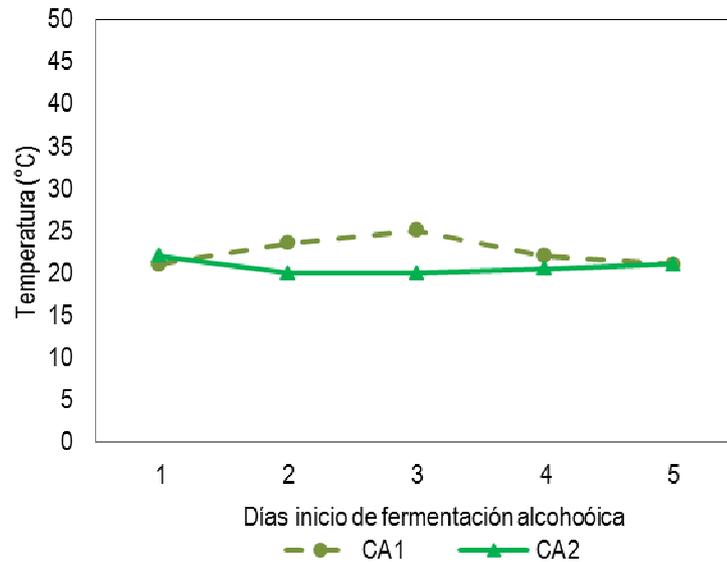


Figura 8. Evolución de la temperatura (°C) desde el inicio hasta fin de fermentación alcohólica para los tratamientos CA1 y CA2. CA1 es Maceración carbónica de 14 días; CA2 es Maceración carbónica de 21 días.

Las temperaturas de los mostos MF se mantuvieron siete días entre 5 y 10 °C, período en el cual se observó una pequeña actividad fermentativa, disminuyendo la densidad del mosto de 1089 a 1084 g/l. Según Cuénat et al. (1996) y Casassa et al. (2008 y 2007) la maceración pre-fermentativa en frío favorece el desarrollo de levaduras criófilas indígenas previo a la fermentación alcohólica, consumiendo factores de crecimiento y produciendo metabolitos antagónicos que pueden dificultar el desarrollo de la levadura seca activa inoculada. La fermentación alcohólica llevada a cabo por levaduras seleccionadas no se vio afectada al prolongar la fase pre-fermentativa (Figura 9). Es posible que el desarrollo de levaduras nativas en la etapa pre-fermentativa, contribuya a la liberación de ciertos aromas, especialmente ésteres volátiles, que aporta mayor complejidad a los vinos obtenidos por ésta técnica, como una ventaja adicional (Casassa et al. 2008 y 2007).

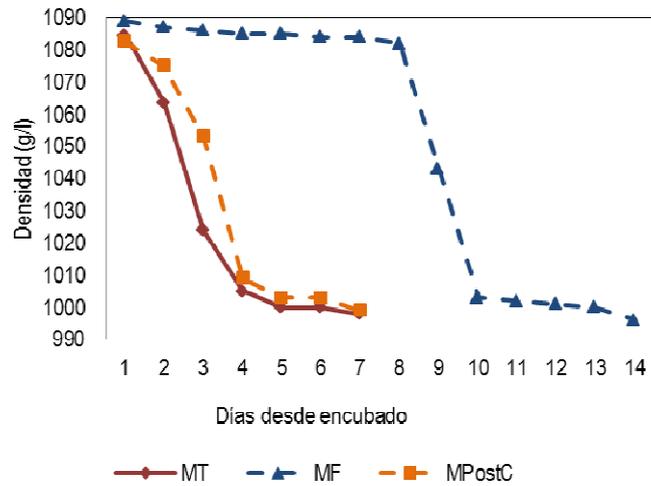


Figura 9. Evolución de la densidad (g/l) desde el encubado hasta fin de fermentación alcohólica para los tratamientos MT, MF y MPostC. MT es Maceración tradicional, MF es Maceración pre-fermentativa en frío y MPostC es Maceración post-fermentativa en caliente.

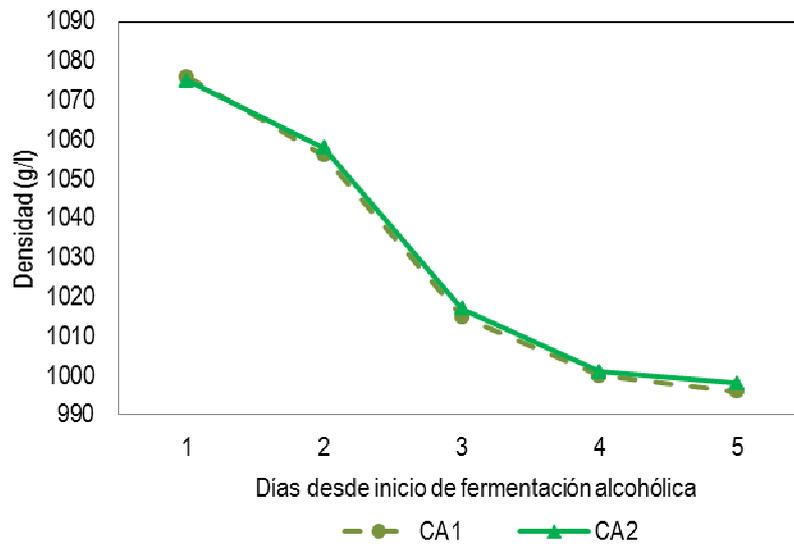


Figura 10. Evolución de la densidad (g/l) desde el inicio hasta fin de fermentación alcohólica para los tratamientos CA1 y CA2. CA1 es Maceración carbónica de 14 días y CA2 es Maceración carbónica de 21 días.

Luego de siete días de maceración fermentativa, el tratamiento MPostC fue sometido 12 horas a temperaturas comprendidas entre 40-45 °C (Figura 7). Los mostos de este tratamiento mostraron una cinética fermentativa similar a la del MT,

con un leve retraso en el consumo de azúcares reductores, pero sin diferenciarse sustancialmente (Figura 9). Es importante destacar que en este tratamiento la temperatura del mosto-vino se eleva en la etapa post-fermentativa y que, por tanto, la fermentación no se ve afectada.

Los mostos yema obtenidos luego del prensado de las uvas de los tratamientos CA1 y CA2 fueron sometidos a una fermentación alcohólica en ausencia de partes sólidas. La temperatura de fermentación se mantuvo entre los 20 y 25 °C (Figura 8), observándose diferencias entre los tratamientos dados por los momentos en que la fermentación fue llevada a cabo. Para ambos tratamientos, la fermentación alcohólica se efectuó en cinco días, sin diferencias en la cinética de fermentación (Figura 10). Durante la maceración carbónica, desde la pruina del hollejo de las bayas, se solubilizan activadores del crecimiento de las levaduras, principalmente el ácido oleanólico, los cuales quedan a disposición de las mismas desde el inicio de la fermentación alcohólica (Flanzy et al., 1987). Asimismo, la posible degradación de proteínas a péptidos fácilmente asimilables, favorecería el desarrollo de levaduras a la vez que podría contribuir al desarrollo de aromas característicos de este tipo de elaboración (Casassa et al. 2007, Casassa y Catania 2006). Los mostos que realizaron maceración carbónica comenzaron la fermentación alcohólica con una densidades menores a los demás tratamientos evaluados, lo cual podría deberse a la formación de alcohol en las bayas durante el metabolismo anaerobio. Durante la maceración carbónica, se forma entre 1–1.5 % v/v de etanol a partir del metabolismo del ácido málico, modificando la densidad del mosto sin alterar su concentración en azúcares (Flanzy et al., 1987).

### **3.1.3. Evolución del índice de polifenoles totales**

La extracción de polifenoles totales presentó diferencias entre los tratamientos evaluados (Figura 11 y 12).

Los mostos MT presentaron un aumento en el índice de polifenoles totales desde el encubado hasta el quinto día de maceración donde alcanzaron el valor máximo, con una disminución hacia fin de la fermentación alcohólica. El aumento de la extracción durante la etapa pre-fermentativa e inicios de la fermentación se debe a la disolución de compuestos hidrosolubles en el mosto, principalmente antocianos, en conjunto con un aumento del contenido de alcohol del medio y de la temperatura, factores que potencian la extracción de los taninos (Gordillo et al. 2010, Kennedy 2008, Ortega-Regules et al. 2008, Romero-Cascales et al. 2005a y b). Mientras que la re-fijación de las sustancias extraídas a diversos sólidos, y algunas reacciones químicas en las que participan (oxidaciones, degradaciones enzimáticas) ocasionan disminuciones de los compuestos fenólicos hacia fin de fermentación alcohólica (Boulton 2001, Docco et al., 1996).

El índice de fenoles totales de los mostos MF muestra una cinética de extracción desfasada respecto a los demás tratamientos debido a la baja temperatura del mosto y a la ausencia de alcohol en el medio (Figura 11), resultados que fueron explicados por Cuénat et al. (1996) y González-Neves et al. (2009). La combinación de estos factores de extracción produce una difusión selectiva de compuestos fenólicos solubles en medio acuoso y limita la extracción de compuestos solubles en medio hidroalcohólico, como los taninos. El alcohol y las bajas temperaturas intervienen rompiendo las estructuras celulares de los tejidos de la baya y solubilizando la capa lipídica de las semillas, acentuando la disolución de los constituyentes polifenólicos de la uva en el mosto (Casassa et al. 2015, Moreno-Pérez et al. 2013, Kennedy 2008). La extracción de polifenoles totales durante la etapa pre-fermentativa puede estar determinada por la temperatura de maceración y a la forma en que es suministrada (Heredía et al., 2010). González-Neves (2009) trabajando sobre mostos del cultivar Tannat en los que realizaron maceración pre-fermentativa entre 10 y 15 °C mediante la aplicación sucesiva de hielo seco, obteniendo una cinética de extracción de los compuestos fenólicos totales relentecida en relación a la maceración tradicional, pero creciente durante toda la maceración. La disminución de la temperatura mediante la aplicación de hielo seco se logra de

forma discontinua, presentando como ventaja la desorganización de las células de los hollejos al sublimarse con el mosto favoreciendo la extracción (Casassa et al., 2008). Resultados similares fueron obtenidos por Cuénat et al. (1996) trabajando con mostos de Pinot noir y maceración pre-fermentativa en frío a temperaturas inferiores a 15 °C. Heredia et al. (2010) reportaron una mayor extracción de polifenoles totales cuando la maceración pre-fermentativa en frío es realizada en una cámara de frío en relación a la disminución de la temperatura con hielo seco. Los mostos de esta investigación fueron enfriados en cámara de frío, donde la temperatura fue regulada con el objetivo de mantener al mosto a temperaturas comprendidas entre los 5 y 10 °C en forma continua. Sin embargo, los resultados obtenidos no concuerdan con los reportados por otros autores.

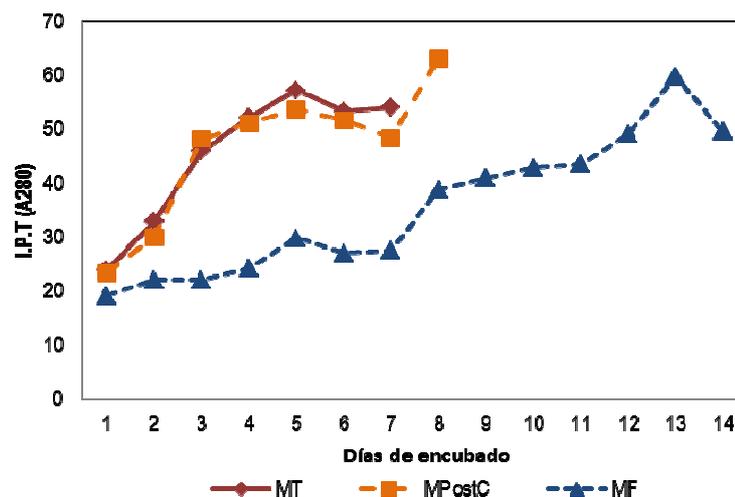


Figura 11. Evolución del índice de polifenoles totales durante la maceración para los tratamientos MT, MPostC y MF. MT es Maceración tradicional, MF es Maceración pre-fermentativa en frío, MPostC es Maceración post-fermentativa en caliente.

Los vinos obtenidos a partir de los tratamientos MPostC y MT presentaron una evolución del índice de polifenoles totales similar durante la maceración fermentativa. Al descube, luego del tratamiento térmico post-fermentativo, los vinos de MpostC presentaron un contenido de compuestos fenólicos considerablemente mayor a los obtenidos por maceración tradicional (MT). Un objetivo que se persigue con la aplicación de la técnica de maceración post-fermentativa en caliente consiste

en favorecer la extracción de taninos de semilla, por la acción conjunta del efecto disolvente del etanol presente en el medio y de la elevada temperatura (Sacchi et al., 2005, Boulton et al. 2002, Zimman et al. 2002).

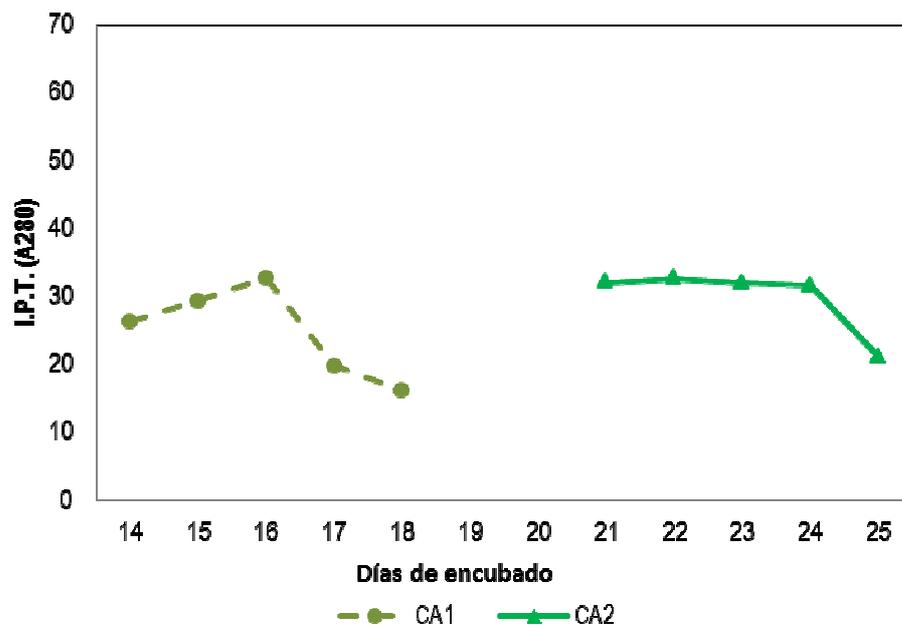


Figura 12. Evolución del índice de polifenoles totales durante la fermentación alcohólica en ausencia de hollejos de los tratamientos CA1 y CA2. CA1 es Maceración carbónica de 14 días y CA2 es Maceración carbónica de 21 días.

La cinética de extracción de compuestos fenólicos totales para los tratamientos CA1 y CA2 durante la fermentación se observa en la Figura 12. Dado que la fermentación del mosto se llevó a cabo en ausencia de partes sólidas, los mayores valores de polifenoles totales se observan al inicio de la fermentación alcohólica y disminuyen hacia fin de la misma. Los contenidos máximos de polifenoles totales obtenidos son sensiblemente menores a los obtenidos por los demás tratamientos evaluados. La ausencia de maceración durante la fermentación, determina que los fenoles presentes en el mosto sean los extraídos durante la maceración anaerobia (Tesniere y Flanzky 2011, Flanzky et al. 1987). Durante el metabolismo anaerobio, los contenidos en sustancias pécticas de las paredes celulares

de los hollejos disminuyen, ocasionando una pérdida de resistencia mecánica que está compensada por un aumento de la presión interna dado por la generación de CO<sub>2</sub>; lo que se manifiesta en una exudación sobre la superficie de la uva de pequeñas gotas inicialmente incoloras y transparentes, que luego se colorean de forma progresiva debido a la extracción de antocianos (Sacchi et al. 2005, Flanzy et al. 1990, Tesniere et al. 1994 y 1989). El incremento en la extracción de los compuestos fenólicos también se ve favorecido por la solubilización en presencia del alcohol proveniente tanto del metabolismo del ácido málico como de la fermentación del mosto originario de bayas aplastadas (Miller y Howell, 1989). Estos cambios ocasionan una cesión de compuestos fenólicos desde los hollejos hacia la pulpa, los cuales serán lo que estén presentes en el mosto yema que realizará la fermentación alcohólica. La difusión de compuestos fenólicos desde los hollejos hacia la pulpa aumenta con la temperatura y duración del metabolismo anaerobio, beneficiándose la extracción de antocianos en relación a los taninos (Flanzy et al. 1987). Los valores máximos de compuestos fenólicos obtenidos en los mostos CA1 y CA2 fueron similares entre sí, aunque la duración del metabolismo anaerobio fue superior en siete días para el tratamiento CA2. Sin embargo, en los resultados obtenidos al final de la fermentación alcohólica se observa mayor contenido de fenoles totales en los mostos del tratamiento CA2 en relación a CA1. Estos resultados sugieren que la duración de la maceración carbónica no aumenta la extracción de los compuestos fenólicos, pero sí modificaría su estabilidad. Es importante destacar que no solo la duración de la maceración carbónica es el factor determinante de la composición fenólica de los mostos, sino que la temperatura es fundamental para el desarrollo del metabolismo anaerobio, y dicho factor no fue registrado en este ensayo.

#### **3.1.4. Evolución del contenido de antocianos**

La evolución de los contenidos de antocianos en los mostos se observa en las Figuras 13 y 14.

Los mostos MT presentaron una extracción importante de antocianos en los primeros días, alcanzando una concentración máxima y disminuyendo posteriormente, lo que corresponde a lo mencionado por la bibliografía (Casassa y Harbertson 2014, González-Neves et al. 2009, Marais 2003a y b). Dicha disminución ocurre ya que los antocianos son oxidados, adsorbidos por las levaduras y microcristales de bitartrato de potasio durante el desarrollo de la fermentación alcohólica, re-fijados en las partes sólidas de la uva o combinados con otros compuestos presentes en el mosto, tal como es reportado por Harbertson et al. (2009), Cheynier et al. (2006), Medina et al. (2005), Somers y Evans (1979).

En los mostos MF, el valor máximo de antocianos se alcanzó al descube, si bien el mayor aumento se logró a los tres días de iniciada la maceración fermentativa incrementándose levemente hacia el descube. El máximo valor de antocianos obtenido fue menor al máximo registrado en los tratamientos MT y MPostC. Estos resultados no concuerdan con lo esperado, dado que la maceración pre-fermentativa en frío persigue la extracción prioritaria de estos compuestos (González-Neves et al. 2012, Gordillo et al. 2010, Gil-Muñoz et al. 2009, Koyama et al. 2007, Gómez-Míguez et al. 2006, Marais 2003a y b). De acuerdo a lo reportado en varias investigaciones, la baja temperatura durante la etapa pre-fermentativa determina una menor solubilización de los antocianos presentes en los hollejos, ocasionando un retraso en su extracción (Casassa et al. 2008, González-Neves et al. 2009). A su vez, el rápido incremento obtenido en la extracción de antocianos cuando el mosto fue llevado a temperatura ambiente y en conjunción con el proceso fermentativo, concuerda con las cinéticas de extracción de estos compuestos reportadas (Morata et al. 2005, Zamora 2003) y responden a un cambio en el medio de extracción (incremento de la temperatura y del contenido de alcohol) (Sacchi et al., 2005). La extracción anticipada de antocianos, resulta positiva desde el punto de vista de la estabilidad futura del color (Zamora, 2003). En coincidencia con la fermentación alcohólica se favorece la formación de vitisinas y piranoantocianos (Morata et al. 2005, Mateus et al. 2003a y b, Jones et al. 2003), los cuales son estables en el tiempo e insensibles al efecto del pH y la acción decolorante del SO<sub>2</sub>.

Se observó que las cinéticas de extracción de antocianos de los tratamientos MT y MPostC son similares, alcanzando los valores máximos al quinto día de maceración, para luego disminuir. El tratamiento MPostC presentó un menor contenido de antocianos al descube, luego del tratamiento térmico. El calentamiento busca optimizar la extracción de compuestos fenólicos, principalmente taninos, favoreciendo reacciones entre estos y los antocianos, lo que permite una mayor estabilidad del color del vino (Casassa et al. 2007, Zimman et al. 2002). Se observó un efecto positivo del calentamiento post-fermentativo sobre la extracción de fenoles totales como se discutió anteriormente, sin embargo, los contenidos de antocianos fueron sensiblemente afectados luego del tratamiento térmico. Resultados similares fueron obtenidos en ensayos en donde se registró la evolución de la intensidad colorante durante la maceración, no encontrando diferencias significativas entre el tratamiento post-fermentativo y el testigos (Casassa et al. 2007, Catania et al. 2006), ya que esta técnica de vinificación no modificó la cinética de extracción de los antocianos.

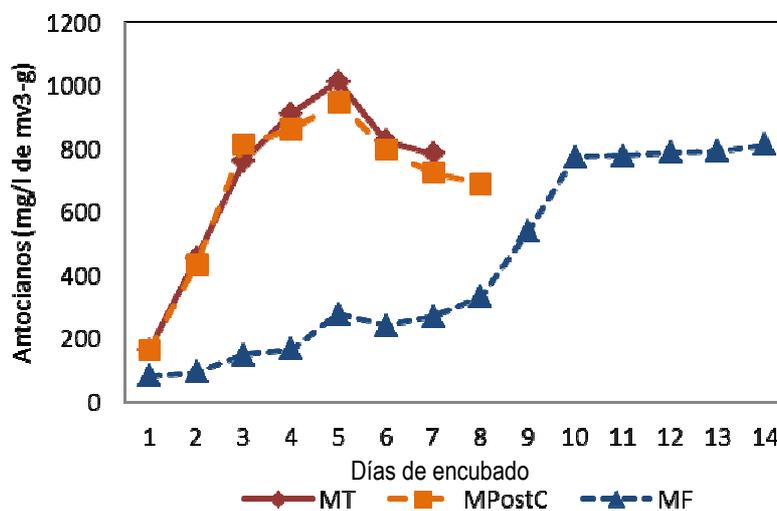


Figura 13. Evolución del contenido de antocianos durante la maceración para los tratamientos MT, MPostC y MF. MT es Maceración tradicional; MF es Maceración pre-fermentativa en frío; MPostC es Maceración post-fermentativa en caliente.

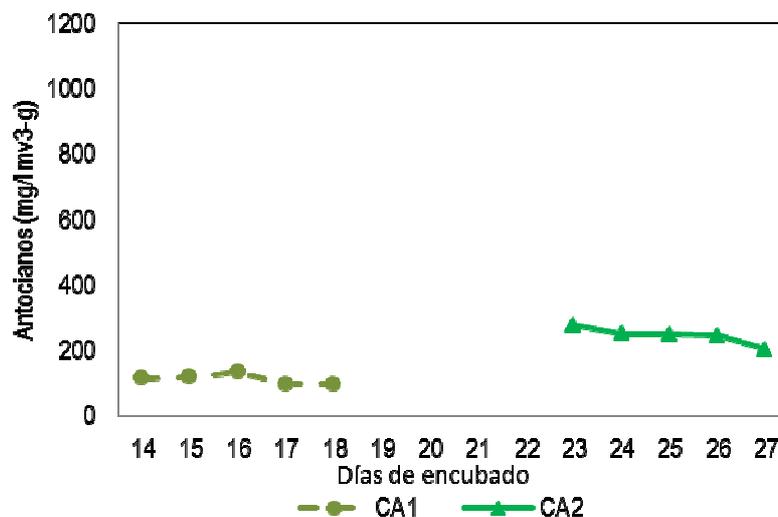


Figura 14. Evolución contenido de antocianos durante la fermentación alcohólica en ausencia de hollejos de los tratamientos CA1 y CA2. CA1 es Maceración carbónica de 14 días y CA2 es Maceración carbónica de 21 días.

La cinética de extracción de antocianos para los vinos elaborados por maceración carbónica se observa en el Figura 14. Durante la fermentación alcohólica, CA1 y CA2 presentaron menor contenido de antocianos respecto a los demás tratamientos evaluados. Los antocianos, al igual que el resto de compuestos, fueron extraídos de las distintas partes de la baya durante la maceración anaerobia. Los contenidos máximos de antocianos difirieron de acuerdo a la duración de la maceración carbónica, siendo los valores obtenidos superiores en el tratamiento CA2 (21 días de maceración carbónica) respecto a CA1 (14 días de maceración carbónica) (Grafico 10). Estos resultados concuerdan con lo observado por Flores-Ramírez et al. (2005) y Flanzky (2003) quienes plantean que la tasa de difusión de los antocianos está más relacionada con el período de tiempo en anaerobiosis que con su temperatura. Los autores plantean que la desorganización de las paredes celulares, en efecto conjunto con el aumento de la presión interna de la baya dado por la producción de CO<sub>2</sub>, promueve la cesión de estos compuestos desde las vacuolas de las células de los hollejos hacia la pulpa. A medida que la maceración carbónica avanza, la pulpa adquiere coloraciones rojizas debido a la acumulación de antocianos (Castillo-Sánchez et al. 2008, Flanzky et al. 2003, Gao et al. 1997). También se ha reportado que los antocianos observados al final del periodo de anaerobiosis se

encuentran bajo forma poco condensada, aumentando su tasa de combinación y formando principalmente complejos antocianos-taninos, a medida que aumenta el período de anaerobiosis (Flanzy et al., 1987). Si bien estos fenómenos fueron observados durante el desarrollo de la maceración carbónica, los resultados obtenidos coinciden con los reportados por Ramos et al. (2003) donde concluyen que los fenómenos de difusión de los antocianos en la pulpa son muy limitados. Durante la fermentación alcohólica, los contenidos de antocianos en los mostos de CA1 y CA2 disminuyeron. Al igual que en cualquier sistema de vinificación en ausencia de hollejos y semillas, los compuestos fenólicos extraídos, principalmente los antocianos, son altamente degradados durante las fermentaciones microbianas, determinando un menor contenido de dichos compuestos en el vino terminado, respecto al mosto obtenido luego de la maceración carbónica (Flanzy et al., 1987).

### **3.1.5. Composición físico-química de los vinos al descube**

Se observaron diferencias en la composición físico-química de los vinos debidas a la técnica de vinificación (Cuadro 3).

Para todos los tratamientos evaluados, los resultados obtenidos para el grado alcohólico constatan la homogeneidad de los lotes de uvas destinadas a los diferentes tratamientos, los bajos niveles de acidez volátil reflejando las buenas condiciones sanitarias en las que se realizó la vinificación y las concentraciones de azúcares residuales indican fermentaciones completas.

Los vinos elaborados por MF no mostraron diferencias sustanciales en el contenido de alcohol, la acidez total, el pH y el contenido de azúcares residuales respecto a los vinos correspondientes al tratamiento MT. Varias investigaciones han observado que la maceración pre-fermentativa en frío no modifica los valores analíticos de los parámetros enológicos clásicos del vino (Casassa et al. 2015, González-Neves et al. 2014, Favre 2012). Si bien algunos autores (Girard et al. 2001, Parenti et al. 2004) reportan un incremento del contenido alcohol al realizar una

maceración pre-fermentativa en frío, en este ensayo solo se registraron pequeñas diferencias no significativas. Se observó una mayor acidez volátil en los vinos MF respecto a los MT, lo cual podría estar relacionado al desarrollo de levaduras criófilas durante la etapa pre-fermentativa, como ya fue explicado.

Los vinos del tratamiento MPostC presentaron menor contenido de alcohol respecto al testigo, probablemente debido a su vaporización durante el aumento de la temperatura en la etapa post-fermentativa. No se registraron diferencias sustanciales en la acidez total, el pH y los azúcares residuales. Se observó un leve incremento en la acidez volátil de los vinos, si bien los valores se encuentran dentro de los límites legales establecidos.

Los tratamientos con maceración carbónica (CA1 y CA2) presentaron mayor contenido de alcohol respecto al tratamiento MT, debido a la producción del etanol a partir del metabolismo anaerobio del ácido málico, ocasionando una disminución significativa de la acidez y, por consiguiente, un aumento en el pH, resultados que concuerdan con lo reportado por Castillo-Sánchez et al. (2006) y Flanzky et al. (1987). No se observaron diferencias entre los tratamientos en cuanto a la acidez volátil, mientras que para el contenido de azúcares residual, el tratamiento CA2 presentó mayor concentración respecto al resto de los tratamientos evaluados. Flores-Ramírez et al. (2005) plantean que la composición básica del vino es modificada por la maceración carbónica y su efecto depende fuertemente del tiempo del tratamiento pre-fermentativo. En un ensayo donde se comparó vinos de maceración carbónica de 6 días con una vinificación tradicional, estos autores no encontraron un efecto sobre la acidez total, el grado alcohólico y el contenido de azúcares residuales.

Cuadro 3. Composición físico-química de los vinos al descube.

	Alcohol (% v/v)	Acidez total (gH <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> /l)	pH	Acidez Volátil (gH <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> /l)	Azúcar residual (g/l)
MT	10,2	5,40	3,54	0,19	1,31
MF	10,5	5,25	3,59	0,23	1,28
MPostC	9,1	5,51	3,55	0,24	1,33
CA1	10,9	3,71	3,70	0,21	1,26
CA2	10,8	3,45	3,71	0,16	1,83

MT es Maceración tradicional; MF es Maceración pre-fermentativa en frío; MPostC es Maceración post-fermentativa en caliente; CA1 es Maceración carbónica de 14 días; CA2 es Maceración carbónica de 21 días.

### **3.1.6. Composición fenólica de los vinos al descube**

Al descube, los vinos elaborados a través de las distintas vinificaciones presentaron diferencias en el índice de polifenoles totales y en el contenido de antocianos (Cuadro 4).

Los vinos obtenidos por MF presentaron un índice de polifenoles totales levemente inferior al obtenido por los vinos testigo, en tanto que la concentración de antocianos fue superior. Estos resultados concuerdan con la composición fenólica reportada en los vinos elaborados por esta técnica (González-Neves et al., 2009) y se corresponden con las cinéticas de extracción registradas durante la vinificación. Para este ensayo en particular, la técnica de maceración pre-fermentativa en frío logró promover la extracción de antocianos determinando que sus vinos sean más ricos en estos compuestos (Ortega-Heras et al. 2012, Gómez-Míguez et al. 2007).

Cuadro 4. Composición fenólica de los vinos al descube.

	IPT (A280)	Antocianos (mg/l de mv3-g)
MT	44,9	637
MF	41,8	675
MPostC	50,2	533
CA1	14,4	95
CA2	21,1	203

MT es Maceración tradicional; MF es Maceración pre-fermentativa en frío; MPostC es Maceración post-fermentativa en caliente; CA1 es Maceración carbónica de 14 días; CA2 es Maceración carbónica de 21 días; IPT = Índice de polifenoles totales; Mv3-G es malvidin-3-glucósido.

Los vinos MPostC presentaron un índice de polifenoles totales superior al testigo, con concentración de antocianos inferiores. Los resultados obtenidos concuerdan con las cinéticas de extracción obtenidas durante la vinificación. Las temperaturas elevadas en conjunto con un medio alcohólico promueven la extracción de proantocianidinas, localizadas en las semillas, al solubilizar la cutícula de la semilla facilitando su extracción. La mayor extracción de proantocianidinas en relación a los antocianos en un medio en presencia de metabolitos de fermentación, favorece la copigmentación y la polimerización, a la vez que permiten estabilizar el color ya que estas asociaciones son más estables que los compuestos originales (Zimman et al. 2002). La consecuencia del calentamiento es un aumento de la intensidad colorante debido a la copigmentación y polimerización, con una disminución en la concentración de antocianos. Investigadores como Nemanic et al. (2002) y Gervaux et al. (1998) demostraron que al realizar una maceración post-fermentativa en caliente se obtienen vinos con mayor intensidad colorante, antocianos y polifenoles totales, repercutiendo en una mayor calidad organoléptica global respecto a otras técnicas de vinificación (maceración sulfítica, sangría, maceración pre-fermentativa en frío, pre-fermentativa en caliente, maceración prolongada, etc.). Otras investigaciones muestran resultados más atenuados. Casassa et al. (2008 y 2007) y Catania et al. (2006), al realizar una maceración post-

fermentativa en caliente (40 °C durante 12 horas) sobre el cultivar Merlot no se observaron diferencias significativas en los valores de IPT respecto a una vinificación convencional. Estos autores plantean que la aplicación de esta técnica no extrae mayor cantidad de proantocianidinas de manera inmediata, lo cual puede estar determinado por el tiempo de post-maceración. Resultados similares fueron reportados en California, sobre vinos Cabernet Sauvignon y Merlot, elaborados con esta técnica (Boulton, 1999).

Independientemente del tiempo de maceración carbónica, los vinos CA1 y CA2 presentaron los menores índices de polifenoles totales y concentraciones de antocianos en relación a los demás tratamientos. Estos resultados están determinados por la extracción ocurrida durante el tratamiento pre-fermentativo, ya que durante la vinificación los mostos no fueron macerados. Se observó un efecto del tiempo de maceración carbónica en el índice de polifenoles totales y en la concentración de antocianos, en donde al pasar de 14 a 21 días de metabolismo anaerobio se registró un incremento en ambos parámetros. Pati et al. (2009), Castillo-Sánchez et al. (2006) y Jackson (2000) reportaron que los vinos elaborados por esta técnica de vinificación presentan bajas concentraciones de compuestos fenólicos y antocianos respecto a los elaborados por técnicas de maceración tradicionales. Si bien los tiempos recomendados en los trabajos anteriores son menores a los realizados en este ensayo, los resultados reportados por la bibliografía son superiores a los obtenidos. Según Flanzy et al. (1987), el incremento del tiempo de maceración carbónica permite mejorar los resultados de esta técnica de vinificación, efecto que si bien fue verificado en el ensayo, no mostró un incremento sustancial teniendo en cuenta el potencial fenólico de la uva. Estos resultados pueden deberse a la temperatura en la que se llevó a cabo la maceración carbónica y a la variedad vinificada. Los rangos óptimos recomendados por Flanzy et al (1987) se encuentran entre los 28 y 32 °C, en tanto que en los tratamientos evaluados en este ensayo la maceración carbónica fue conducida en un rango de temperatura comprendido entre 20-26 °C. Los resultados también podrían ser explicados por la variedad, como la extracción de compuestos fenólicos y antocianos durante la maceración carbónica se realiza directamente de los

hollejos, la composición particular de la pared celular de los hollejos de Tannat podría actuar como una barrera física que dificulta la rotura de las células de los hollejos y por tanto la extracción de estos compuestos (González-Neves et al., 2010a y c).

### **3.1.7. Composición fenólica de los vinos al descube, 3 y 6 meses**

Al descube y durante su conservación (3 y 6 meses del descube) los vinos mostraron diferencias en el índice de polifenoles totales de acuerdo al tipo de vinificación (Figura 15).

Los vinos del tratamiento MPostC mostraron contenidos de polifenoles totales, al descube y a los 3 meses, superiores respecto al tratamiento MF. Sin embargo, ambos tratamientos no difirieron sustancialmente del testigo (MT), quien mostró contenidos intermedios. Las diferencias en el índice de polifenoles totales de los vinos de estos tres tratamientos a los 6 meses, fueron atenuadas. Favre (2012) no observó diferencias significativas en el índice de polifenoles totales durante la conservación de vinos con maceración pre-fermentativa en frío en relación a una vinificación tradicional. Sin embargo, otras investigaciones demuestran lo contrario (González-Neves et al. 2012, Casassa et al. 2007). Dada la gran extracción de taninos durante la maceración post-fermentativa en caliente, los vinos elaborados por esta técnica presentan mayor contenidos de polifenoles totales respecto a los elaborados por técnicas tradicionales, efecto que se mantiene durante la conservación (Boulton et al. 2002, Zimman et al. 2002). Los resultados obtenidos concuerdan con los reportados por estos autores.

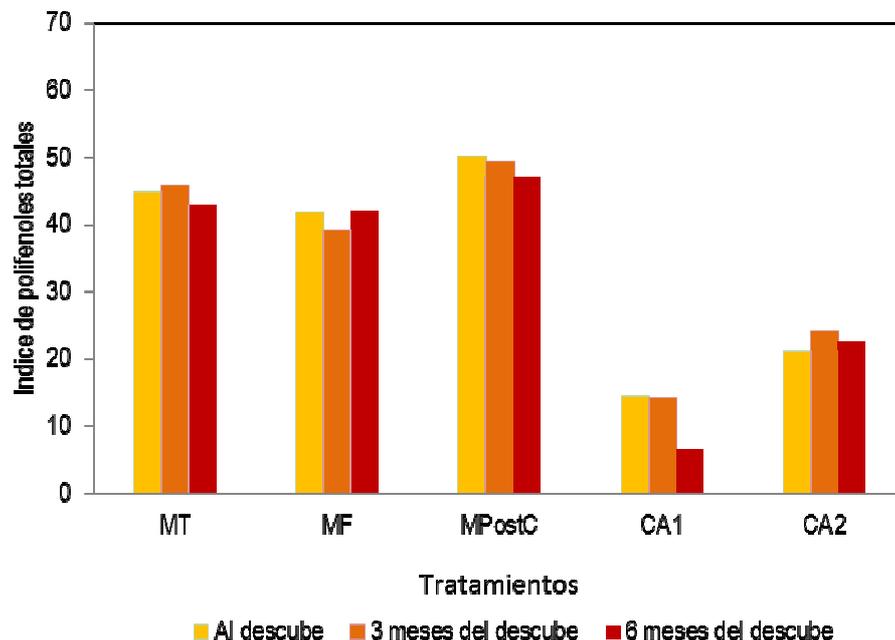


Figura 15. Evolución del índice de polifenoles totales al descube, 3 y 6 meses de conservación. MT es Maceración tradicional, MF es Maceración pre-fermentativa en frío, MPostC es Maceración post-fermentativa en caliente, CA1 es Maceración carbónica de 14 días y CA2 es Maceración carbónica de 21 días.

Los tratamientos con maceración carbónica presentaron significativamente menor contenido de polifenoles totales en las tres evaluaciones realizadas. A su vez, se observó diferencias entre los tratamientos con maceración carbónica, siendo superior el contenido de polifenoles totales cuando la duración de la misma fue mayor. La ausencia de maceración durante la fermentación alcohólica, la duración la maceración carbónica y la temperatura en que es conducida determinaron la composición fenólica del mosto y su evolución durante la conservación (Flanzy et al. 1987).

En cuanto al contenido de antocianos, se observaron diferencias entre los vinos de los distintos tratamientos, al descube, 3 y 6 meses de conservación (Figura 16). Todos los tratamientos evaluados mostraron una disminución de antocianos desde el descube a los 6 meses. Durante la conservación del vino ocurre una disminución de la concentración de estos compuestos dado que, algunos precipitan

durante la estabilización del vino y muchos reaccionan con compuestos extraídos y/o metabolitos de las levaduras formando nuevos pigmentos. Estos últimos, son más estables y confieren un color distinto al antociano original. Por esto, la disminución del contenido de antocianos durante la conservación no implica necesariamente una disminución de la intensidad colorante del vino (Casassa y Harbertson 2014, Kennedy y Jones 2001).

Independientemente de las disminuciones registradas durante la conservación, los vinos MF presentaron mayor contenido de antocianos. Estos resultados concuerdan con los reportados con Gordillo et al (2010).

La concentración de antocianos de los vinos MPostC fue menor al testigo. La aplicación de tratamientos post-fermentativos en caliente mejora temporalmente la solubilidad general de los pigmentos pero se ha demostrado que el efecto sobre la estabilidad del color disminuye durante la crianza (Zimman et al., 2002).

Los vinos obtenidos a partir de maceración carbónica, presentaron menores contenidos de antocianos durante la conservación como resultado de lo extraído durante su vinificación. CA2 mostro mayor contenido de antocianos respecto a CA1. A los seis meses se observó una caída importante en la concentración de antocianos del vino correspondiente a ambos tratamientos. El mayor tiempo de maceración carbónica de los vinos CA2 determinó mayores concentraciones de antocianos respecto a los obtenidos por CA1, que se mantuvo durante la conservación. Estos resultados concuerdan con lo reportado por Castillo-Sánchez et al. (2008) y Flanzky et al. (1987), si bien las concentraciones obtenidas en este ensayo son sensiblemente menores a las reportadas.

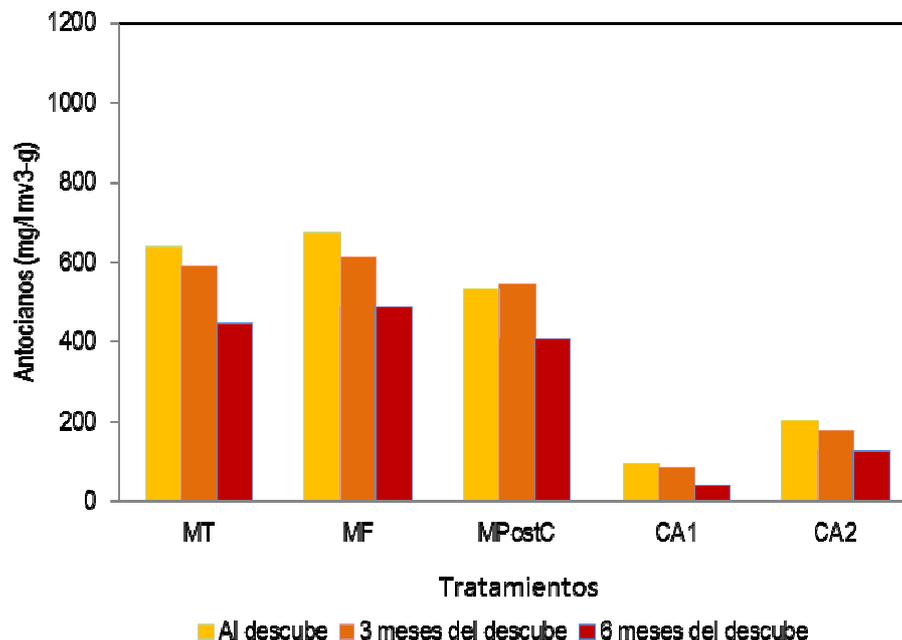


Figura 16. Evolución del contenido de antocianos (mg/l de mv3-g) al descube, 3 y 6 meses de conservación. MT es Maceración tradicional, MF es Maceración pre-fermentativa en frío, MPostC es Maceración post-fermentativa en caliente, CA1 es Maceración carbónica de 14 días y CA2 es Maceración carbónica de 21 días.

### **3.1.8. Análisis sensorial de los vinos a los 6 meses**

A los 6 meses del descube los vinos fueron sometidos a un Análisis Sensorial Descriptivo Cuantitativo en donde se observó que los vinos del tratamiento MF presentaron mayor color, matiz e intensidad colorante respecto a los del testigo, resultados que coinciden con la composición polifenólica de los vinos evaluados al mismo momento.

Los vinos del tratamiento MPostC no fueron diferenciados del testigo en cuanto a su color y matiz, pero fueron catalogados con una intensidad colorante similar a la obtenida por los vinos MF.

Los vinos obtenidos a partir de maceración carbónica presentaron menores valores de color, intensidad colorante y matiz, existiendo diferencias entre ellos debido a la duración del proceso.

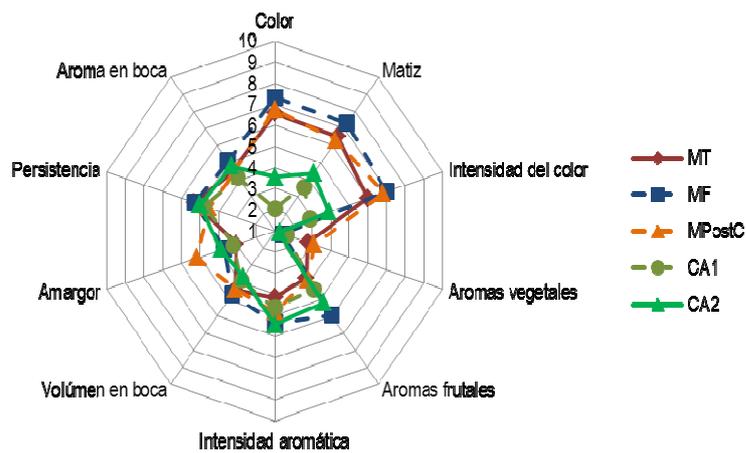


Figura 17. Descripción organoléptica de los vinos del cv. Tannat, obtenidos a partir de tres técnicas de maceración diferentes. MT es Maceración tradicional, MF es Maceración pre-fermentativa en frío, MPostC es Maceración post-fermentativa en caliente, CA1 es Maceración carbónica de 14 días y CA2 es Maceración carbónica de 21 días.

No se detectaron diferencias importantes en la intensidad aromática de los vinos de los diferentes tratamientos, sin embargo, los vinos MF y CA2 obtuvieron mayores valores de aromas frutados. Podría decirse que la mayor duración de la maceración carbónica del tratamiento CA2 contribuyó a desarrollar mayores aromas frutados, característicos de este proceso, y que no fueron percibidos con una maceración carbónica más corta (CA1).

No se identificaron diferencias en volumen, persistencia y aromas en boca, entre los tratamientos, mientras que en cuanto al amargor, los vinos del tratamiento MPostC presentaron los mayores valores. Estos resultados podrían indicar que estos vinos extrajeron mayor contenido de taninos de semilla, poco polimerizados que

provocan sensaciones de astringencia y amargor, pudiendo ser una característica negativa de este tipo de elaboraciones.

### 3.2. ENSAYO 2011

#### 3.2.1. Composición de la uva en cosecha

Al momento de la cosecha, la uva presentó una elevada concentración de azúcares, lo cual determinó un alcohol probable de 13,2 % v/v. La acidez total del mosto encubado fue de 3.65 g H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>/L y el pH de 3,41 (Cuadro 5).

Cuadro 5. Composición de la uva al momento de cosecha

Azúcar (g/l)	Alcohol Probable (% v/v)	Acidez total (gH <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> /l)	pH
238	13,2	3,65	3,41

La uva presentó un elevado contenido de polifenoles y antocianos totales en cosecha (Cuadro 6), con contenidos relativamente elevados de antocianos extraíbles. La extractibilidad de los antocianos fue mayor al 50 %, lo cual implica dificultades en la extracción de los mismos durante la vinificación. Se observó un alto porcentaje de taninos de hollejos en relación a los de semilla. Las condiciones de maduración particulares de este año determinaron un buen potencial enológico de la uva para la vinificación.

Cuadro 6. Composición fenólica de la uva al momento de cosecha

A280	Antocianos Totales (ApH1)	Antocianos Extraíbles (ApH3,2)	EA (%)	dpell	dTpep	dpell (%)	Mp (%)
74,3	2396	1012	57,7	40,5	33,8	54,5	45,5

IPT es índice de polifenoles totales, EA es índice de extractibilidad de antocianos, dpell es contenido de taninos de hollejos, dTpep es contenido de taninos de semillas, Mp es contenido de taninos de hollejos expresado en porcentaje.

### 3.2.2. Desarrollo de la fermentación

Los tratamientos realizaron la fermentación alcohólica sin paradas de fermentación, dentro de las temperaturas preestablecidas (Figura 18, 19, 20 y 21).

Los mostos MF presentaron una cinética de fermentación más lenta que los de MT al igual que en el ensayo correspondiente al año 2010, sin embargo, no se observó actividad fermentativa durante la etapa pre-fermentativa. Estos resultados difieren a los obtenidos en el año anterior. El desarrollo microbiano durante la etapa pre-fermentativa depende de las características de la materia prima, producto de las condiciones edafo-climáticas y de la madurez particular de la uva y su estado sanitario en el momento de la cosecha (Casassa, 2007). Si bien en esta investigación no se realizaron recuentos de levaduras nativas sobre las bayas, de los años evaluados, las uvas correspondientes a la vendimia 2011 presentaron una mejor composición química y una buena sanidad al momento de la cosecha.

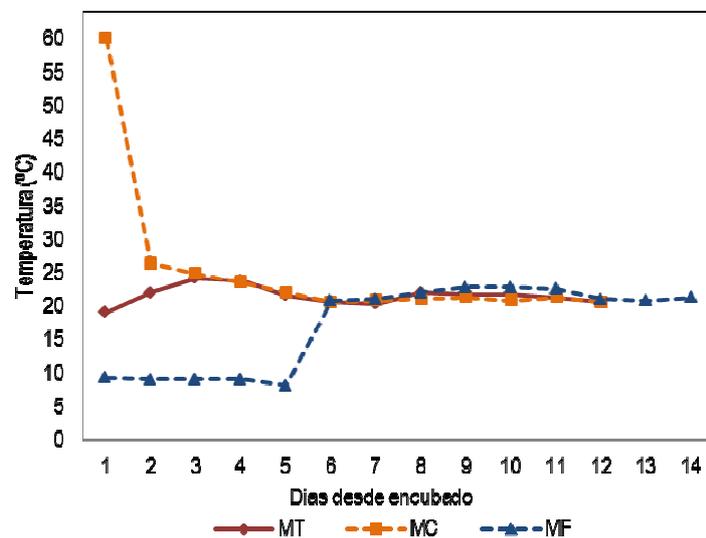


Figura 18. Temperatura del mosto (°C) desde el encubado hasta fin de fermentación alcohólica según tratamiento. MT es Maceración tradicional; MF es Maceración pre-fermentativa en frío; MC es Maceración pre-fermentativa en caliente.

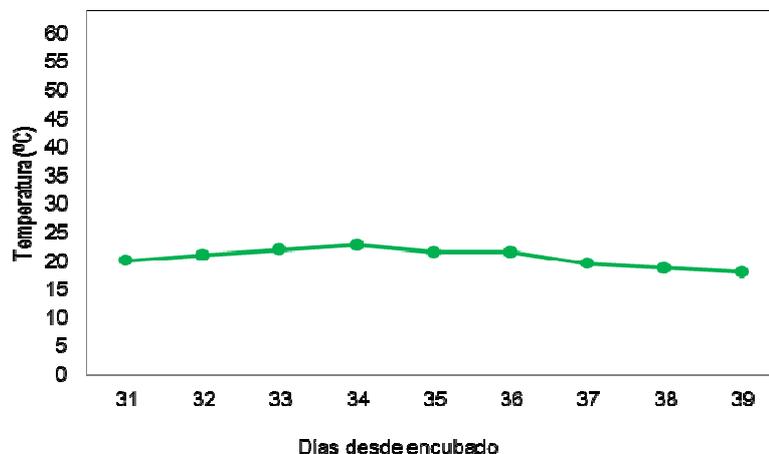


Figura 19. Temperatura del mosto desde el encubado hasta fin de fermentación alcohólica para el tratamiento con maceración carbónica (CA).

Luego del tratamiento térmico en caliente, los mostos MC realizaron la fermentación más rápidamente respecto a los de MT, obteniendo una densidad inferior a 1000 g/l a los 7 días de iniciada la fermentación alcohólica (Figura 20). Estos resultados pueden ser explicados por el efecto de la temperatura sobre las poblaciones de microorganismos del mosto y el medio que se genera para su desarrollo. Cuando la temperatura del mosto es elevada por encima de los 40 °C en la etapa pre-fermentativa, tal como se realizó en este ensayo, las poblaciones de bacterias lácticas y acéticas, así como de levaduras, desaparecen (Ribéreau-Gayon et al., 1998). Una vez finalizado el tratamiento pre-fermentativo, es necesario disminuir rápidamente la temperatura del mosto a temperaturas de fermentación, así como también inocular levaduras seleccionadas, ya que la contaminación con microorganismos presentes en la bodega podría llevarnos a fermentaciones indeseadas comprometiendo la calidad del vino. Por otra parte, se debe tener en cuenta que durante el calentamiento se potencia la extracción de factores de crecimiento lo cual favorece el desarrollo posterior de las levaduras inoculadas (Hidalgo, 2003).

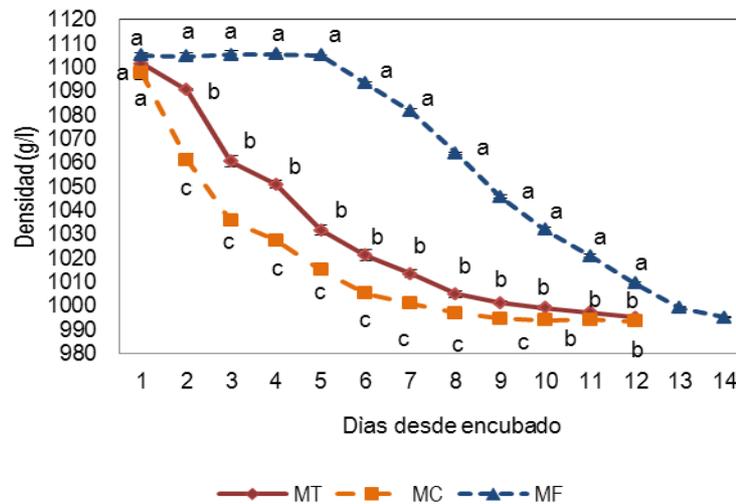


Figura 20. Evolución de la densidad (g/l) desde el encubado hasta fin de fermentación alcohólica según tratamiento. Medias con distinta letra indican diferencias significativas para el Test de Tukey ( $p < 0.05$ ). MT es Maceración tradicional; MF es Maceración pre-fermentativa en frío; MC es Maceración pre-fermentativa en caliente.

Los mostos del tratamiento CA realizaron la fermentación alcohólica en ausencia de partes sólidas. La inoculación de levaduras se realizó a los 31 días desde el encubado y la temperatura de fermentación estuvo comprendida entre los 18 y 20 °C (Figura 19) determinando que el desarrollo de la fermentación alcohólica fuera más lento en relación a los mostos testigos (Figura 21). Estos resultados difirieron de los obtenidos en los tratamientos CA 2010. Si bien durante la maceración carbónica el mosto se concentra en factores de crecimiento para las levaduras (Tesniere y Flanzky 2011, Flanzky et al. 1987), las bajas temperaturas registradas en los tanques que iniciaron la fermentación 30 días más tarde que el testigo, dificultaron su desarrollo, enlenteciendo la fermentación alcohólica. Los mostos que realizaron maceración carbónica comenzaron la fermentación alcohólica con una densidad inferior a los demás tratamientos evaluados, tal como fue observado en los resultados obtenidos para el ensayo 2010.

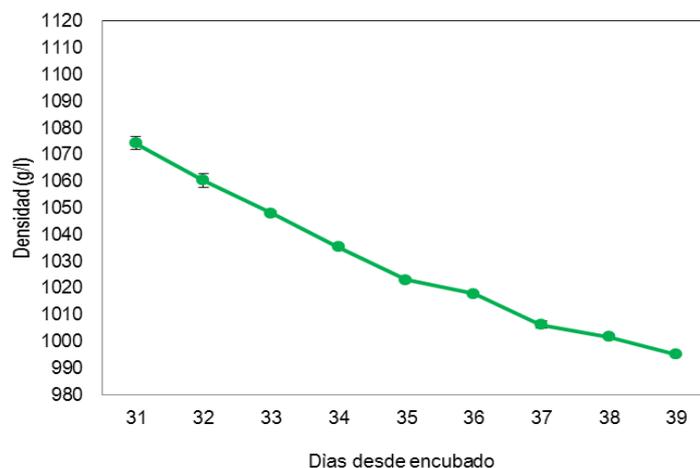


Figura 21. Evolución de la densidad (g/l) desde el encubado hasta fin de fermentación alcohólica del mosto-vino elaborado por maceración carbónica (CA).

### **3.2.3. Evolución del índice de polifenoles totales**

Los mostos de los tratamientos evaluados presentaron diferencias en el perfil de extracción de polifenoles totales durante la maceración (Figura 22), al igual que lo observado en el ensayo 2010. La cinética de extracción de los mostos MT fue similar a la reportada.

La extracción de compuestos fenólicos por los mostos MF se vio retrasada respecto a los demás tratamientos, resultados que fueron observados en el ensayo correspondiente al año 2010. Durante la extracción de polifenoles totales en los mostos MF, los valores máximos registrados fueron inferiores a los obtenidos en los mostos MT.

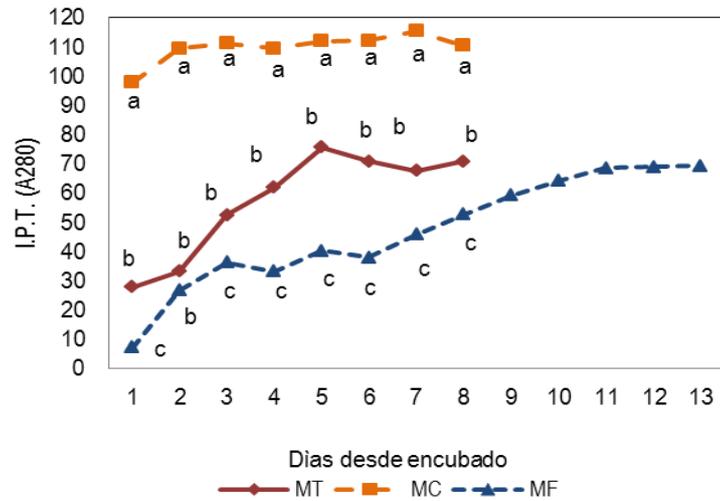


Figura 22. Evolución del I.P.T. (índice de polifenoles totales) durante la maceración según tratamiento. Medias con distinta letra indican diferencias significativas para el Test de Tukey ( $p < 0.05$ ). MT es Maceración tradicional; MF es Maceración pre-fermentativa en frío; MC es Maceración pre-fermentativa en caliente.

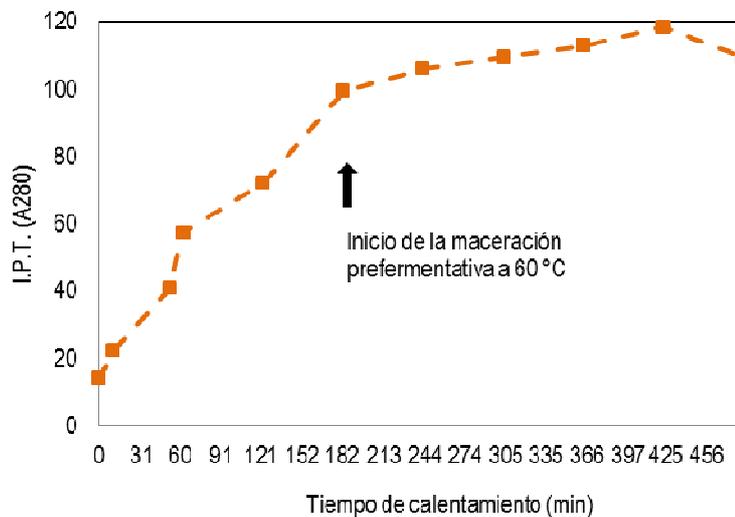


Figura 23. Evolución del índice de polifenoles totales durante la maceración pre-fermentativa del tratamiento maceración pre-fermentativa en caliente (MC).

Los mostos MC mostraron los mayores valores de polifenoles totales durante la maceración fermentativa (Figura 22). Durante el tratamiento térmico se observó un aumento brusco en la extracción de polifenoles a medida que aumentó la temperatura del mosto hasta alcanzar los 60 °C (Figura 23). En las seis horas de maceración a 60

°C, el contenido de polifenoles totales aumentó, pero en menor proporción respecto a la primera etapa, estabilizándose hacia la última hora de maceración pre-fermentativa. Varios autores han reportado que el calentamiento del mosto por encima de los 40 °C incrementa la extracción de los compuestos fenólicos de la uva (Boulet 2003). Escudier et al. (2008) plantean que dichas sustancias también disminuyen durante la fermentación alcohólica resultando los vinos al final de la misma con un contenido superior (20-40%) respecto a una vinificación tradicional. En esta investigación, no se observó una disminución del índice de polifenoles totales durante la maceración fermentativa; el contenido de polifenoles totales se mantuvo estable durante esta etapa. Cuando se realiza esta técnica de extracción no hay alcohol presente en el medio, por tanto se esperan resultados positivos en el contenido de antocianos, en tanto que el efecto sobre el contenido de taninos es más atenuado (Boulton et al. 2002, Auw et al. 1996). Por otra parte, se ha reportado que no existe ganancia suplementaria en la extracción de polifenoles al realizar una maceración pre-fermentativa en caliente por encima de las siete horas (Cottureau y Desseigne, 2007), resultados que concuerdan con los obtenidos.

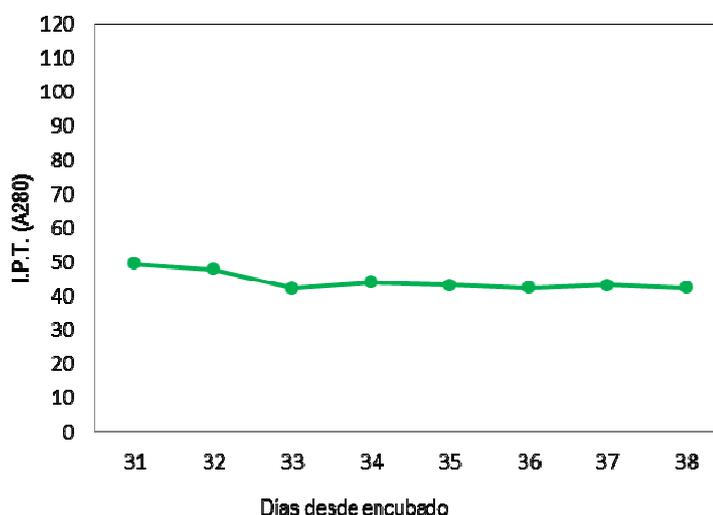


Figura 24. Evolución del índice de polifenoles totales durante la fermentación alcohólica de los vinos elaborados por maceración carbónica (CA).

Los mostos del tratamiento CA presentaron al inicio de la fermentación un índice de polifenoles totales superior al observado en los mostos MT al encubado

(Figura 24). La degradación de las pectinas de las paredes celulares durante el tratamiento anaerobio permitiendo una difusión de compuestos fenólicos desde los hollejos hacia la pulpa (Tesniere y Flanzky, 2011). La evolución de este índice durante la fermentación alcohólica corresponde con la registrada en el ensayo realizado en el año 2010, en donde no se registra un incremento en la extracción de estos compuestos debido a la ausencia de hollejos durante la fermentación. Es importante destacar que los valores registrados en el índice de polifenoles totales durante la fermentación fueron superiores a los obtenidos para el ensayo 2010, lo cual puede estar determinado por las diferencias en la riqueza polifenólica de la uva de este año en particular, así como también por el incremento del tiempo de maceración carbónica que determinó que el metabolismo anaerobio ocurriera en todas las bayas de forma más uniforme (Flores-Ramírez et al. 2005, Flanzky et al. 1987).

#### **3.2.4. Evolución del contenido de antocianos durante la vinificación**

La evolución de la concentración de antocianos en los mostos se observa en la Figura 25.

Los mostos MT presentaron una extracción importante de los compuestos en los primeros días, alcanzando una concentración máxima y disminuyendo posteriormente, lo que corresponde con lo obtenido en el ensayo 2010 para este tratamiento.

En los mostos MF se observó un retraso en la extracción de antocianos respecto a los demás tratamientos, alcanzando el valor máximo al descube (Figura 25). Las concentraciones de antocianos extraídos durante la maceración fueron inferiores a los obtenidos por los mostos del tratamiento MT. Estos resultados concuerdan con la extracción de antocianos reportada en el ensayo anterior.

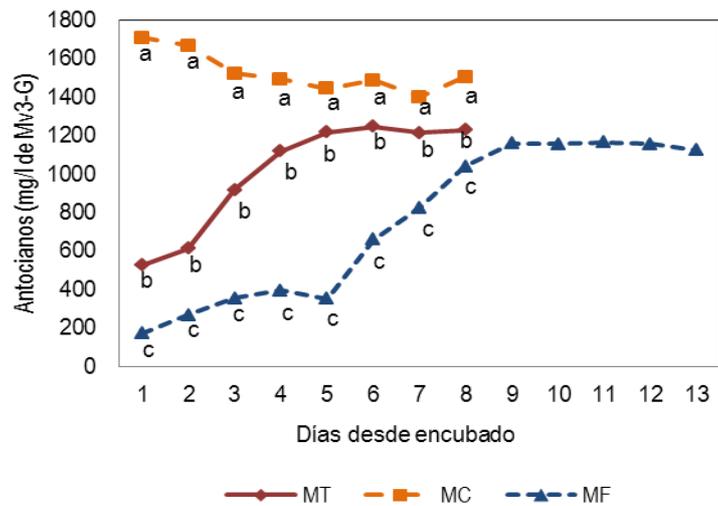


Figura 25. Evolución del contenido de antocianos durante la maceración según tratamiento. Medias con distinta letra indican diferencias significativas para el Test de Tukey ( $p < 0.05$ ). MT es Maceración tradicional; MF es Maceración pre-fermentativa en frío; MC es Maceración pre-fermentativa en caliente. Mv3-G es malvidin-3-glucósido.

Al inicio de la fermentación alcohólica, los mostos MC, mostraron las mayores concentraciones de antocianos respecto a los MT y MF (Figura 25). Si bien se observó una disminución de la concentración de estos compuestos durante la maceración fermentativa, los resultados obtenidos fueron significativamente superiores a los obtenidos en los demás tratamientos. La elevada concentración de antocianos al principio de la fermentación alcohólica indica que la extracción de estos compuestos se realizó durante la etapa pre-fermentativa por efecto de la temperatura. Durante la etapa de calentamiento del mosto y la primera hora de maceración pre-fermentativa en caliente por encima de 60 °C, se observó un incremento constante en la concentración de antocianos del mosto, manteniéndose durante las restantes cinco horas de tratamiento térmico (Figura 26). Los resultados obtenidos coinciden con los reportados por varios investigadores, quienes plantean que la máxima extracción de antocianos se obtiene en las primeras horas de la maceración pre-fermentativa en caliente (Escudier et al. 2008, Fisher et al. 2000), siendo tres veces mayor al de una fermentación tradicional (Gao et al., 1997) y disminuyendo rápidamente hacia fin de la fermentación. Al descube se han reportado contenidos 1,5 veces superiores respecto a la vinificación tradicional (Girard et al.,

1997). El calentamiento de los mostos incrementa la extracción de antocianos, que disminuyen durante la fermentación alcohólica y la crianza en las cubas, el desequilibrio entre las concentraciones de antocianos y taninos, conduce a formas coloreadas estables (Atanackovic et al., 2012).

Los mostos del tratamiento CA presentaron al inicio de la fermentación una concentración de antocianos superior a la observada en los mostos MT al encubado (Figura 27) debido al metabolismo anaerobio de la baya como ya fue reportado. El aumento del tiempo de maceración carbónica incremento la cesión de antocianos desde los hollejos a la pulpa, siendo la concentración de estos compuestos al encubado superior a la observada en el ensayo anterior. Sin embargo debe tenerse en cuenta que dicho efecto puede estar determinado también por la composición de la uva, ya que el potencial enológico de cada vendimia fue muy diferente (Cuadro 1 y 4). La evolución de la concentración de antocianos durante la fermentación alcohólica corresponde con la registrada en el ensayo 2010, en donde se registra una disminución en la extracción de estos compuestos debido a la ausencia de maceración.

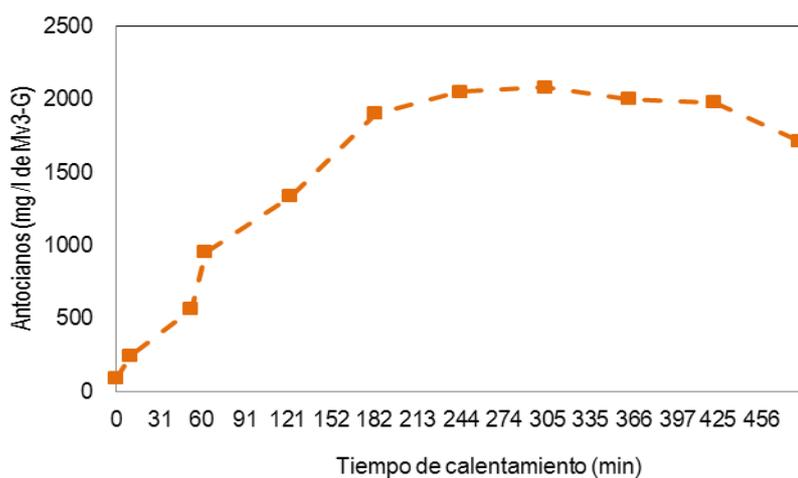


Figura 26. Evolución del contenido de antocianos durante la etapa pre-fermentativa del tratamiento de maceración pre-fermentativa en caliente (MC). Mv3-G es malvidin-3-glucósido.

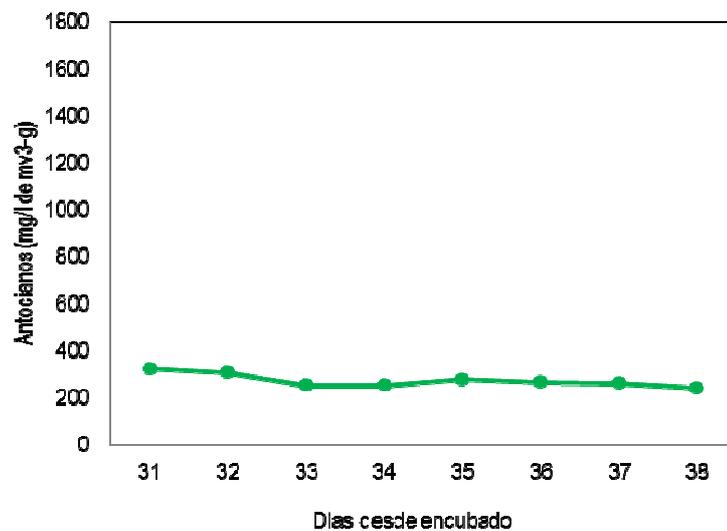


Figura 27. Evolución del contenido de antocianos durante la fermentación alcohólica de los vinos elaborados por maceración carbónica (CA). Mv3-G es malvidin-3-glucósido.

### 3.2.5. Intensidad colorante y tonalidad

La evolución de la intensidad colorante y la tonalidad fue diferente de acuerdo a la vinificación realizada. Estas diferencias responden a la evolución en la concentración de taninos y antocianos así como también a las interacciones que involucran estos compuestos durante la vinificación (Figura 28 y 29).

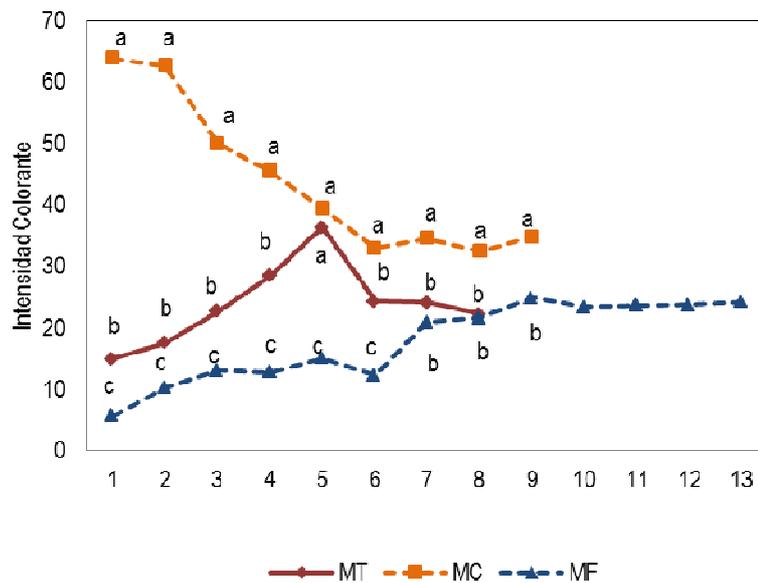


Figura 28. Evolución de la intensidad colorante durante la maceración según tratamiento. Medias con distinta letra indican diferencias significativas para el Test de Tukey ( $p < 0.05$ ). MT es Maceración tradicional; MF es Maceración pre-fermentativa en frío; MC es Maceración pre-fermentativa en caliente.

La intensidad colorante durante la vinificación evoluciona de forma similar a la concentración de antocianos. Para los mostos del tratamiento MT los mayores valores en intensidad colorante se alcanzaron al momento en que se registró la mayor concentración de antocianos en el mosto, lo cual ocurrió al quinto día de maceración y se corresponde a lo mencionado por la bibliografía (Casassa et al. 2015 y 2007, Marais 2003a y b, Boulton et al. 2002). Luego, se observó una caída en la intensidad colorante dada por la disminución en la concentración de antocianos, así como también por la ruptura de los antocianos copigmentados y el pasaje de estos a formas incoloras en un ambiente reductor. Por otra parte, durante la etapa final de la maceración fermentativa la disminución se ve atenuada debido a la polimerización de antocianos con taninos, que forman compuestos estables y coloreados (Ortega-Regules et al. 2008, Koyama et al. 2007).

En los vinos MF el valor máximo de intensidad colorante se alcanzó más anticipadamente (Figura 28). Si bien durante la maceración pre-fermentativa la

extracción de color permaneció limitada, una vez que el mosto fue llevado a temperatura ambiente y en conjunción con el proceso fermentativo, la extracción de color ocurrió rápidamente en comparación con los tratamientos restantes. La intensidad colorante de los mostos-vinos MF se mantuvo estable luego de haber alcanzado el máximo, a diferencia de los mostos-vinos MT. En los tratamientos con maceración pre-fermentativa en frío, durante la etapa fermentativa se incrementa de extracción de antocianos glicosidados, principalmente de malvidina, delphinidina y petunidina, al igual que los antocianos acilados y cumarilados, incrementando el color del vino (Gordillo et al., 2010). Por otra parte, al final de la fermentación alcohólica los vinos con maceración pre-fermentativa presentan mayor porcentaje de antocianos copimentados y polimerizados (Gordillo et al., 2010) manteniendo la intensidad colorante del vino aunque haya disminuido la concentración de antocianos. Finalmente, la extracción de antocianos en coincidencia con la fermentación alcohólica, en presencia de acetaldehído y ácido pirúvico, productos del metabolismo de las levaduras, se favorece la formación de vitisinas y piranoantocianos (Morata et al. 2005, Jones et al. 2003, Mateus et al. 2003a y b). Estos compuestos son estables en el tiempo e insensibles al efecto del pH y la acción decolorante del anhídrido sulfuroso y cumplen un rol fundamental en la evolución del vino durante su conservación (Ortega-Heras et al. 2012).

Los mostos del tratamiento MC presentaron una elevada intensidad colorante una vez finalizado el tratamiento térmico, lo cual se corresponde con la alta concentración de antocianos extraída durante la etapa pre-fermentativa (Figura 28 y 30). Las temperaturas superiores a los 60 °C en la etapa pre-fermentativa incrementan el contenido de antocianos y la intensidad colorante del mosto de forma exponencial (Hidalgo, 2003). La intensidad colorante disminuyó durante la maceración fermentativa hasta el día seis de maceración, respondiendo a la disminución en el contenido de antocianos del medio dada por los factores ya mencionados. A partir del día seis y hasta el descube, la intensidad colorante permaneció constante al igual que el contenido de antocianos de dicho tratamiento. A pesar de esto, al terminar la fermentación alcohólica los vinos resultan con más color que los elaborados por

sistemas tradicionales. El calentamiento pre-fermentativo resulta en un cambio en la composición de los antocianos extraídos y copigmentados, incrementando el color (Abyari et al., 2006). Estos resultados no concuerdan con lo reportado por otras investigaciones en donde no se encontró efecto del calentamiento pre-fermentativo en el color del vino. Por el contrario, en los vinos con maceración pre-fermentativa en caliente se extrajo menos concentración de malvidina-3-glucósido respecto a los elaborados por vinificación tradicional, afectando el color del vino (Borazan y Bozan, 2013).

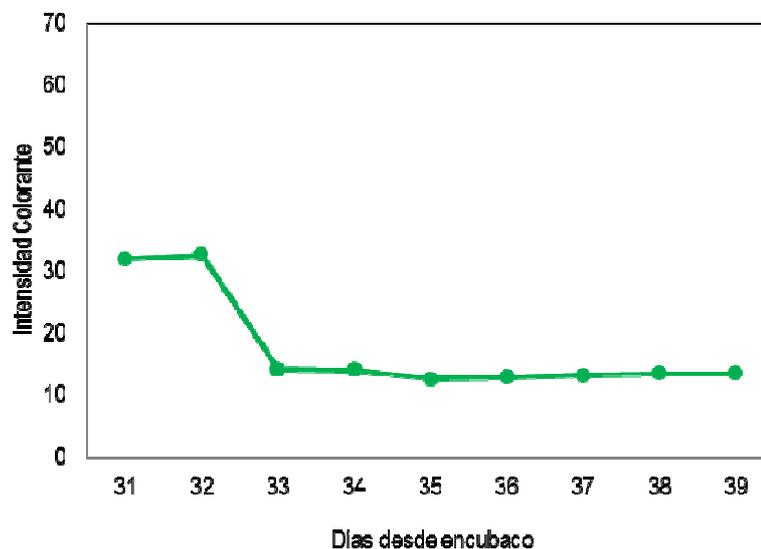


Figura 29. Evolución del contenido de la intensidad colorante durante la fermentación alcohólica de los vinos elaborados por maceración carbónica (CA).

En general, la intensidad colorante de los mostos CA fue inferior a los MT durante la fermentación, resultados similares a los obtenidos en el ensayo 2010 y que concuerdan con lo reportado por Flores-Ramírez et al. (2005). Al inicio de la fermentación alcohólica, los mostos CA presentan una intensidad colorante elevada respecto a los mostos MT. En los mostos CA, la extracción de antocianos y sus interacciones con otros compuestos ocurre durante el metabolismo anaerobio de la uva como ya fue discutido. Entre el segundo y tercer día de fermentación alcohólica, se registró una disminución importante de la intensidad colorante de los mostos CA,

momento a partir del cual se mantiene constante hasta fin de fermentación alcohólica. La disminución inicial en este índice se corresponde con la disminución en el contenido de antocianos ya que al no existir maceración durante la fermentación alcohólica, no existe ganancia de pigmentos, en tanto que las pérdidas de estos continúan ocurriendo. Trabajos de investigación publicados por Tesniere y Flanzky (2011), Chinnici et al. (2009) y Flanzky et al. (2003, 1987) proponen que durante la maceración carbónica se favorece la copigmentación y las condensaciones entre antocianos y taninos, a medida que estos van siendo cedidos desde las partes sólidas de la uva y en presencia del alcohol generado por la fermentación anaerobia, originan vinos con elevada intensidad colorante. Los mostos CA son más pobres en compuestos fenólicos, por lo cual las reacciones de copigmentación y condensación se ven limitadas determinando vinos con poco color.

La tonalidad de los mostos mostró una cinética diferente durante las distintas vinificaciones (Figura 30 y 31).

Al encubado, los mostos MF presentaron mayor tonalidad que los MT. Estos resultados pueden deberse a dos factores: a una rápida oxidación enzimática del mosto durante la etapa pre-fermentativa y/o a una extracción prioritaria de flavonoles en relación a los antocianos. La oxidación de los compuestos fenólicos conduce a la formación de quinonas, pigmentos amarillos, que ocurre durante las primeras etapas de la vinificación cuando el mosto está en contacto con el aire. La enzima responsable es la polifenol-oxidasa (PPO) que cataliza la hidroxilación de los monofenoles en o-difenoles y la oxidación de estos últimos a o-quinonas. Estas enzimas se localizan esencialmente en la vacuola de las células de la uva. A su vez, la lacasa (polifenoloxidasa de origen fúngico), proveniente de vendimias afectadas por podredumbres de racimo, puede oxidar tanto los o-difenoles como los p-difenoles (Cheynier et al., 2006). Inmediatamente después de la molienda, la rotura de los hollejos permite la liberación de las polifenoloxidasas que comienzan a ejercer su acción oxidante siempre que haya oxígeno molecular disuelto: lo cual ocurre normalmente durante la molienda. Al realizar la MF se extiende la etapa pre-

fermentativa sin considerar que las enzimas procedentes de la materia prima, especialmente la lacasa, puede estar presentes en trazas aún en uvas visiblemente sanas (Oriolani et al. 2007) ocasionando el pardeamiento del mosto e incrementando su tonalidad. A su vez, la reacción de las quinonas con otros constituyentes del vino y la desnaturalización de la PPO en presencia de etanol, determinan que durante la fermentación alcohólica, la tonalidad disminuya alcanzando valores que no se diferencian de los obtenidos por los mostos testigo. Por otra parte, los flavonoles (pigmentos amarillos de la uva) se encuentran bajo forma glucosilada junto a las antocianinas en las vacuolas de la piel de la células sub-epidérmicas (Cheynier y Rigaud, 1986). Aunque, también se encuentran las agliconas en los mostos debido a la hidrólisis enzimáticas o a condiciones ácidas del medio (Casassa y Harbertson 2014, Geffroy et al. 2012). Los flavonoles glucosilados son soluble en medio hidroalcohólico y parcialmente soluble en agua, en tanto que las agliconas son poco solubles en el vino (Geffroy et al. 2012). Los flavonoles son extraídos de forma similar a los antocianos; aunque, debido a su polaridad, su extracción es lenta durante una vinificación tradicional (Morel-Salmi et al. 2006, Gambuti et al. 2009). Sin embargo, Retali (2004) sugiere que la extracción de los flavonoles se incrementa cuando las vacuolas de las células del hollejo son desorganizadas a través de tratamientos pre-fermentativos. La aplicación de bajas temperaturas durante la etapa pre-fermentativa ocasiona un debilitamiento de las paredes celulares de los hollejos, favoreciendo la extracción de estos compuestos. Durante la maceración fermentativa, la hidrólisis del glicósido catalizada por el medio ácido conduce a la liberación de agliconas inestables, que se pierden por precipitación en el medio alcohólico, resultados que explican la disminución de la tonalidad de los mostos del tratamiento MF, alcanzando valores similares a los obtenidos por los mostos MT al descube.

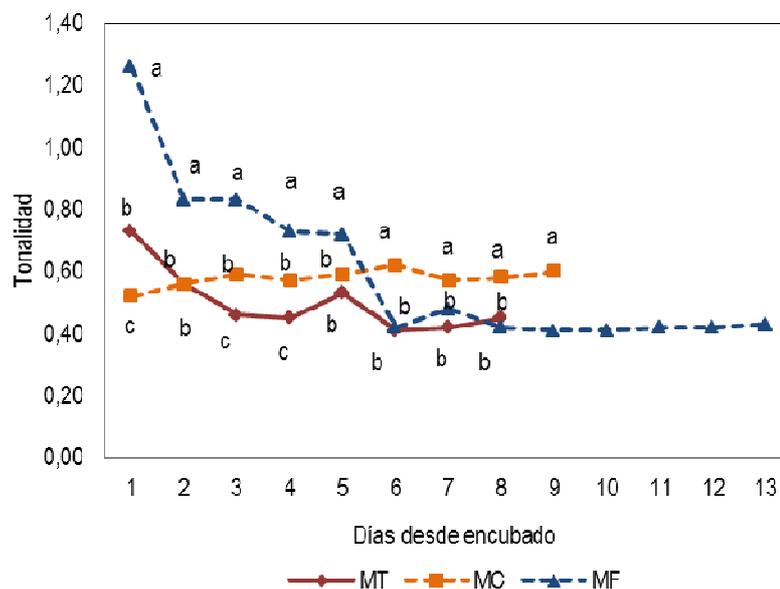


Figura 30. Evolución de la tonalidad durante la maceración según tratamiento. Medias con distinta letra indican diferencias significativas para el Test de Tukey ( $p < 0.05$ ). MT es Maceración tradicional; MF es Maceración pre-fermentativa en frío; MC es Maceración pre-fermentativa en caliente.

Los mostos MC presentaron los menores valores de tonalidad al día de encubado y aumentaron levemente durante la maceración fermentativa, alcanzando valores significativamente mayores al testigo previo al descube (Figura 30). Al igual que lo que ocurre durante la maceración pre-fermentativa en frío, la desorganización de las vacuolas de las células de los hollejos permite una extracción elevada de antocianos y flavonoles (Casassa y Harbertson 2014, Geffroy et al. 2012). La elevada concentración al encubado de antocianos en relación a los flavonoles, determina una baja tonalidad. A medida que avanza la fermentación alcohólica, la disminución de antocianos en relación a estos compuestos puede determinar que exista una mayor relevancia del color amarillo, aumentando levemente la tonalidad del vino en relación a los vinos MT. Por otra parte, se debe considerar que al encubado, los mostos se saturan en oxígeno y el incremento en la temperatura pre-fermentativa promueve las reacciones de oxidación de sus constituyentes (White y Ough, 1973).

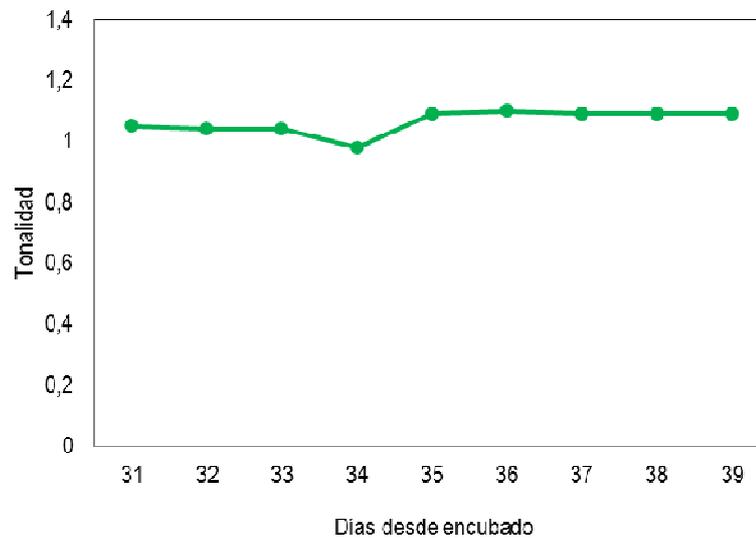


Figura 31. Evolución del contenido de la tonalidad durante la fermentación alcohólica de los vinos elaborados por maceración carbónica (CA).

Los mostos CA presentaron una tonalidad de 1 que se mantuvo constante durante la fermentación alcohólica. Este resultado podría ser explicado por la relación entre los antocianos y flavonoles extraídos, en donde estos últimos tendrían mayor importancia relativa. Por otra parte, el color de los antocianos está determinado por el pH del medio, el cual es sensiblemente modificado por esta técnica de vinificación (Tesniere y Flanzky 2011, Castillo-Sánchez et al. 2006). En un pH ácido, la forma mayoritaria es el catión flavilio que presenta coloración roja. No obstante cuando el pH del medio aumenta el catión flavilio se transforma en una base quinona de color violáceo y en la forma carbaril que es incolora. Por su parte la quinona puede transformarse en calconas cis y trans que presentan un ligero color amarillo (Zamora, 2003). Esta última transformación se ve fuertemente favorecida por las temperaturas elevadas. Por otra parte, luego de la etapa pre-fermentativa las uvas son prensadas, en donde el jugo de gota se satura en oxígeno. La oxidación en etapas tempranas de la vinificación de los compuestos fenólicos que se encuentran en baja proporción en estos mostos puede ser muy relevante, incrementando su tonalidad.

### **3.2.6. Composición físico-química de los vinos**

La composición físico-química de los vinos al descube se muestra en el Cuadro 7.

Los vinos del MF no se diferenciaron significativamente en cuanto a la composición química respecto a los MT, resultados que concuerdan con los obtenidos por González-Neves et al. (2014), De Santis y Frangipane (2010), Casassa et al. (2007) y Cuénat et al. (1996).

Los vinos MC presentaron mayor contenido de alcohol respecto a los vinos MT y MF. Durante el calentamiento pre-fermentativo hay evaporación de compuestos volátiles así como también de agua, lo que puede contribuir a la concentración de los distintos compuestos presentes en el mosto, entre ellos los azúcares, que serán sustrato de las levaduras (Fischer et al., 2000). En nuestra investigación no se observaron diferencias significativas en la acidez total ni en el pH entre los vinos MC y MT. Varios autores señalan que durante la maceración pre-fermentativa en caliente se extraen mayores contenidos de ácido tartárico y málico, que disminuyen durante la fermentación hasta obtener valores que no difieren con los de una vinificación tradicional, debido a la mayor extracción de cationes y a la disminución de estos ácidos por salificación (Hidalgo 2003, Ribéreau-Gayon et al. 1998). Los vinos MC mostraron mayor acidez volátil, no significativa, respecto a los vinos de los demás tratamientos. De acuerdo a lo reportado por Hidalgo (2003) existe un aumento en la producción de ácido acético durante el calentamiento, que contribuye a un aumento en la acidez volátil de los vinos, y que es originario de la reacción de Maillard entre aminoácidos y azúcares, resultados no observados en esta investigación.

Los resultados analíticos realizados al descube mostraron que la composición de los vinos CA fue la más afectada por el tratamiento pre-fermentativo. Si bien no se observaron diferencias significativas en el contenido de alcohol del vino CA

respecto MT, el resultado analítico fue levemente superior lo cual se debe a que el etanol es uno de los principales productos del metabolismo anaerobio. Se observó una menor acidez total y mayor pH del vino CA en relación a los demás tratamientos, producto de dichos cambios. La rotura de bayas durante la maceración carbónica genera mosto que rápidamente es colonizado por microorganismos (levaduras y bacterias) proveniente tanto de la uva como del ambiente de la bodega (Hidalgo 2003, Flanzky et al. 1987). La proliferación de bacterias lácticas puede ocasionar un incremento en la acidez volátil, resultados que concuerdan con lo observado, ya que los vinos CA presentaron mayor acidez volátil en relación a los demás tratamientos. Los vinos CA presentaron un menor contenido de extracto seco, lo cual está determinado por la tecnología de elaboración. La extracción de compuestos de las uvas se ve limitada solo a la etapa pre-fermentativa y al posterior prensado determinando que el vino presente menor extracto seco. Como ya se discutió anteriormente, la fermentación alcohólica del tratamiento CA se inició 30 días después de los demás tratamientos, en donde las temperaturas ambientales eran menores, dificultando su finalización. Si bien los vinos CA presentaron una concentración de azúcares residuales superior a los demás tratamiento, se consideró que la fermentación finalizó una vez que la concentración de azúcares residuales era menor a los 2 g/L.

Cuadro 7. Composición físico-química de los vinos al descube

	Alcohol (%v/v)	Acidez total (gH <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> /l)	pH	Acidez volátil (gH <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> /l)	Extracto seco (g/l)	Azúcares residual (g/l)
MT	12,10 <sup>b</sup>	4,57 <sup>a</sup>	3,71 <sup>a</sup>	0,34 <sup>a</sup>	31,90 <sup>a</sup>	1,67 <sup>a</sup>
MF	12,15 <sup>b</sup>	4,97 <sup>a</sup>	3,69 <sup>a</sup>	0,29 <sup>a</sup>	29,07 <sup>a</sup>	1,61 <sup>a</sup>
MC	13,75 <sup>a</sup>	4,67 <sup>a</sup>	3,81 <sup>a</sup>	0,46 <sup>a</sup>	34,54 <sup>a</sup>	1,42 <sup>a</sup>
CA	12,25 <sup>b</sup>	2,59 <sup>b</sup>	4,13 <sup>b</sup>	0,58 <sup>b</sup>	21,5 <sup>b</sup>	1,84 <sup>b</sup>

Medias con distinta letra indican diferencias significativas para el Test de Tukey (p<0.05). MT es Maceración tradicional; MF es Maceración pre-fermentativa en frío; MC es Maceración pre-fermentativa en caliente; CA es Maceración carbónica.

### **3.2.7. Composición fenólica de los vinos al descube**

En el Cuadro 8 se observa la composición polifenólica de los vinos al descube.

Los vinos MF no presentaron diferencias significativas en la composición polifenólica respecto a los MT. Estos resultados no concuerdan con los obtenidos en el ensayo 2010 en donde los vinos MF presentaron un menor índice de polifenoles totales y una mayor concentración de antocianos. Sin embargo, están de acuerdo con los obtenidos por Kayoma et al. 2007, Llaudy et al. 2005, Parenti et al. 2004, Feulliat y Peyron 2003 quienes no encontraron diferencias en la composición fenólica de los vinos con maceración pre-fermentativa en frío respecto a vinos testigo. No obstante, varias investigaciones reportan un incremento en la extracción de flavanos dada por esta técnica de vinificación (Favre 2012, Zinnai et al. 2006, Zini et al. 2003) ya que durante la etapa pre-fermentativa en frío se extraen taninos incluso de semillas (Hernández-Jiménez et al. 2012, Busse-Valverde et al. 2011 y 2010). La ausencia de diferencias en la concentración de antocianos en los vinos elaborados por esta técnica en relación a vinos testigo, también ha sido reportada e incluso se han detectado concentraciones menores (González-Neves et al. 2014 y 2009, Álvares 2006, Sacchi et al. 2005).

La composición fenólica de los vinos MC se diferencia significativamente de los MT y MF en los cuatro parámetros evaluados. El índice de polifenoles totales de los vinos MC fue superior significativamente a los vinos de los restantes tratamientos evaluados y responden a la extracción realizada durante la vinificación. Lo mismo ocurrió con la concentración de antocianos registrada al descube. Estos resultados concuerdan con lo reportado por otros investigadores al realizar esta técnica de vinificación (Escudier et al 2008, Abyari et al. 2006). Las concentraciones de catequinas y proantocianidinas de los vinos termo-vinificados también fue superior a los demás tratamientos. El calentamiento pre-fermentativo ocasiona un gran incremento en el total de flavan-3-oles, en las estructuras monoméricas (catequinas y

epicatequinas) y en las poliméricas (proantocianidinas B1 y B2) de acuerdo a lo reportado por Borazan y Bozan (2013). Resultados similares fueron obtenidos Netzel et al. (2003).

Los vinos CA presentaron, al igual que en el ensayo 2010, los menores índices de polifenoles totales y concentraciones de antocianos en relación a los demás tratamientos. Si bien para este ensayo se contaba con una mejor calidad enológica de la uva y se extendió el tiempo de maceración carbónica del tratamiento CA, la composición fenólica del vino fue significativamente menor. Las concentraciones de catequinas y proantocianidinas también fueron significativamente menores a las obtenidas por los demás tratamientos, resultados que no concuerdan con los reportados por Ricardo-Da Silva et al. (1993).

Cuadro 8. Composición polifenólica de los vinos al descube.

	I.P.T. (A280)	Antocianos (mg/l Mv3- G)	Catequinas	Proantocianidinas
MT	70,0 <sup>b</sup>	1227 <sup>b</sup>	1129 <sup>b</sup>	2716 <sup>b</sup>
MF	60,2 <sup>b</sup>	1124 <sup>b</sup>	1124 <sup>b</sup>	2759 <sup>b</sup>
MC	96,5 <sup>a</sup>	1484 <sup>a</sup>	1883 <sup>a</sup>	4079 <sup>a</sup>
CA	39,0 <sup>c</sup>	253 <sup>c</sup>	674 <sup>c</sup>	1556 <sup>c</sup>

Medias con distinta letra indican diferencias significativas para el Test de Tukey ( $p < 0.05$ ). MT es Maceración tradicional; MF es Maceración pre-fermentativa en frío; MC es Maceración pre-fermentativa en caliente; CA es Maceración Carbónica; I.P.T. = Índice de polifenoles totales Mv3-G es malvidin-3-glucósido.

### **3.2.8. Color de los vinos al descube**

Los vinos MF no presentaron diferencias significativas en el color respecto a los MT en ninguno de los parámetros evaluados (Cuadro 9). Sin embargo, independientemente de la concentración de pigmentos, varios investigadores reportan un efecto significativo de esta técnica sobre los parámetros cromáticos del vino debido al incremento en la concentración de antocianos copigmentados y a que se

favorecen reacciones de condensación entre taninos y antocianos, resultados no observados al descube de los vinos de este ensayo.

Cuadro 9. Color de los vinos al descube.

	I.C.	Ton	% Am	% Ro	% Az	L*	a*	b*
MT	24,0 <sup>b</sup>	0,43 <sup>b</sup>	23,4 <sup>b</sup>	63,2 <sup>a</sup>	10,4 <sup>b</sup>	58,2	47,3	-1,78
MF	24,2 <sup>b</sup>	0,43 <sup>b</sup>	26,8 <sup>b</sup>	62,6 <sup>a</sup>	10,6 <sup>b</sup>	57,9	48,0	-1,88
MC	34,9 <sup>a</sup>	0,60 <sup>a</sup>	30,5 <sup>a</sup>	52,4 <sup>a</sup>	16,0 <sup>a</sup>	38,2	53,2	-1,39
CA	6,23 <sup>c</sup>	1,08 <sup>c</sup>	44,3 <sup>c</sup>	40,7 <sup>c</sup>	15,0 <sup>a</sup>	83,2	12,4	7,78

Medias con distinta letra indican diferencias significativas para el Test de Tukey ( $p < 0.05$ ). MT es Maceración tradicional; MF es Maceración pre-fermentativa en frío; MC es Maceración pre-fermentativa en caliente; CA es Maceración Carbónica; I.C. = Intensidad colorante; Ton. = Tonalidad; % Am = Porcentaje de amarillo; % Ro = Porcentaje de rojo; % Az = Porcentaje de azul%; L\* = Luminosidad; a\* = Coordenadas en eje rojo - verde; b\* = Coordenadas en el eje azul-amarillo.

Los vinos MC se diferenciaron significativamente de los elaborados por MT y MF, al presentar mayor intensidad colorante, tonalidad, % amarillo y % de azul. La mayor extracción de antocianos durante la maceración pre-fermentativa en caliente determinó vinos con mayores concentraciones de estos pigmentos y por lo tanto, con mayor intensidad colorante, resultados que coinciden con los obtenidos por Boulet (2003) y Rizzón et al. (1999). A su vez, esta técnica de vinificación favorece la copigmentación de los antocianos lo que resulta en vinos con un aumento en el espectro visible y un incremento en el máximo del pico principal de absorción (Abyari et al., 2006). La mayor tonalidad registrada debido a un mayor porcentaje de color amarillo en los vinos MC, podía indicar oxidación de los antocianos extraídos. También podría deberse a que el incremento de la temperatura desorganiza la estructura del agua que se encuentra hidratando a los antocianos, y como resultado los iones flavilium son liberado y rehidratados con la forma hemiacetal menos coloreada. Estos vinos presentaron también menor luminosidad (vinos más oscuros) y mayores valores de las coordenadas rojo-verde (a\*) y amarillo-azul (b\*).

Los vinos CA presentaron, al igual que en el ensayo 2010, los menores índices de polifenoles totales y concentraciones de antocianos en relación a los demás tratamientos. Si bien para este ensayo se contaba con una mejor calidad enológica de la uva y se extendió el tiempo de maceración carbónica del tratamiento CA, la composición fenólica del vino y el color fue significativamente menor. La baja concentración de antocianos determinó una baja intensidad colorante con una elevada tonalidad. El alto porcentaje de color amarillo presente en estos vinos podría estar explicado por la relación entre la extracción de flavonoles y antocianos, las oxidaciones fermentativas y el pH del vino, como fue discutido anteriormente.

### **3.2.9. Composición fenólica de los vinos al descube, 3 y 6 meses**

Durante su conservación (3 y 6 meses del descube) los vinos mostraron diferencias en el índice de polifenoles totales (Figura 32), la concentración de antocianos (Figura 33), la intensidad colorante (Figura 34) y la tonalidad (Figura 35) de acuerdo al tipo de vinificación (Figura 15). Es importante destacar que todos los tratamientos presentaron una disminución en las concentraciones de antocianos y cambios en la intensidad colorante y la tonalidad del vino durante la conservación. Durante el envejecimiento del vino, la concentración de antocianos libres va disminuyendo, sin que el color tinto del vino se pierda en la misma proporción. Esta disminución se debe a reacciones de degradación y estabilización. Las reacciones de estabilización se deben a la formación de combinaciones entre antocianos y taninos (Romero Cascales et al. 2012, Romero Cascales 2008).

Los antocianos libres son inestables y deben estar combinados con taninos u otros compuestos del vino para formar pigmentos estables, que son los responsables del color de los vinos con el tiempo. Por tanto, ocurren reacciones de condensación que están basadas en procesos de adición donde los antocianos y los taninos que pueden actuar tanto como agentes electrofílicos, moléculas que presentan una deficiencia de electrones y tienden a unirse con moléculas con exceso de electrones (Zimman y Waterhouse, 2004). Por otra parte, también se originan pigmentos nuevos

derivados de los antocianos (piranoantocianos) (Fulcrand et al., 1996) por reacción de los antocianos con compuestos de bajo peso molecular por medio de una reacción de ciclo-adición.

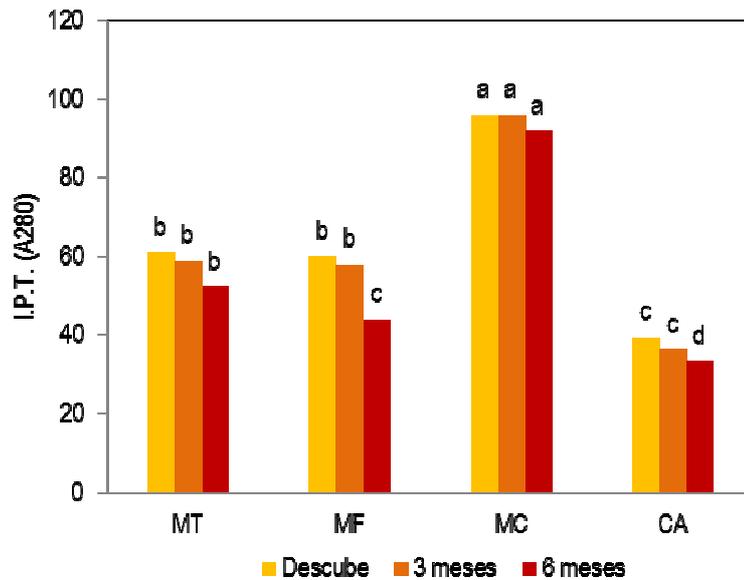


Figura 32. Evolución del índice de polifenoles totales al descube, 3 y 6 meses de conservación. Medias con distinta letra indican diferencias significativas para el Test de Tukey ( $p < 0.05$ ). MT es Maceración tradicional, MF es Maceración pre-fermentativa en frío, MC es Maceración pre-fermentativa en caliente, CA es Maceración carbónica.

Al igual que los resultados obtenidos para el ensayo correspondiente al año 2010, el índice de polifenoles totales de los vinos MF no se diferenció de los vinos testigos a los tres meses del descube, e incluso presentó un valor significativamente menor a seis meses. Sin embargo, no se observaron diferencias con los vinos MT en la concentración de antocianos durante la conservación, resultados que no concuerdan con los obtenidos para el ensayo 2010. Como consecuencia, no se observaron diferencias entre los vinos MF y MT durante la conservación, en cuanto a la intensidad colorante y la tonalidad.

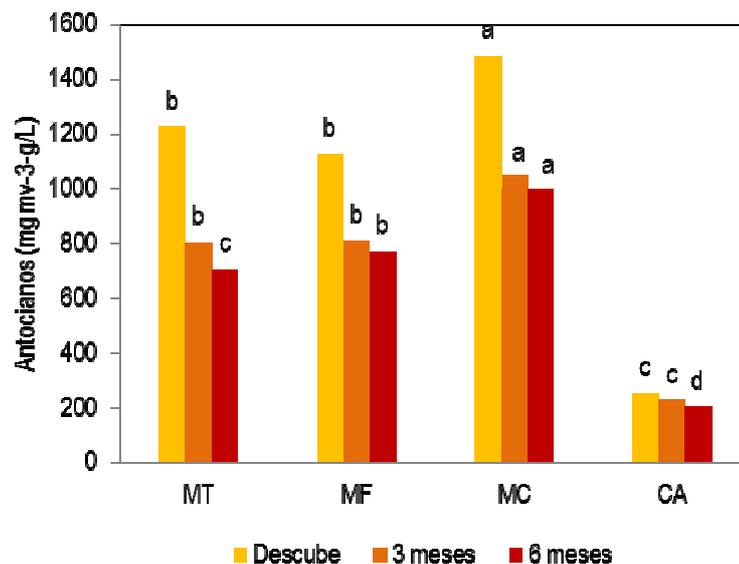


Figura 33. Evolución del contenido de antocianos (mg/l de mv3-g) al descube, 3 y 6 meses de conservación. Medias con distinta letra indican diferencias significativas para el Test de Tukey ( $p < 0.05$ ). MT es Maceración tradicional, MF es Maceración pre-fermentativa en frío, MC es Maceración pre-fermentativa en caliente, CA es Maceración carbónica.

Los vinos del tratamiento MC fueron los que presentaron el mayor índice de polifenoles totales y la mayor concentración de antocianos respecto a los demás tratamientos. Si bien ambos parámetros disminuyeron levemente durante la conservación, los contenidos fueron significativamente superiores. El Darra et al. (2013) y Boulton et al. (2002) han reportado resultados similares. Estos resultados sugieren que el color de los vinos MC es más estable en el tiempo, tanto por un incremento en la extracción de antocianos como por promover la copigmentación y la condensación con taninos, que fueron sensiblemente incrementados por esta técnica.

Los vinos CA presentaron los menores índices de polifenoles totales en las tres evaluaciones realizadas durante la conservación y concuerdan con lo observado en el ensayo anterior. Resultados similares fueron obtenidos en la concentración de antocianos. Dada la baja concentración de pigmentos, y demás compuestos fenólicos, estos vinos presentaron los menores valores de intensidad colorante

durante la conservación. A diferencia de los demás tratamientos, los vinos CA presentaron una tonalidad elevada que se mantuvo constante durante la conservación y corresponde a los fenómenos ya explicados.

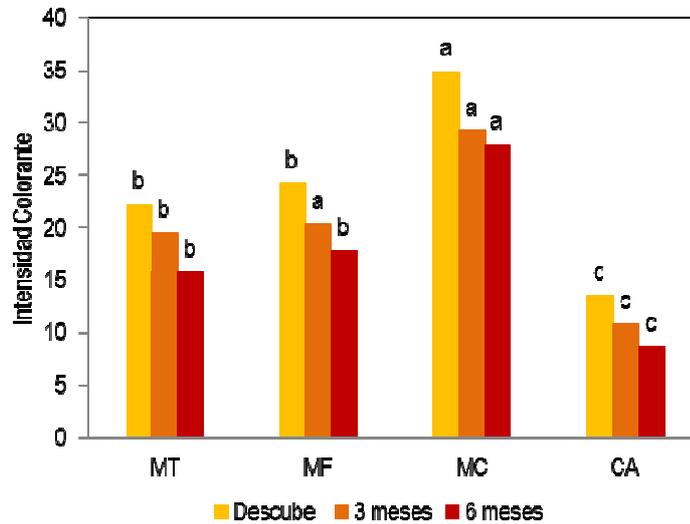


Figura 34. Evolución de la intensidad colorante al descube, 3 y 6 meses de conservación. Medias con distinta letra indican diferencias significativas para el Test de Tukey ( $p < 0.05$ ). MT es M tradicional, MF es Maceración pre-fermentativa en frío, MC es Maceración pre-fermentativa en caliente, CA es Maceración carbónica.

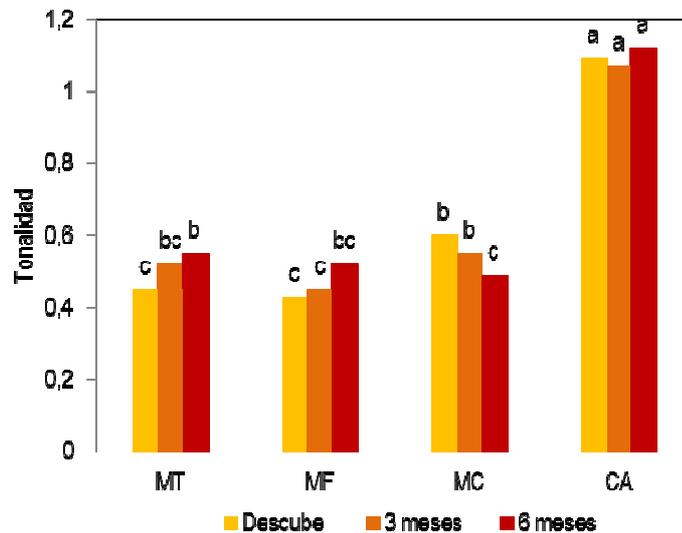


Figura 35. Evolución de la tonalidad al descube, 3 y 6 meses de conservación. MT es Maceración tradicional, MF es Maceración pre-fermentativa en frío, MC es Maceración pre-fermentativa en caliente, CA es Maceración carbónica.

### 3.2.10. Análisis sensorial de los vinos a los 6 meses

A los 6 meses del descube los vinos fueron sometidos a un Análisis Sensorial Descriptivo Cuantitativo en donde se observó que los vinos del tratamiento MF se caracterizaron por presentar mayor intensidad aromática y mayor contenido de aromas frutales. Los degustadores no lograron diferenciar los vinos MF de los testigos en color, tonalidad e intensidad colorante, resultados que coinciden con la composición polifenólica de los vinos evaluados al mismo momento.

Los vinos del tratamiento MC fueron diferenciados del testigo en cuanto a su color, intensidad colorante, volumen en boca y amargor resultados que concuerdan con los obtenidos en la composición de la uva al descube.

Los vinos obtenidos a partir de maceración carbónica fueron evaluados con menores valores de color, intensidad colorante volumen en boca y persistencia. Estos vinos no se diferenciaron de los MT en los demás parámetros sensoriales evaluados.

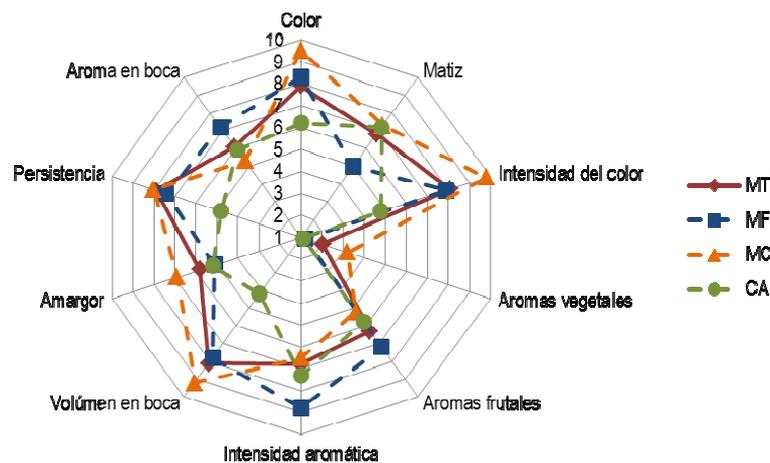


Figura 36. Descripción organoléptica de los vinos del cv. Tannat, obtenidos a partir de tres técnicas de maceración diferentes. MT es maceración tradicional, MF es maceración pre-fermentativa en frío, MC es maceración pre-fermentativa en caliente, CA es maceración carbónica.

En general, los resultados obtenidos en la evaluación sensorial de los vinos mantuvieron las diferencias observadas en la composición fenólica y físico-química de los vinos al descube.

### 3.3. ENSAYO 2012

#### 3.3.1. Composición de la uva en cosecha

En cosecha la uva presentó la menor concentración de azúcares registrada en los tres años de evaluación, significando un alcohol probable de 10.9 % v/v. La acidez total de la uva cosechada fue elevada 4.73 g H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>/L y el pH de 3,41 (Cuadro 10).

Cuadro 10. Composición de la uva al momento de cosecha

Azúcar (g/l)	Alcohol Probable (% v/v)	Acidez total (gH <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> /l)	pH
196	10,9	4,73	3,33

En cuanto a la composición fenólica de la uva, la cosecha 2012 presentó un elevado índice de polifenoles totales y antocianos extraíbles (superior al 2011), con un bajo índice de extractibilidad de antocianos respecto a la uva cosechada el mismo año (Cuadro 11). Sin embargo, el valor obtenido para el índice de extractibilidad de antocianos fue alto, lo cual implica una extracción dificultosa de los mismos. Se observaron también contenidos superiores de taninos de semilla en relación a la cosecha del año anterior.

Si bien las condiciones de maduración particulares de este año determinaron un buen potencial fenólico de la uva, la baja concentración de azúcares y la elevada acidez total, limitaron la calidad global del vino y su potencial para la crianza. A su vez, es importante destacar que a cosecha el viñedo presentó un elevado porcentaje de podredumbre de racimo, y si bien la uva encubada fue seleccionada por sanidad, es probable que se hayan encubado racimos con infecciones latentes de *Botrytis* sp. que pudieron afectar la composición del vino.

Cuadro 11. Composición fenólica de la uva al momento de cosecha

A280	Antocianos Totales (ApH1)	Antocianos Extraíbles (ApH3,2)	EA (%)	dpell	dTpep	dpell (%)	Mp (%)
81,2	2354	1117	52,5	44,7	36,5	55,1	44,9

IPT es índice de polifenoles totales, EA es índice de extractibilidad de antocianos, dpell es contenido de taninos de hollejos, dTpep es contenido de taninos de semillas, Mp es contenido de taninos de hollejos expresado en porcentaje.

### **3.3.2. Desarrollo de la fermentación**

La fermentación alcohólica se llevó a cabo dentro de las temperaturas preestablecidas al igual que en los ensayos anteriores, sin ocurrir paradas de fermentación (Figura 37 y 38).

Los mostos MF presentaron una cinética de fermentación más lenta que los MT, observando una disminución de su densidad durante la etapa pre-fermentativa, resultados similares a los obtenidos en el ensayo 2010. Durante el período pre-fermentativo, la densidad del mosto disminuyó de 1087 a 1082 g/L. La fermentación alcohólica llevada a cabo por levaduras seleccionadas no se vio afectada al prolongar la fase pre-fermentativa.

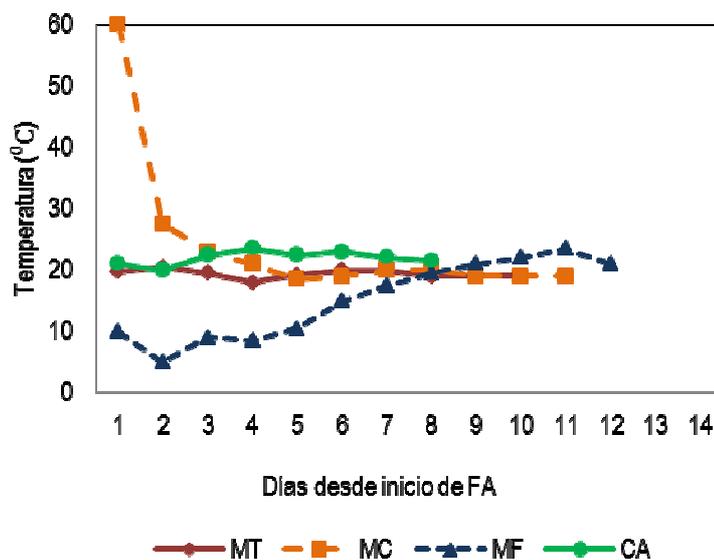


Figura 37. Temperatura del mosto (°C) durante la maceración fermentativa según tratamiento. MT es Maceración tradicional; MF es Maceración pre-fermentativa en frío; MC es Maceración pre-fermentativa en caliente; CA es Maceración carbónica; FA es fermentación alcohólica.

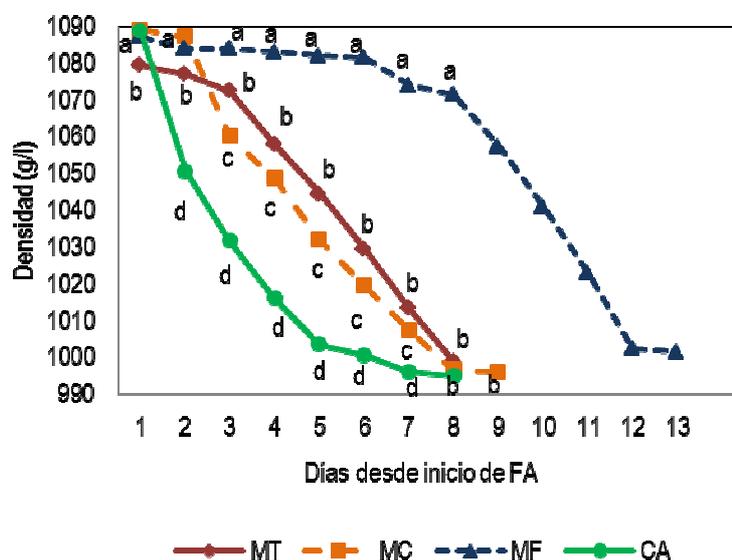


Figura 38. Evolución de la densidad (g/l) durante la maceración fermentativa según tratamiento. Medias con distinta letra indican diferencias significativas para el Test de Tukey ( $p < 0.05$ ). MT es Maceración tradicional; MF es Maceración pre-fermentativa en frío; MC es Maceración pre-fermentativa en caliente; CA es Maceración carbónica; FA es fermentación alcohólica.

Luego del tratamiento térmico en caliente, los mostos MC presentaron una cinética de fermentación acelerada respecto a los de MT (Figura 37), al igual que lo observado en el ensayo 2011. Sin embargo, ambos tratamientos finalizaron la fermentación alcohólica al día 8 desde el encubado.

Luego de la maceración carbónica, los mostos CA fueron sometidos a una maceración fermentativa que se llevó a cabo a temperaturas entre 20 y 25°C. La densidad de los mostos CA no se diferenció de la del testigo al inicio de la fermentación alcohólica. Los mostos CA fermentaron más rápidamente que los mostos de los demás tratamientos, terminando la fermentación alcohólica un día antes que el MT. Este incremento en la velocidad de fermentación se observó en los tratamientos con maceración carbónica de los ensayos anteriores y responde a la mayor disponibilidad de nutrientes para el desarrollo microbiano, que se generan con este tratamiento.

### **3.3.3. Evolución del índice de polifenoles totales**

Al igual que lo observado en los ensayos anteriores, los mostos de los tratamientos evaluados presentaron diferencias en el perfil de extracción de polifenoles totales durante la maceración (Figura 39).

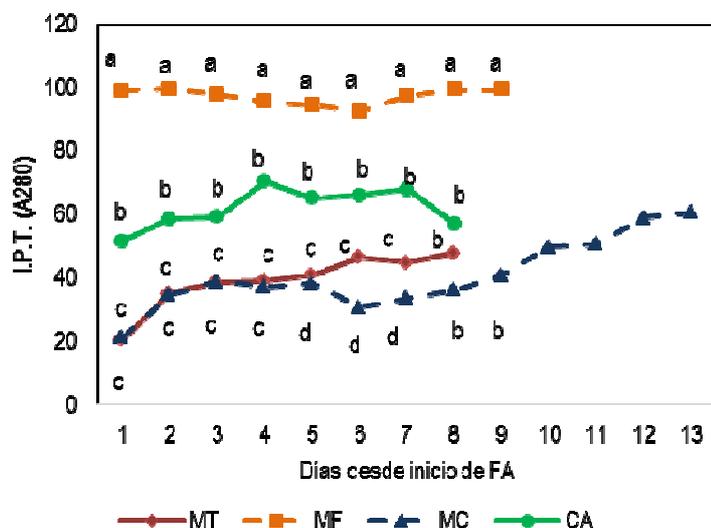


Figura 39. Evolución del I.P.T. (índice de polifenoles totales) durante la maceración fermentativa según tratamiento. Medias con distinta letra indican diferencias significativas para el Test de Tukey ( $p < 0.05$ ). MT es Maceración tradicional; MF es Maceración pre-fermentativa en frío; MC es Maceración pre-fermentativa en caliente; CA es Maceración carbónica; FA es fermentación alcohólica.

La extracción de compuestos fenólicos totales por los mostos MT y MF fue similar a la reportada en los ensayos anteriores (Figura 38). Sin embargo, para este ensayo en particular, durante la etapa pre-fermentativa del tratamiento MF se observó una extracción importante de polifenoles que no se diferenció de la extracción registrada por los mostos MT. Durante la maceración fermentativa del tratamiento MF, la extracción de polifenoles se incrementó logrando valores superiores a los máximos obtenidos por los mostos MT, resultados no observado en los ensayos anteriores. Estas diferencias en la extracción de polifenoles por los mostos MF han sido verificadas en numerosos ensayos. Cabe destacar que la uva encubada en este ensayo presentó contenidos mayores de polifenoles totales respecto a la encubada en los ensayos anteriores, pero con un estado sanitario comprometido.

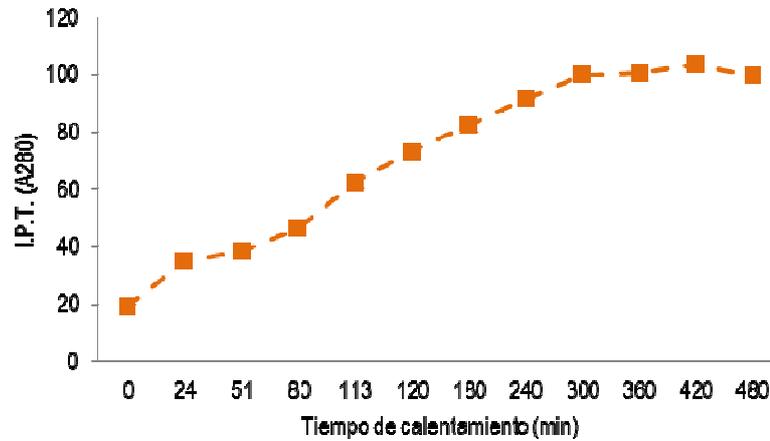


Figura 40. Evolución del I.P.T. (índice de polifenoles totales) durante la maceración pre-fermentativa del tratamiento maceración pre-fermentativa en caliente (MC).

Los mostos MC mostraron los mayores valores de polifenoles totales durante la maceración fermentativa (Figura 39) como consecuencia del calentamiento pre-fermentativo (Figura 40). Durante el tratamiento térmico se incrementó rápidamente la extracción de polifenoles a medida que aumentó la temperatura del mosto hasta alcanzar los 60 °C, logrando un valor elevado a las dos horas de calentamiento, que luego se mantuvo durante las cuatro horas restantes de maceración pre-fermentativa. No se observó una disminución del índice de polifenoles totales durante la maceración fermentativa. Estos resultados se corresponden con los observados en el ensayo 2011.

El mosto encubado a partir de la uva proveniente de maceración carbónica presentó un índice de polifenoles totales inicial superior al tratamiento testigo (Figura 39), al igual que se observó en los mostos CA encubados de los ensayos anteriores (2010 y 2011). Sin embargo, el hecho de continuar la maceración carbónica con una maceración fermentativa, determinó una evolución distinta de este índice respecto a lo observado en los ensayos anteriores. Se registró un incremento en la extracción de polifenoles totales hasta un máximo alcanzado a los cuatro días desde inicio de fermentación alcohólica, para luego disminuir. Esta cinética de extracción se corresponde con una vinificación tradicional, si bien los valores de los índices se

mantuvieron por encima de los obtenidos por MT. Las bayas que sufrieron un proceso de maceración carbónica presentan hollejos más débiles debido a la degradación de las pectinas y a la presión de CO<sub>2</sub> ejercida desde el interior de la baya (Tesniere y Flanzky, 2011). Al continuar con un proceso fermentativo, el aumento de la temperatura y la presencia de alcohol favorecen la extracción, resultados que explican las diferencias obtenidas con MT.

### 3.3.4. Evolución del contenido de antocianos

Al igual que lo observado en los ensayos anteriores, se observó diferencias en las cinéticas de extracción de antocianos de acuerdo a los tratamientos evaluados (Figura 41).

La cinética de extracción de antocianos de los mostos MT registrada para los este ensayo se corresponde con la observada para los años anteriores.

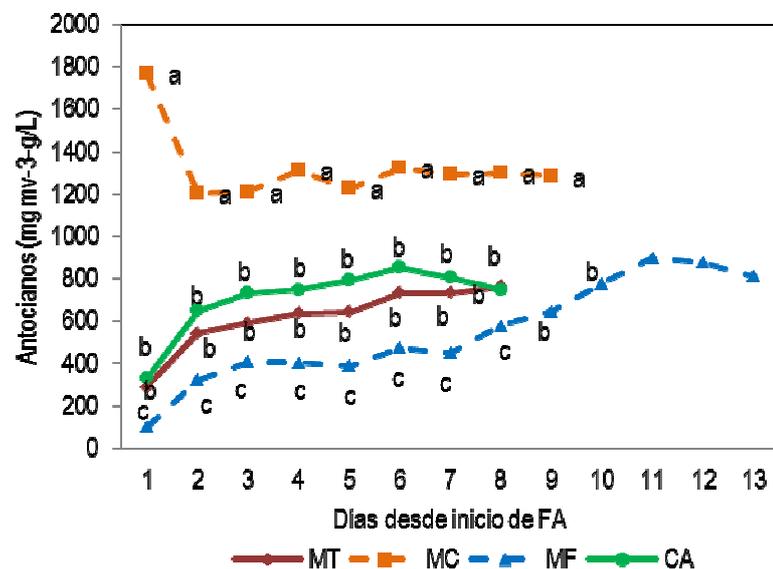


Figura 41. Evolución del contenido de antocianos durante la maceración fermentativa según tratamiento. Medias con distinta letra indican diferencias significativas para el Test de Tukey ( $p < 0.05$ ). MT es Maceración tradicional; MF es Maceración pre-fermentativa en frío; MC es Maceración pre-fermentativa en caliente; CA es Maceración carbónica. Mv3-G es malvidin-3-glucósido; FA es fermentación alcohólica.

Los mostos MF correspondiente a este ensayo presentaron un desfase en la extracción de antocianos durante la etapa pre-fermentativa, la cual se incrementó una vez que el mosto comenzó la fermentación alcohólica, al igual que lo reportado en los ensayos anteriores (Figura 40). Sin embargo, a diferencia de lo registrado anteriormente, la máxima extracción de antocianos registrada se obtuvo el día 11 desde encubado, siendo valores significativamente superiores a los obtenidos por los mostos testigo.

Al igual que lo observado para el ensayo 2011, los mostos MC, iniciaron la maceración fermentativa con contenidos muy elevados de antocianos debido al calentamiento pre-fermentativo (Figura 40). Si bien estos contenidos disminuyeron durante la maceración fermentativa, fueron significativamente superiores a los obtenidos por los demás tratamientos. A diferencia de lo registrado para el ensayo 2011, se observó un incremento en la extracción de antocianos hasta la cuarta hora de maceración pre-fermentativa a 60 °C (Figura 42).

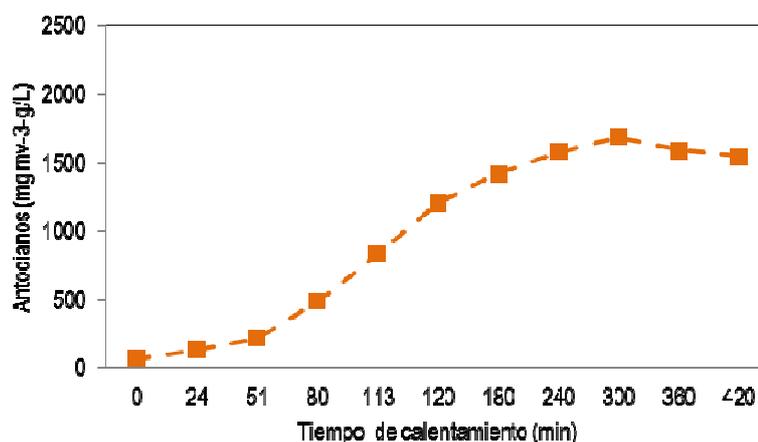


Figura 42. Evolución del contenido de antocianos durante la etapa pre-fermentativa del tratamiento de maceración pre-fermentativa en caliente (MC). Mv3-G es malvidin-3-glucósido.

Al encubado no se observaron diferencias significativas en la concentración de antocianos de los vinos CA respecto a MT (Figura 40). La maceración carbónica de 15 días no logró un incremento significativo en la difusión de antocianos desde la

pulpa hacia los hollejos, si bien visiblemente la pulpa presentaba color. Durante la maceración fermentativa, se observó un incremento en la concentración de antocianos, obteniendo valores no significativos pero superiores a los registrados para MT. Estas diferencias se corresponden con las obtenidas en polifenoles totales y su explicación se debe los mismos fenómenos.

### 3.3.5. Intensidad colorante y tonalidad

La evolución de la intensidad colorante y la tonalidad fue diferente de acuerdo a la vinificación realizada (Figura 43 y 44).

Los mostos de los tratamientos MT, MF y MC presentaron la misma evolución en la intensidad colorante y tonalidad durante la maceración fermentativa que la reportada para los mismos tratamientos en el ensayo 2011, si bien en este ensayo no se registraron diferencias significativas en la tonalidad.

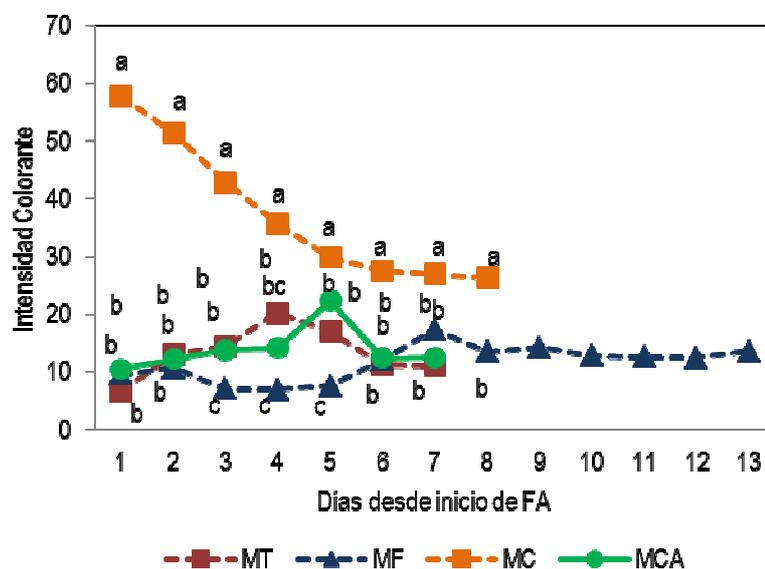


Figura 43. Evolución de la intensidad colorante durante la maceración fermentativa según tratamiento.

Medias con distinta letra indican diferencias significativas para el Test de Tukey ( $p < 0.05$ ). MT es Maceración tradicional; MF es Maceración pre-fermentativa en frío; MC es Maceración pre-fermentativa en caliente; CA es Maceración carbónica; FA es fermentación alcohólica.

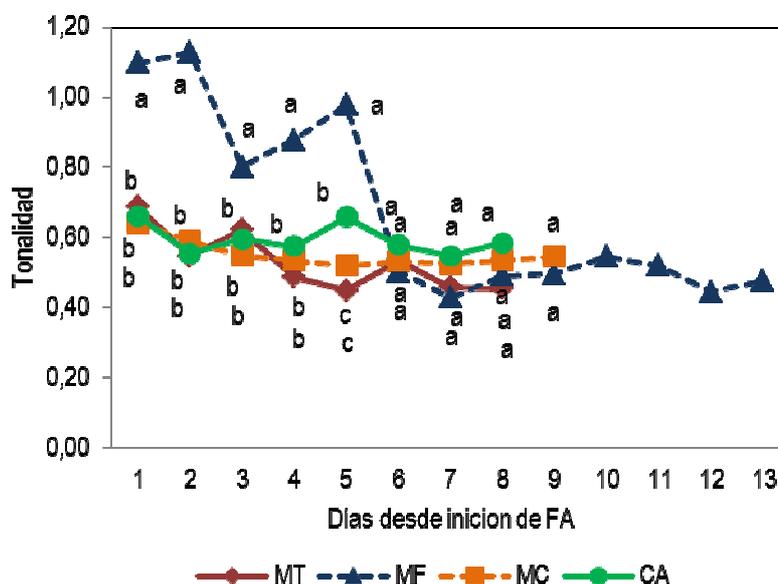


Figura 44 Evolución de la tonalidad durante la maceración fermentativa según tratamiento. Medias con distinta letra indican diferencias significativas para el Test de Tukey ( $p < 0.05$ ). MT es Maceración tradicional; MF es Maceración pre-fermentativa en frío; MC es Maceración pre-fermentativa en caliente; CA es Maceración Carbónica; FA es fermentación alcohólica.

Los mostos CA presentaron una evolución de la intensidad colorante similar a la observada por el tratamiento MT, obteniendo el valor máximo al quinto día de maceración. Durante la maceración fermentativa, la intensidad colorante de los mostos CA no se diferenció significativamente de la obtenida por los mostos MT, si bien este presentaba menor concentración en antocianos. La evolución de la tonalidad de los CA durante la maceración fermentativa, no difirió significativamente de la observada en los mostos MT y MF. A diferencia de lo observado en los tratamientos con maceración carbónica de los ensayos anteriores, el tratamiento CA 2012 incremento la extracción de pigmentos y promovió sus interacciones, obteniendo una evolución de la intensidad colorante y tonalidad que no difirió del tratamiento testigo. Esto se debe a la maceración fermentativa realizada luego de la etapa anaerobia (Flanzy et al. 1987).

### **3.3.6. Composición físico-química de los vinos**

La composición físico-química de los vinos al descube se muestra en la Cuadro 12.

Al igual que lo observado en los ensayos anteriores, los vinos del MF no se diferenciaron significativamente en cuanto a la composición química respecto a los MT.

Los resultados analíticos de los vinos MC al descube concuerdan en general con los obtenidos para este mismo tratamiento en el ensayo 2011. Los vinos MC se diferenciaron de los demás tratamientos al presentar mayor contenido de alcohol y pH. Las diferencias encontradas en el pH pueden estar dadas por una mayor extracción de ácidos que no fue compensada por las pérdidas de los mismos por salificación (Hidalgo 2003, Ribéreau-Gayon et al. 1998).

Cuadro 12. Composición físico-química de los vinos al descube.

	Alcohol (% v/v)	Acidez total (gH <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> /l)	pH	Acidez Volátil (gH <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> /l)	Extracto Seco	Azúcar residual (g/)
MT	10,3 <sup>a</sup>	4,50 <sup>a</sup>	4,21 <sup>a</sup>	0,36 <sup>a</sup>	29,9 <sup>a</sup>	1,90 <sup>ab</sup>
MF	10,5 <sup>a</sup>	4,65 <sup>a</sup>	4,22 <sup>a</sup>	0,38 <sup>a</sup>	32,4 <sup>a</sup>	2,08 <sup>b</sup>
MC	11,5 <sup>b</sup>	4,45 <sup>a</sup>	4,47 <sup>b</sup>	0,32 <sup>a</sup>	36,7 <sup>a</sup>	1,88 <sup>ab</sup>
CA	10,4 <sup>a</sup>	3,75 <sup>b</sup>	4,14 <sup>a</sup>	0,77 <sup>b</sup>	29,9 <sup>a</sup>	1,56 <sup>a</sup>

Medias con distinta letra indican diferencias significativas para el Test de Tukey (p<0.05). MT es Maceración tradicional; MF es Maceración pre-fermentativa en frío; MC es Maceración pre-fermentativa en caliente; CA es Maceración carbónica.

La composición de los vinos CA no difirió en general de la de los demás tratamiento. No se observaron diferencias significativas en el contenido de alcohol,

en el pH, extracto seco y concentración de azúcares reductores del vino CA respecto al MT. La menor acidez total del vino CA se debe al metabolismo del ácido málico que ocurre durante la etapa pre-fermentativa, como ya fue explicado. Los vinos CA presentaron una mayor acidez volátil dada por el desarrollo de microorganismos sobre el mosto originario de las bayas aplastadas durante el proceso pre-fermentativo.

En general todos los vinos presentaron valores elevados de pH lo cual está determinado principalmente por la calidad de la materia prima encubada. Por otra parte, como se mencionó anteriormente, el estado sanitario de la uva encubada para este año en particular, así como también las posibles contaminaciones con microorganismos de otras cubas en fermentación determinaron una elevada acidez volátil de los vinos, independientemente del tratamiento evaluado.

### **3.3.7. Composición fenólica de los vinos al descube**

Para todos los tratamientos evaluados en este ensayo, la composición del vino al descube se corresponde con las cinéticas de extracción de los compuestos durante la vinificación (Cuadro 13).

Al descube, los vinos MF presentaron mayor índice de polifenoles totales y concentración de antocianos que los vinos MT, indicando un efecto positivo de la técnica el cual concuerda con lo reportado para el ensayo 2010, pero no en el ensayo 2011. El aumento del contenido de catequinas y proantocianidinas podría ser atribuido al incremento del tiempo de contacto con los hollejos ya que la maceración pre-fermentativa fue continuada por una vinificación clásica en tinto (González-Neves et al., 2014). Sin embargo, Busse-Valverde et al. (2010) indicaron que los incrementos en el contenido de taninos de los vinos elaborados por tratamientos con maceración pre-fermentativa en frío se debieron principalmente a un aumento de la proantocianidinas de semillas, que también se extrajeron en ausencia de etanol. Por otra parte, el aumento en el contenido de catequinas podría deberse a la extracción

diferencial de estas compuestos en medio acuoso durante la etapa pre-fermentación (Álvarez et al., 2006).

Al igual que lo observado en los resultados 2011, los vinos MC presentaron mayores índices de polifenoles totales, concentración de antocianos, catequinas y proantocianidinas.

Cuadro 13. Composición polifenólica de los vinos al descube

	I.P.T. (A280)	Antocianos (mg/l Mv3- G)	Catequinas	Proantocianidinas
MT	47,9 <sup>c</sup>	764 <sup>c</sup>	1207 <sup>c</sup>	1677 <sup>d</sup>
MF	60,6 <sup>b</sup>	810 <sup>b</sup>	1419 <sup>bc</sup>	2063 <sup>c</sup>
MC	99,4 <sup>a</sup>	1283 <sup>a</sup>	2700 <sup>a</sup>	3996 <sup>a</sup>
CA	56,9 <sup>cb</sup>	748 <sup>c</sup>	1671 <sup>b</sup>	2450 <sup>b</sup>

Medias con distinta letra indican diferencias significativas para el Test de Tukey ( $p < 0.05$ ). MT es Maceración tradicional; MF es Maceración pre-fermentativa en frío; MC es Maceración pre-fermentativa en caliente; CA es Maceración carbónica; I.P.T. = Índice de polifenoles totales; Mv3-G es malvidin-3-glucósido.

Los vinos CA no se diferenciaron de los vinos testigo en el índice de polifenoles totales y en la concentración de antocianos. Sin embargo, presentaron mayor concentración de catequinas y proantocianidinas. Estos resultados no concuerdan con los reportados por Sun et al. (2001) quienes plantean que los vinos elaborados por maceración carbónica estricta presentan mayor contenido de proantocianidinas. En el caso del tratamiento CA, la mayor concentración de proantocianidas registradas en este ensayo pueden deberse al efecto conjunto de la maceración carbónica con la maceración fermentativa. Los taninos se extraen desde las primeras etapas de la maceración (Kennedy 2008, González-Neves et al. 2005), lo cual puede verse favorecido si las bayas encubadas sufrieron una maceración anaerobia previa. Los fenoles contenidos principalmente en los hollejos (antocianos, flavonoles y unidades de epigallocatequina dentro de las catequinas), se extraen en las primeras etapas de la maceración. En tanto, aquellos compuestos contenidos en las

semillas (ácido gálica, catequinas y galatos de epicatequina) son extraídos gradualmente (Koyama et al., 2007), si bien pueden extraerse pequeñas proporciones desde el inicio de la maceración (Busse-Valverde et al., 2011).

### **3.3.8. Color de los vinos al descube**

En la tabla 2 se observa el color y la composición polifenólica de los vinos al descube. Los vinos MF presentaron diferencias significativas en el color (intensidad colorante, tonalidad, % rojo, % amarillo y % de azul) respecto a los vinos MT. El medio acuoso de esta etapa favorece la disolución prioritaria de la malvidina-3-glucósido frente a las cuatro formas antociánicas restantes, debido a que ésta es la menos polar (Gómez-Míguez et al. 2007, Álvarez et al 2006). La malvidina presenta un pico máximo de absorción a longitudes de onda superiores a las demás antocianidinas incrementando la intensidad colorante y aportando tonalidades azuladas. A su vez, la maceración pre-fermentativa promueve la copigmentación, al presentar altos porcentajes de color copigmentado, que se mantiene durante la fermentación alcohólica, en tanto durante una maceración clásica el color copigmentado disminuye de manera significativa (Ortega-Heras et al. 2012, González-Neves et al. 2009 y 2010, Casassa et al. 2007). Una extracción preferencial de malvidina-3-G y el mayor porcentaje de color copigmentado son determinantes del color registrado en los vinos elaborados por ésta técnica. No se observaron diferencias significativas entre los vinos MF y MT en las coordenadas Cielab L\*, a\* y b\*.

Cuadro 14. Color de los vinos al descube

	I.C.	Ton	% Am	% Ro	% Az	L*	a*	b*
MT	11,0 <sup>c</sup>	0,45 <sup>b</sup>	28,2 <sup>a</sup>	62,2 <sup>a</sup>	8,13 <sup>c</sup>	68,2 <sup>b</sup>	18,7 <sup>b</sup>	0,21 <sup>b</sup>
MF	13,5 <sup>b</sup>	0,48 <sup>b</sup>	28,8 <sup>a</sup>	60,7 <sup>a</sup>	10,4 <sup>b</sup>	65,3 <sup>b</sup>	20,1 <sup>b</sup>	0,25 <sup>b</sup>
MC	26,3 <sup>a</sup>	0,56 <sup>a</sup>	30,4 <sup>a</sup>	55,8 <sup>a</sup>	13,8 <sup>a</sup>	54,3 <sup>a</sup>	27,7 <sup>a</sup>	-1,02 <sup>a</sup>
CA	12,5 <sup>b</sup>	0,58 <sup>a</sup>	31,9 <sup>a</sup>	54,8 <sup>a</sup>	14,1 <sup>a</sup>	55,8 <sup>a</sup>	22,3 <sup>ab</sup>	-0,70 <sup>a</sup>

Medias con distinta letra indican diferencias significativas para el Test de Tukey ( $p < 0.05$ ). MT es Maceración tradicional; MF es Maceración pre-fermentativa en frío; MC es Maceración pre-fermentativa en caliente; CA es Maceración carbónica; I.C. = Intensidad colorante; Ton. = Tonalidad; % Am = Porcentaje de amarillo; % Ro = Porcentaje de rojo; % Az = Porcentaje de azul%; L\* = Luminosidad; a\* = Coordenadas en eje rojo - verde; b\* = Coordenadas en el eje azul-amarillo.

Los vinos MC presentaron diferencias significativas en todos los parámetros cromáticos evaluados respecto a los vinos MT. Estos resultados concuerdan con los obtenidos en el ensayo 2011.

Los vinos CA presentaron diferencias significativas en la intensidad colorante, tonalidad, porcentaje de azul, luminosidad y cromaticidad en el azul respecto a los vinos MT. Estos resultados responden a un efecto conjunto entre la maceración carbónica y la maceración fermentativa. En primer lugar, ocurre una extracción de antocianos pre-fermentativa donde se incrementa el color copigmentado y polimerizado. Posteriormente, durante la maceración fermentativa se incrementa la extracción de los antocianos a partir de hollejos debilitados por el metabolismo anaerobio de la baya, los cuales también reaccionan formando complejos más estables que incrementan el color (Harbertson et al., 2012, Bautista-Ortín 2008, Cheynier et al. 2006, Morata et al. 2003). Al igual que en los tratamientos de los ensayos anteriores los vinos CA presentaron mayor tonalidad que los vinos MT.

### **3.3.9. Composición fenólica de los vinos al descube y 3 meses**

Al encubado y a los 3 meses de conservación los vinos correspondientes a los tratamientos MT, MF y MC mostraron diferencias en el índice de polifenoles

totales (Figura 32) y la concentración de antocianos (Figura 33) de acuerdo al tipo de vinificación (Figura 15).

Los vinos MF mostraron mayor índice de polifenoles totales respecto a los MT, resultados que se mantuvieron a los seis meses. Si bien no se observaron diferencias significativas en la concentración de antocianos de los vinos MF respecto a los MT al descube, los resultados fueron significativamente superiores a los tres meses.

Los valores del índice de polifenoles totales y la concentración de antocianos en los vinos MC fueron significativamente superiores a los registrados en los demás tratamientos.

En términos generales los resultados obtenidos en la conservación de los vinos de este ensayo concuerdan con lo reportado por los ensayos anteriores.

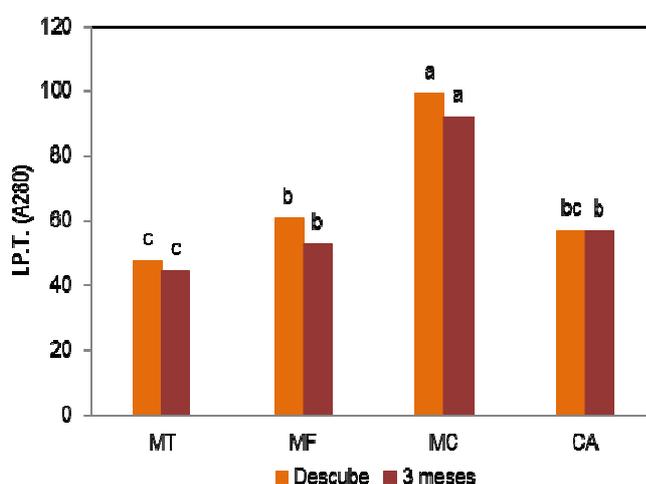


Figura 45. Evolución del índice de polifenoles totales al descube y 3 meses de conservación.

Medias con distinta letra indican diferencias significativas para el Test de Tukey ( $p < 0.05$ ).

MT es Maceración tradicional, MF es Maceración pre-fermentativa en frío, MC es Maceración pre-fermentativa en caliente, CA es Maceración carbónica.

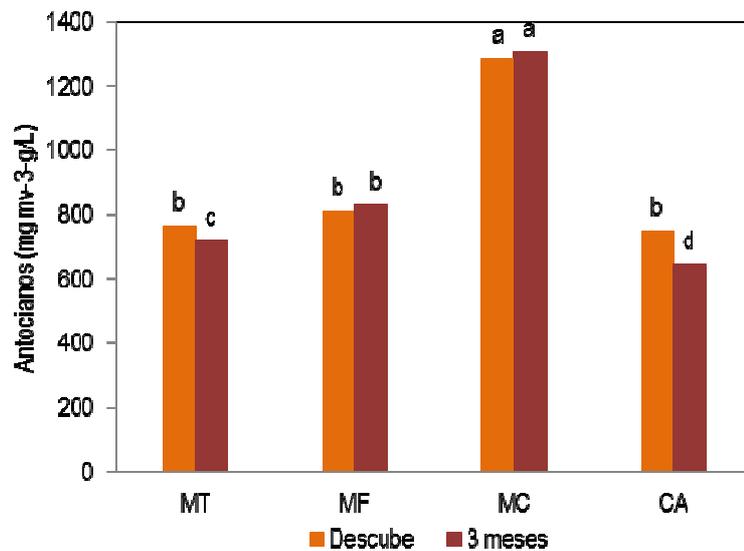


Figura 46. Evolución del contenido de antocianos (mg/l de mv3-g) al descube y 3 meses de conservación. Medias con distinta letra indican diferencias significativas para el Test de Tukey ( $p < 0.05$ ). MT es Maceración tradicional, MF es Maceración pre-fermentativa en frío, MC es Maceración pre-fermentativa en caliente, CA es Maceración carbónica.

Los vinos CA presentaron mayor índice de polifenoles totales durante la conservación respecto a los vinos MT, sin observarse diferencias entre los valores al descube y a los tres meses. La concentración de antocianos disminuyó durante la conservación de los vinos CA quedando con valores inferiores a los obtenidos por los vinos MT. La evolución de estos compuestos responde a los fenómenos descritos anteriormente.

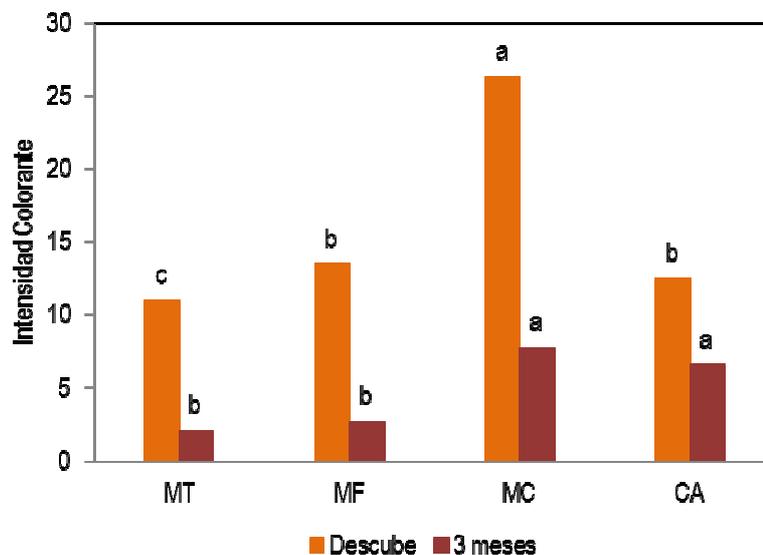


Figura 47. Evolución de la intensidad colorante al descube y 3 meses de conservación. Medias con distinta letra indican diferencias significativas para el Test de Tukey ( $p < 0.05$ ). MT es Maceración tradicional, MF es Maceración pre-fermentativa en frío, MC es Maceración pre-fermentativa en caliente, CA es Maceración carbónica.

En cuanto al color del vino, independientemente de la vinificación, todos los tratamientos evaluados presentaron una caída brusca a los tres meses del descube, siendo esta muy superior a la disminución en la concentración de antocianos. Estos resultados pueden estar explicados por el pH de los vinos ya que el color de los antocianos en disolución es dependiente del medio en el que se encuentren y los pH registrados para esta vendimia fueron elevados.

El equilibrio entre las distintas formas de los antocianos está regulado por el pH del medio. Cuando el pH del medio es bajo, la molécula se encuentra en forma de catión flavilium de color rojo vivo. A medida que el pH se eleva, los antocianos se transforman en una base quinoidal (AO) de color azulado, variando el color desde el malva al azul, e incluso amarillo, a valores de pH superiores a 7. Todas estas reacciones son reversibles (Zamora 2003, Ribéreau-Gayon et al. 1998). En medio acuoso, y al pH del vino (3-4), los cationes flavilium están también en equilibrio, a través de fenómenos de transferencia de protones y de reacciones de hidratación, con

compuestos de adición incoloros (hemiacetal). El hemiacetal, en equilibrio con su isómero abierto (cis-chalcona), es en realidad la forma más abundante de la malvidina-3-glucósido en un medio acuoso a pH entre 2 y 7. En vinos con un pH elevado el color tenderá a ser menos intenso mientras que a pH más ácidos las tonalidades lo harán hacia otras más rojizas (Romero-Cascales, 2008).

El pH también influye en los antocianos copigmentados, ya que el incremento en la intensidad y estabilidad del color es debido a un cambio en el equilibrio de la hidratación hacia formas flavilium, que luego son atrapadas por los cofactores, o hacia bases quinonas en los complejos antociano-copigmento (Romero-Cascales, 2008).

Cabe resaltar que en los vinos CA la disminución de la intensidad colorante y el aumento en la tonalidad fue atenuada por la técnica de vinificación, efecto que no se observó en los demás tratamientos. Este resultado puede estar determinado por la promoción de reacciones de condensación entre taninos y antocianos que comenzaron desde la etapa pre-fermentativa y que son insensibles a la variación del pH.

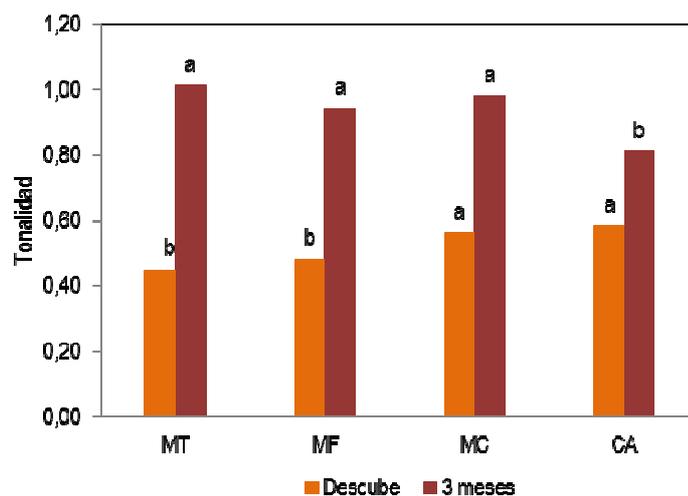


Figura 48. Evolución de la tonalidad al descube y 3 meses de conservación. MT es Maceración tradicional, MF es Maceración pre-fermentativa en frío, MC es Maceración pre-fermentativa en caliente, CA es Maceración carbónica.

### **3.4. SÍNTESIS DEL EFECTO DE LA TÉCNICA DE VINIFICACIÓN EN LA COMPOSICIÓN DEL VINO**

#### **3.4.1. Maceración pre-fermentativa en frío**

La composición química de los vinos MF evaluados en los ensayos 2010, 2011 y 2012 se presenta en la Figura 49. Los resultados se muestran como porcentaje respecto al testigo.

Los vinos MF presentaron un contenido de alcohol levemente superior respecto (menor al 5%) a los vinos MT, para los tres años de ensayo. Sin embargo en ninguno de los ensayos esa diferencia fue significativa concordando con lo reportado por Casassa et al. (2015), González-Neves et al. (2014) y Favre (2012).

La acidez total y el pH de los vinos MF no mostraron diferencias significativas en los diferentes ensayos realizados, sin embargo, en dos de los años evaluados la acidez total fue levemente superior al testigo.

En los ensayos 2010 y 2012 los vinos MF mostraron una acidez volátil superior a la registrada en los vinos testigo. Si bien solo para el ensayo 2010 este valor fue significativo, en ambos ensayos se registró una disminución de la densidad durante la etapa pre-fermentativa. Esto puede ser atribuido al desarrollo que levaduras criófilas que pudieron contribuir a incrementar la acidez volátil del vino tal como es reportado por Casassa et al. (2008 y 2007).

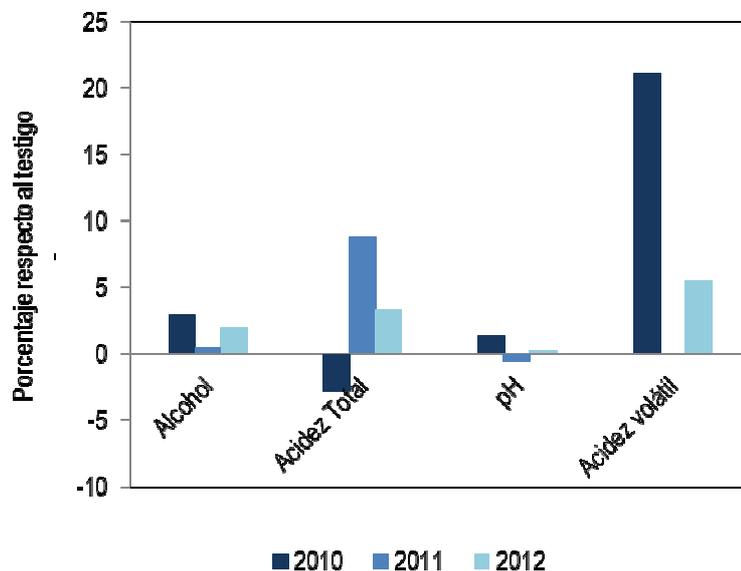


Figura 49. Efecto de la maceración pre-fermentativa en frío sobre la composición química del vino medido como porcentaje respecto al testigo.

En los vinos MF 2010 y 2011 no se observó efecto de la técnica de vinificación en el índice de polifenoles totales del vino, sin embargo este fue significativo en el vino MF2012. Este incremento puede deberse a un aumento en la extracción de taninos (catequinas y proantocianidinas) que fueron altamente significativos en el mismo vino. Varios autores han reportado que durante la etapa pre-fermentativa se extraen taninos tanto de semillas como de hollejos (Hernández-Jiménez et al. 2012, Busse-Valverde et al. 2011 y 2010). Sin embargo estos resultados no se observaron en los vinos MF2011.

Si bien la técnica persigue la extracción prioritaria de antocianos, se observó un efecto positivo de la técnica en dos de los tres años evaluados, aunque no fue significativo. Los resultados reportados sobre el efecto de esta técnica de vinificación en la concentración de antocianos de los vinos son controversiales como ya fue discutido.

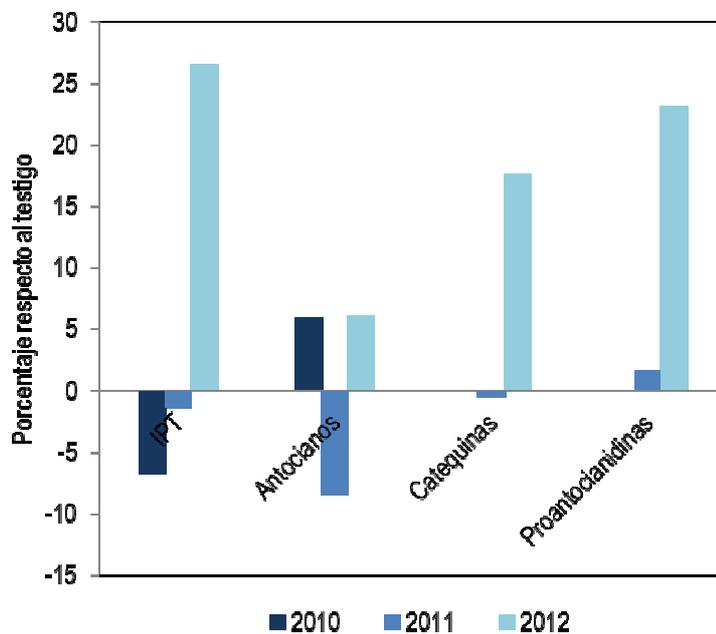


Figura 50. Efecto de la maceración pre-fermentativa en frío sobre la composición fenólica del vino medido como porcentaje respecto al testigo.

En general los vinos MF 2011 y 2012 presentaron mayor intensidad colorante, porcentaje de amarillo, porcentaje de azul,  $a^*$  y  $b^*$  y menor porcentaje de rojo y  $L^*$ , expresados como porcentajes respecto al testigo (Figura 51). Solo los vinos MF2012 presentaron un incremento en la tonalidad. Sin embargo, el impacto de la técnica de vinificación fue diferente según el año. Los vinos MF2012 mostraron un efecto mayor de la maceración pre-fermentativa en frío en el color respecto a los MF2011, si bien solo la intensidad colorante y porcentaje de azul fueron significativos.

En la maceración pre-fermentativa en frío se afectó las características cromática pero no el contenido de antocianos mientras que el efecto sobre el contenido de taninos y polifenoles totales fue diferente en cada ensayo y está condicionado por la riqueza fenólica de la uva (González-Neves et al. 2013 y 2012, Gambacorta et al. 2011, Budic-Leto et al. 2008, Puertas et al. 2008, Pérez-Lamela et

al. 2007). La relación entre el efecto de esta técnica de vinificación y la madurez fenólica de la uva son contradictorios, de acuerdo a los resultados reportados. Algunos autores han planteado la hipótesis de una mejora de extracción fenólica con uvas inmaduras o de bajo potencial fenólico, mientras que otros indican exactamente lo contrario. Los defensores del aumento de la extracción fenólica de los vinos MF argumentan que es deficiente la extracción fenólica en uvas inmaduras, lo cual puede ser mejorado con un incremento en la extracción en la etapa pre-fermentativo aplicando bajas temperaturas. El mismo concepto se aplica a los cultivares o zonas vitícolas que tienen uvas con bajos niveles de compuestos fenólicos (Puertas et al. 2013, Álvarez et al. 2006, Llaudy et al. 2005, Zamora et al. 2003, Canals et al. 2005). Los defensores de la mayor extracción fenólica de la maceración pre-fermentativa en frío sobre la uva madura argumentan que el efecto extractiva es moderado y mayor cuando ya existe una degradación de las paredes celulares de las células de los hollejos cuando la fruta está madura o sobre-madura (González-Neves et al. 2012, Ortega-Heras et al, 2012). Hay una clara sinergia entre el grado de madurez y la variedad de uva (Casassa et al. 2015, González-Neves et al. 2004 a y b).

Por otra parte, también se reporta que el resultado de esta técnica de vinificación está condicionado por el tiempo en que se prolonga la etapa pre-fermentativa así como también por la forma en que se aplica el frío (González-Neves et al. 2009, Cuénat et al. 1996)

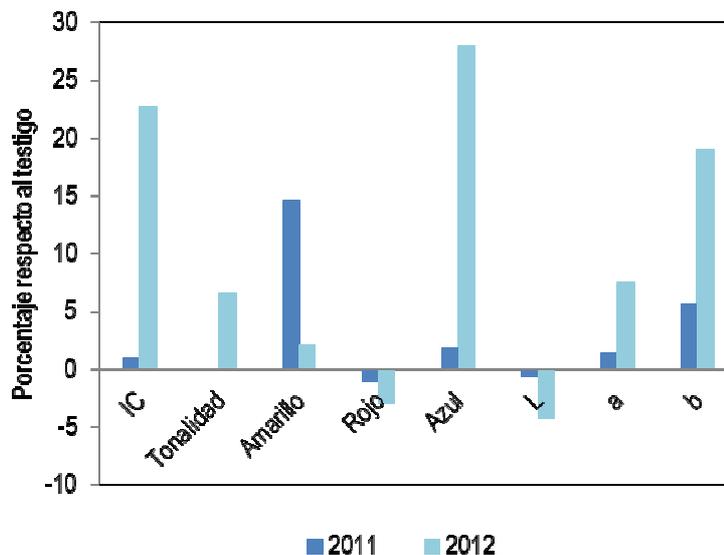


Figura 51. Efecto de la maceración pre-fermentativa en frío sobre el color del vino medido como porcentaje respecto al testigo.

En esta investigación se observó un efecto significativo de la técnica cuando la uva presentó problemas en la maduración y las uvas presentaban un bajo potencial fenólico, como fue el caso de los vinos elaborados a partir de la vendimia 2012.

### 3.4.2. Maceración pre-fermentativa en caliente

Los vinos MC presentaron mayor contenido de alcohol respecto a los vinos MT, para los dos años de ensayo. Durante el tratamiento térmico pre-fermentativo, se produce evaporación de compuestos volátiles así como también del agua constituyente del mosto, lo cual puede contribuir a la concentración de los distintos compuestos, entre ellos los azúcares, que serán sustrato de las levaduras (Fischer et al., 2000).

Para el año 2011, los vinos MC presentaron mayor acidez volátil, acidez total y pH. La termo-vinificación produce una fuerte extracción de aminoácidos, potasio y ácido tartárico desde los hollejos al mosto (Hidalgo 2003, Ribéreau-Gayon et al. 1998). La extracción de aminoácidos conduce a la formación de ácidos volátiles

superiores y acetato de etilo por las levaduras durante la fermentación alcohólica, incrementando la acidez volátil del vino. A su vez, existe un aumento en la producción de ácido acético durante el calentamiento, que contribuye a un incremento en la acidez volátil de los vinos termotratados, y que es originario de la reacción de Maillard entre aminoácidos y azúcares (Hidalgo, 2003). El exceso de potasio neutraliza parte del ácido tartárico lo que conduce a una disminución de la acidez total y un aumento pH, fenómeno que se ve potencial cuando la termovinificación es seguida de una maceración fermentativa como ocurrió en estos ensayos (Geffroy et al., 2012).

Los vinos MC2012 presentaron diferencias en el contenido de alcohol y en el pH respecto al testigo con valores similares de acidez total y acidez volátil.

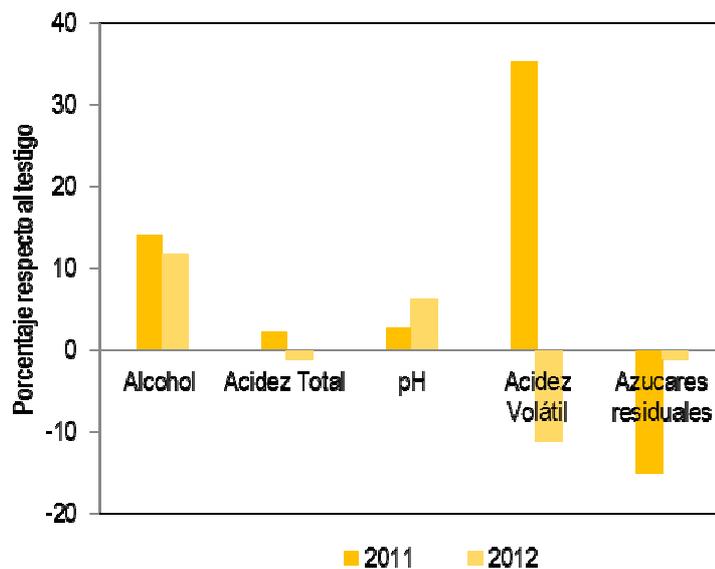


Figura 52. Efecto de la maceración pre-fermentativa en caliente sobre la composición química del vino medido como porcentaje respecto al testigo.

Los vinos MC mostraron un incremento en el índice de polifenoles totales del 54 y 97 % respecto a los MT para los años 2011 y 2012 respectivamente (Figura 6). Si bien durante la fermentación alcohólica dichas sustancias disminuyeron, el vino

presentó contenidos superiores a los de una vinificación tradicional. Los resultados obtenidos muestran un impacto de la técnica de termo-vinificación sobre el contenido de polifenoles superior a los reportados por la bibliografía (20-40%) (El Darra et al. 2013, Atanackovic et al. 2012, Baiano et al. 2009, Netzel et al. 2003). A su vez se registró un incremento significativo en el contenido de catequinas y proantocianidinas para los vinos elaborados en los dos ensayos (2011 y 2012). Busse-Valverde et al. (2011 y 2010) han reportado extracción de taninos desde el inicio de la fermentación, esto en conjunto con el incremento de la temperatura durante la etapa pre-fermentativa que actúa como agente de extracción, potenció la extracción de taninos. Cabe destacar que el efecto de esta técnica de vinificación sobre el contenido de taninos fue mayor cuando las condiciones de maduración no fueron favorables. Lo contrario ocurrió con el contenido de polifenoles y antocianos.

La termo-vinificación incremento el contenido de antocianos en los dos años de ensayo (25 y 86 % para el 2011 y 2012 respectivamente), lo cual determinó un aumento en la intensidad colorante de los vinos (Figura 7). El incremento de la temperatura entre los 40 y 60 °C determinó un aumento lineal en el contenido de antocianos y, si bien se registró una disminución importante durante la maceración fermentativa, los vinos MC presentaron valores significativamente superiores a los MT. Varias investigaciones han reportado un incremento en el contenido de antocianos de un hasta 150% respecto a una vinificación tradicional (El Darra et al. 2013, Atanackovic et al. 2012, Girard et al., 1997). Por su parte, Geffroy et al. (2012) plantea que el contenido de antocianos de los vinos elaborados por esta técnica es menor al elaborado por vinificaciones tradicionales porque participan en las combinación entre taninos y antocianos y/o por mayores precipitaciones durante la etapa fermentativa, resultados que no concuerdan con los obtenidos en esta investigación.

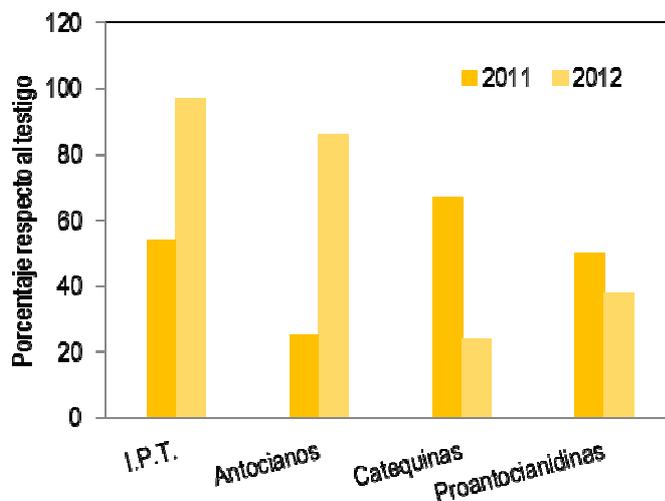


Figura 53. Efecto de la maceración pre-fermentativa en caliente sobre la composición fenólica del vino medido como porcentaje respecto al testigo.

La mayor extracción registrada durante la maceración pre-fermentativa en caliente determinó vinos con mayor intensidad colorante respecto los MT (19 y 91% para los vinos 2011 y 2012 respectivamente) (Figura 54). Proporcionalmente, los vinos MC presentaron menor porcentaje de rojo en relación a los MT, con mayores porcentajes de amarillo y azul. La mayor tonalidad registrada debido a un mayor porcentaje de color amarillo en los vinos MC, sugiere una oxidación de los antocianos, puesto que los incrementos de las concentraciones de estos pigmentos y los taninos no necesariamente conducen a formas coloreadas estables (Boulet, 2003). Estas transformaciones están fuertemente favorecidas por las elevadas temperaturas del mosto-vino (Zamora, 2003).

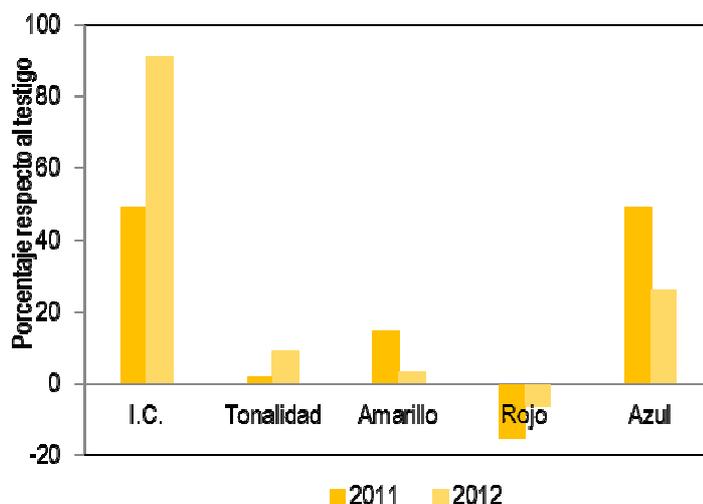


Figura 54. Efecto de la maceración pre-fermentativa en caliente sobre el color del vino medido como porcentaje respecto al testigo.

Por otra parte, se observó que los vinos elaborados por maceración pre-fermentativa en caliente presentaron menor proporción de rojo y mayor de azul respecto al testigo. Abyari et al. (2006) plantean que el calentamiento tiene un efecto en la copigmentación y la formación de pigmentos derivados que resultan en un aumento de la intensidad colorante y un incremento en el máximo de absorbancia.

El impacto de la técnica de la maceración pre-fermentativa en caliente fue diferente de acuerdo a la composición de la materia prima de cada año en particular, siendo mayor en los vinos 2012 respecto a los 2011. Si bien la uva cosechada para el ensayo realizado en el 2012 presentaba un potencial enológico levemente superior a la 2011, los vinos presentaron concentraciones menores de polifenoles totales, antocianos y color en términos generales. Estas diferencias pueden deberse a la sanidad de la uva encubada y/o al aumento en el pH de los vinos elaborados en el año 2012 que afectó el equilibrio entre las distintas formas de los antocianos libres y combinados, determinando una disminución en el color del vino.

### 3.4.3. Maceración carbónica

Es importante destacar que los vinos de maceración carbónica de los diferentes ensayos no son comparables dado que la técnica de vinificación fue modificada de acuerdo al potencial fenólico de la uva de cada uno de los años evaluados y de los resultados obtenidos en cada ensayo en particular.

Los resultados sugieren que el aumento del tiempo de maceración carbónica y/o la continuación de esta etapa con o sin maceración fermentativa condicionan la composición del vino y sus perfiles sensoriales (Cuadro 15). La maceración carbónica seguida de una fermentación alcohólica en ausencia de hollejos no logró elaborar vinos tintos, independientemente del tiempo de maceración pre-fermentativa. La continuación de la etapa pre-fermentativa con una maceración fermentativa incrementó la extracción de polifenoles y antocianos determinando vinos con la misma composición que los elaborados por técnicas tradicionales.

De acuerdo a la comparación realizada con lo reportado por la bibliografía, nuestros resultados sugieren que la variedad Tannat no presenta buenas aptitudes para la elaboración de vinos por maceración carbónica estricta.

Cuadro 15. Resultados obtenidos en los vinos de maceración carbónica expresados como porcentaje respecto al testigo

	2010		2011	2012
	CA1	CA2	CA	CA
Alcohol (% v/v)	6,86	5,88	3,3	0,99
Acidez Total (gH <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> /L)	-31,3	-35,7	-43,3	-16,7
pH	4,5	4,5	11,3	-1,66
Acidez Volátil (gH <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> /L)	10,5	-15,8	-1,13	114
I.P.T. (A280)	-67,9	-53	-35,9	18,8
Antocianos (mg mv-3-g/L)	-85,1	-68	-79,4	-37,4
Catequinas			-40,3	38
Proantocianidinas			-42,7	46
I.C.			-74,02	13,6
Tonalidad			151	28,8
Amarillo (%)			89,5	13
Rojos (%)			-35,4	-11,9
Azul (%)			43,8	73,4

#### **4. CONCLUSIONES**

A través de las técnicas alternativas de vinificación evaluadas se modificó fuertemente la extracción de polifenoles y antocianos, determinado que los vinos tintos al descube tuvieron diferencias muy significativas.

El perfil de extracción de polifenoles y antocianos durante la *Maceración Pre-fermentativa en Frío* se ve demorado durante la etapa pre-fermentativa, aumentando durante la fermentación alcohólica. Sin embargo, la relación entre los valores máximos de estos compuestos durante la maceración y los valores obtenidos al descube entre los vinos de maceración pre-fermentativa en frío y tradicional fueron distintos en los años considerados. Los resultados obtenidos en los vinos indican que el efecto de esta técnica de vinificación está fuertemente determinado por la maduración de la uva y su composición fenólica.

Durante la *Maceración Pre-fermentativa en Caliente* se logra la mayor extracción de polifenoles y antocianos, cuyas concentraciones se mantienen o disminuyen ligeramente durante la maceración fermentativa. Al descube, los vinos obtenidos por esta técnica presentaron los mayores contenidos de polifenoles, antocianos e intensidad colorante, manifestándose como una alternativa prometedora para la elaboración de vinos tintos Tannat.

La *Maceración Post-fermentativa en Caliente* potenció la extracción de polifenoles en las etapas finales de la vinificación, característica que se vio reflejada en el vino.

La extracción de polifenoles y antocianos durante la *Maceración Carbónica* estricta fue limitada, lo cual condicionó la intensidad y el color del vino. El metabolismo del ácido málico afectó la composición química del vino disminuyendo la acidez total y aumentando la acidez volátil y el pH. La maceración fermentativa a continuación del tratamiento anaerobio determinó vinos con mayor concentración de

compuestos fenólicos y color, siendo este más estable en el tiempo. Los resultados obtenidos con esta técnica de vinificación indican que su efecto está fuertemente determinado por la forma en que se realice, la composición de la uva y la variedad, siendo Tannat poco apta para elaborar vinos de maceración carbónica estricta.

En general, las técnicas de vinificación ensayadas son una alternativa productiva cuya aplicación y efecto está determinado por la variedad y su grado de maduración, la forma en que se realicen de acuerdo al equipamiento disponible de la bodega y a los objetivos productivos y enológicos.

## **5. BIBLIOGRAFÍA**

- Abyari M, Heidari R, Jamei R. 2006. The effects of heating, UV irradiation and pH on stability of Siah Sardasht grape anthocyanin-copigment complex. *Journal of Biological Sciences*, 6 (4): 638-645.
- Albanese D, Attanasio G, Cinquanta L, Di Matteo M. 2012. Volatile compounds in red wines processed on an industrial scale by short pre-fermentative cold maceration. *Food Bioprocess Technology*, 6 (11): 3266-3272.
- Alcalde-Eon C, Escribano-Bailón M, Santos-Buelga C, Rivas-Gonzalo J. 2006. Changes in the detailed pigment composition of red wine during maturity and ageing. A comprehensive study. *Analytica Chimica Acta*, 563: 238–254.
- 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 T. 1909. *Viticultura general*. Montevideo, Imprenta Artística de Dormaniche y Reyes. 322p.
- Amendola D, De Faveri DM, Spigno G. 2010. Grape marc phenolics: extraction kinetics, quality and stability of extracts. *Journal of Food Engineering*, 97: 384–392.
- Amrani K, Glories Y. 1994. Etude en conditions models 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.
- Andrade-Neves N, Araujo-Panto L, Soares dos Santos, A. 2014. Thermovinification of grapes from Cabernet sauvignon and Pinot noir varieties using immobilized yeasts. *Journal of Food Engineering*, 97: 384-392.
- Atanackovic M, Petrovic A, Jovic S, Gojkovic-Bukarica L. 2012. Influence of winemaking techniques on the resveratrol content, total phenolic content and antioxidant potential of red wines. *Food Chemistry*, 131: 513–518.
- Auw JM, Blanco V, O'Keefe SF, Sims CA. 1996. Effect of processing on the phenolic and color of Cabernet Sauvignon, Chambourcin, and Noble wines and juices. *American Journal of Enology and Viticulture*, 47: 279-286.

- 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.
- Baiano A, Terracone G, Gambacorta G, La Notte E. 2009. Phenolic content and antioxidant activity of Primitivo wine: comparison among winemaking technologies. *Journal of Food Science*, 74 (3): 258-267.
- Bakker J, Bridle P, Honda T, Kuxano H, Saito N, Terahara N, Timberlake C. 1997. Identification of an anthocyanin occurring in some red wines. *Phytochemistry*, 44 (7): 1375-1382.
- Balik J. 2006. Dynamics of changes in total anthocyanins during the fermentative maceration of grapes. *Horticultural Science*, 33 (3): 103–107.
- Bautista-Ortín AB, Lencina M, Cano-López F, Pardo-Minguez JM, López-Roca JM, Gómez-Plaza E. 2008. The use of oak chips during the ageing of a red wine in stainless steel tanks or used barrels: effect of the contact time and size of the oak chips on aroma compounds. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 14: 63-70.
- Bitteur S, Tesniere C, Fauconnet A, Bayonove C, Flanzy C. 1996. Carbonic anaerobiosis of Muscat grape. 2. Changes in the distribution of free and bound terpenoids. *Science Aliments*, 16: 37-48.
- Blouin J, Papet N, Stonestreet E. 2000. Etude de la structure polyphénolique des vins rouges par analyses physico-chimiques et sensorielles. *Journal International Sciences de la Vigne et du Vin*, 1: 33-40.
- Boido E, Alcalde-Eon C, Carrau F, Dellacasa E, Rivas-Gonzalo JC. 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: 6692–6704.
- Borazan AA, Bozan B. 2013. The influence of pectolytic enzyme addition and prefermentative mash heating during the winemaking process on the phenolic composition of Okuzgozu red wine. *Food Chemistry*, 138: 389-395.

- Bosso A, Panero L, Ruggeri G, Di Stefano R. 2006. La criomacerazione con neve carbonica abbinata alla técnica dell'estrazione differita degli antociani. *Industrie della Bevande*, XXXV: 449-461.
- 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 Enología*, 1-2: 29-49.
- Boulet JC. 2003. Termotratamiento de la vendimia. Evoluciones y consecuencias. En: Flanzky C. (Eds.). *Enología: fundamentos científicos tecnológicos*. Madrid, Mundi-Prensa. 797p.
- Boulton R, Singleton V, Bisson L, Kukkee R. 2002. Teoría y práctica de la elaboración del vino. Zaragoza. Acrinia S.A. 635 p.
- 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.
- Boulton R. 1999. Técnicas de elaboración de vinos tintos de calidad superior. En: Seminario Internacional "Hacia la enología del siglo XXI". (1º, 1999, Mendoza). Actas. Mendoza, s.e. 66 pp.
- Brouillard R, Dangles O. 1994. Anthocyanin molecular interactions: the first step in the formation of new pigments during wine ageing? *Food Chemistry*, 51: 365-371.
- Budic-Leto I, Gracin L, Lovrić T, Vrhovsek U. 2008. Effects of maceration conditions on the polyphenolic composition of red wine 'Plavac mali'. *Vitis*, 47 (4), 245-250.
- 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 J, 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 Food Chemistry*, 53: 4019-4025.
- Carbonneau A, Moueix A, Leclair N, Renoux J. 1991. Proposition d'une méthode de prélèvement de raisins à partir de l'analyse de l'hétérogénéité de maturation sur un cep. *Bulletin de l'OIV*. 2/28 6 9-690.
- Casassa F, Bolcato E, Sari S. 2015. Chemical, chromatic, and sensory attributes of six red wines produced with prefermentative cold soak. *Food Chemistry*, 174: 110-118.
- Casassa F, Harbertson J. 2014. Extraction, evolution and sensory impact of phenolic compounds during red wine maceration. *Annual Review of Food Science and Technology*, 5: 83-109.
- Casassa F, Sari S, Diaz 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*, 1 (2): 1-11.
- Casassa F. 2007. Efecto de dos variantes de maceración prefermentativa en frío (MPF) sobre la composición y características organolépticas de vinos Malbec. Tesis MsC. Mendoza. Argentina. Facultad de Ciencias Agrarias. 167 p.
- Casassa F, Sari S, Avagnina S, Díaz 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.
- Casassa F, Catania C. 2006. Piranoantocianos, nuevos pigmentos en los vinos tintos. *Enología*, 3: 40-47.
- Castillo-Sánchez JX, García-Falcón MS, Garrido J, Martínez-Carballo E, Martins-Dias LR, Mejuto XC. 2008. Phenolic compounds and colour stability of Vinhao wines: Influence of wine-making protocol and fining agents. *Food Chemistry*, 106: 18–26.
- Castillo-Sánchez JX, Mejuto XC, Garrido J, García-Falcón MS. 2006. Influence of wine-making protocol and fining agents on the evolution of the anthocyanin

- content, colour and general organoleptic quality of Vinhao wines. *Food Chemistry*, 97: 130–136
- 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, INTA. s.p.
- 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.
- Cheynier V, Rigaud J. 1986. H.P.L.C. separation and characterization of flavonols in the skins of *Vitis vinífera* var. Cinsault. *American Journal of Enology and Viticulture*, 37 (4): 248-252.
- Chinnici F, Sonni F, Natali N, Galassi S, Riponi C. 2009. Colour features and pigment composition of Italian carbonic macerated red wines. *Food Chemistry*, 113: 651–657.
- Cottureau P, Desseigne J. 2007. Chauffage de la vendange et arômes fruités. En: *Entretiene viti vinicoles Rhône Méditerranée*. (2007, Narbonne). Actas. Narbonne, Francia. 20-22.
- Cuénat P, Lorenzini F, Breguy C, Zufferey E. 1996. La macération préfermentaire a froid du Pinot noir. Aspects technologiques et microbiologiques. *Revue Suisse Viticulture Arboriculture Horticulture*, 4: 259-265.
- De Beer D, Joubert E, Marais J, Manley M. 2006. Maceration before and during fermentation: Effect on Pinotage wine phenolic composition, total antioxidant capacity and objective colour parameters. *South African Journal of Enology and Viticulture* 27 (2): 137-150.
- De Santis D, Frangipane M. 2010. Effect of prefermentative cold maceration on the aroma and phenolic profiles of a merlot red wine. *Italian Journal of Food Science*, 1 (22): 47-54.
- Delteil, D. 2004. La macération préfermentaire à froid (MPF) des raisins méditerranéens et rhodaniens. *Revue des OEnologues*, 112: 29-32.

- Di Stefano R, Borsa D, Gentilini N. 1994. Estrazione degli antociani dalle bucce dell'uva durante la fermentazione. *L'Enotecnico*, 5: 76-83.
- Docco T, Brillouet J, Moutounet M. 1996. Evolution of grape (Carignan noir cv.) and yeast polysaccharides during fermentation and post maceration. *American Journal of Enology and Viticulture*, 47(1) 108-110.
- El Darra N, Grimi N, Maroun R, Louka N, Vorobiev E. 2013. Pulsed electric field, ultrasound, and thermal pretreatments for better phenolic extraction during red fermentation. *European Food Research and Technology*, 236 (1): 47-56.
- Escudier J, Mikolajczak M, Bes M. 2008. Calentamiento de la cosecha: las tecnologías asociadas, métodos de vinificación. *Enología* 6: 1-19.
- Favre G. 2012. Efecto de la adición de taninos enológicos y la maceración prefermentativa en frío en la vinificación en tinto de uvas Tannat. Tesis Msc. Montevideo, Uruguay. Facultad de Agronomía. 147 p.
- Ferrer M, González-Neves G, Echeverría G, Camussi G, Avondet R, 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, Peyron D. 2003. Vinificación con maceración prefermentativa en frío en Pinot noir. En: Flanzy C. (Eds) *Enología: Fundamentos científicos y tecnológicos*. Madrid: Mundi-Prensa. 804p.
- Fischer U, Strasser M, Gutzler, K. 2000. Impact of fermentation technology on the phenolic and volatile composition of German red wines. *International Journal of Food Science and Technology*, 35: 81-94.
- Flanzy, C. 2003. *Enología: Fundamentos científicos y tecnológicos*. Ediciones Madrid: Mundi-Prensa. 804 p.
- Flanzy C, Flanzy M, Benard P. 1987. *La vinification par maceration carbonique*. Paris: INRA. 126p.
- Flores-Ramírez N, Martínez-Peniche RA, Fernández-Escartín E, Gallego-Pérez JL, Díaz-Cervantes MI, Vásquez-García SR. 2005. Características fisicoquímicas en vinos tintos: método tradicional y maceración carbónica empleando dos

- cepas de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*. Revista Mexicana De Ingeniería Química, 4: 289-297.
- 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.
- Fulcrand H, Cameira Dos Santos P, Sarni-Machado P, Cheynier V, Favre-Convin J. 1996. Structure of new anthocyanin-derived with pigments. Journal of Chemistry Society, Perkin Transactions, 1: 735-739.
- Gambacorta G, Antonacci D, Pati S, La Gatta M, Faccia M, Coletta A, La Notte E. 2011. Influence of winemaking technologies on phenolic composition of Italian red wines. European Food Research Technology, 233:1057-1066
- Gambutì A, Capuano R, Lecce L, Fragasso MG, Moio L. 2009. Extraction of phenolic compounds from 'Aglanico' and 'Uva di Troia' grape skins and seeds in model solutions: Influence of ethanol and maceration time. Vitis, 48 (4): 193–200
- Gao L, Girard B, Mazza G, Reynolds AG. 1997. Changes in anthocyanins and color characteristics of Pinot noir wines during different vinification processes. Journal of Agricultural Food Chemistry, 45: 2003- 2008.
- Geffroy O, López R, Serrano E, Dufourcq T, Gracia-Moreno E, Cacho J, Ferreira V. 2012. En: Coloquio Internacional de Aromas del Vino: Vinaromas. (2012, Toulouse-Zaragoza). Actas. Instituto Francés de la Viña y el Vino: Toulouse. 35-38.
- Gervaux V, Naudin R, Meurgues O, Monamy C. 1998. Influence de différents procédés de macération sur la composition polyphénolique, l'activité laccase et la qualité organoleptique des vins de Pinot Noir. Revue des OEnologues, 166:10–15.
- Gil-Muñoz R, Moreno-Pérez A, Vila-López R, Fernández-Fernández J, 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 M. 1997. Evolution of the CIELAB and other spectrophotometric parameters during wine fermentation. Influence of some pre and postfermentative factors. *Food Research International*, 30 (9): 699-705.
- Girard B, Yuksel D, Cliff M, Delaquis P, Reynolds AG. 2001. Vinification effects on the sensory, colour and GC profiles of Pinot noir wines from British Columbia. *Food Research International*, 34: 483-499.
- Girard B, Kopp TG, Reynolds AG, Cliff M. 1997. Influence of vinification treatments on aroma constituents and sensory descriptors of Pinot noir wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 48: 198-206.
- Glories Y, Augustin M. 1993. Los taninos, pilares del sabor del vino. *Sevi*, 2439: 1473-1475.
- Glories Y. 1984 a. La couleur des vins rouges. 1e. Partie: Les equilibres des anthocyanes et des tanins. *Connaissance Vigne Vin*, 18 (3): 195-217.
- Glories Y. 1984 b. La couleur des vins rouges. 2e. Partie: Mesure, origine et interpretation. *Connaissance Vigne Vin*, 18 (4): 253-271.
- Gómez-Míguez M, González-Miret M, Hernández D, Fernández M, Vicario I, Heredia F. 2007. Effects of prefermentative skin contact conditions on colour and phenolic content of white wines. *Journal of Food Engineering*, 78: 238-245.
- Gómez-Míguez M, González-Manzano S, Escribano-Bailón M, Heredia F, Santos-Buelga C. 2006. Influence of different phenolic copigments on the color of malvidin-3-glucoside. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 54: 5422-5429.
- Gómez-Plaza E, Ortega-Regules A, Romero-Cascales I, Ros-García JM, López-Roca JM. 2006. A first approach towards the relationship between grape skin cell-wall composition and anthocyanin extractability. *Analytica Chimica Acta*, 563: 26-32.
- Gómez-Plaza E, Romero-Cascales I, Fernández-Fernández J, López-Roca JM. 2005. The maceration process during winemaking extraction of anthocyanins from

- grape skins into wine. *European Food Research and Technology*, 221: 163-167.
- González-Manzano S, Dueñas M, Rivas-Gonzalo JC, Escribano-Bailón M, 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-Manzano S, Santos-Buelga C, Pérez-Alonso JJ, Rivas-Gonzalo JC, Escribano-Bailón M. 2006. Characterization of the mean degree of polymerization of proanthocyanidins in red wines using liquid chromatography-mass spectrometry (LCMS). *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 54 (12): 4326-4332.
- González-Neves G, Favre G, Gil G, Ferrer M, Charamelo D. 2014 Effect of cold pre-fermentative maceration on the color and composition of young red wines cv. Tannat. *Journal of Food Science and Technology* [en prensa].
- González-Neves G, Gil G, Favre G, Baldi C, Hernandez N, Traverso S. 2013. Influence of winemaking procedure and grape variety on the colour and composition of young red wines. *South African Journal for Enology and Viticulture*, 34(1): 138-145.
- 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 Uruguay*, 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: Congreso Mundial de la Viña y el Vino OIV. (32<sup>th</sup>, 2009, Croacia). Actas. Croacia: OIV. p. irr.
- González-Neves G, Ferrer M. 2008. Efectos del sistema de conducción y del raleo de racimos en la composición de uvas Merlot. *Agrociencia Uruguay XII*, (2): 10-18.
- 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*, 225:111–117.
- González-Neves G, Franco J, Moutounet M, Carbonneau A. 2006. Différenciation des vins de Tannat, Merlot et Cabernet-Sauvignon de l'Uruguay selon leur composition polyphénolique globale. *Journal International of Science et du Vigne Vin*, 40 (2): 81-89.
- González-Neves G, Barreiro L, Gil G, Franco J, Carbonneau A, Moutounet M. 2005. Estudio de la composición antociánica de uvas y vinos tintos de los cv. Tannat, Cabernet-Sauvignon y Merlot: utilidad de los perfiles obtenidos para la caracterización varietal. *Bull. OIV.*, 887-888: 30-44.
- González-Neves G, Barreiro L, Gil G, Franco J, Ferrer M, Carbonneau A, Moutounet M. 2004a. Anthocyanic composition of Tannat grapes from the South region of Uruguay. *Analytica Chimica Acta*, 513 (1): 197-202.
- González-Neves G, Charamelo D, Balado J, Barreiro L, Bochicchio R, Gatto G, Gil G, Tessore A, Carbonneau A, Moutounet M. 2004b. 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, Balado J, Barreiro L, Bochicchio R, Gatto G, Gil G, Tessore A, Ferrer M. 2003. Efectos de algunas prácticas de manejo del viñedo y de la

- vinificación en la composición fenólica y el color de los vinos tintos. En: Congresso Brasileiro de Viticultura e Enología (X, 2003, Bento Gonçalves). Actas. Bento Gonçalves, Embrapa. 43-54.
- González-Neves G, Gil G; Barreiro L, Bochicchio A, Gatto G, Tessore A. 2002. Evaluación del potencial polifenólico de uvas Tannat, Cabernet Sauvignon y Merlot producidas en Uruguay, y su correspondencia con la composición de los respectivos vinos. En: Congreso Mundial de la Viña y el Vino OIV. (26<sup>th</sup>, 2002, Bratislava). Actas. Bratislava: OIV. p. irr.
- González-Neves, G.; Gil, G.; Ferrer, M. 2001. Relaciones entre la madurez fenólica y tecnológica de uvas Tannat y la composición de los vinos tintos correspondientes. En: Congreso Latinoamericano de Viticultura y Enología. (VII, 2001, Montevideo). Actas. Montevideo: s.e. p. irr.
- González-Neves G, Gatto G. 2001. Caracterización de la composición fenólica y el color de vinos tintos uruguayos de las variedades Tannat, Cabernet Sauvignon y Merlot. *Información Tecnológica*, 12 (3): 9-14.
- González-Neves G, Ferrer M. 2000. Estudio plurianual de la incidencia de distintas técnicas de manejo del viñedo sobre los parámetros productivos y la composición de vinos tintos de la variedad Tannat. *Viticultura y Enología Profesional* 66: 30–43.
- González-Neves G. 1999. Color y composición de vinos tintos jóvenes Tannat, Cabernet Sauvignon y Merlot de Uruguay. *Viticultura y Enología Profesional*. 64: 43-50.
- González-Neves G, Gómez-Cordovés C, Barreiro L, Bochicchio R, Gatto G, Gil G, Tessore A, Balado J. 1998. Composición de vinos tintos Merlot, Cabernet Sauvignon y Tannat de Uruguay. En: Congreso Mundial de la Viña y el Vino OIV. (23<sup>th</sup>, 1998, Lisboa). Actas. Lisboa: OIV. 389-396.
- Gordillo B, López-Infante L, Ramírez-Pérez P, González-Miret ML, Heredia FJ. 2010. Influence of prefermentative cold maceration on the color and anthocyanic copigmentation of organic Tempranillo wines elaborated in a warm climate. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 58: 6797-6803.

- Hanlin RL, Hrmova M, Harbertson JF, Downey MO. 2010. Condensed tannin and grape cell wall interactions and their impact on tannin extractability into wine. *Australian 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.
- Harbertson JF, Mireles M, Harwood E, Weller KM, Ross CF. 2009. Chemical and sensory effects of saignée, water addition and extended maceration on high Brix must. *American Journal of Enology and Viticulture*, 60:450–60.
- Heredia FJ, Escudero-Gilete ML, Hernanz D, Gordillo B, Meléndez-Martínez AJ, Vicario IM, González-Miret ML. 2010. Influence of the refrigeration technique on the colour and phenolic composition of Syrah red wines obtained by pre-fermentative cold maceration. *Food Chemistry*, 118: 377–383.
- 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.
- Hidalgo, J. 2003. *Tratado de Enología*. Tomo II. Madrid: Mundi-Prensa. 1423 p.
- Inavi (Instituto Nacional de Vitivinicultura). 2014. Estadísticas del vino. [En línea]. 20 de junio 2014. <http://www.inavi.com.uy/categoria/27-estadisticas-de-vino.html>.
- Jackson RS. 2000. *Wine sciences: principals, practice, perception*. San Diego: Academic Press. 648p.
- Jofré V, Fanzone M, Assof M, Rivera M. 2006. Evolución de precursores de aromas durante la maduración de uvas Cabernet Sauvignon (*Vitis vinifera* L.) de Agrelo y Tupungato (Mendoza, Argentina) y efecto de la maceración previa en frío. *Enología*, 12 (3): 55-57.
- Johnson H, Robinson J. 2003. *El Vino. Nuevo atlas mundial*. 2ed. Barcelona: Blume. 320p.

- Jones G, Iland P, Markides A, Asenstorfer R. (2003). Formation of vitisin A during fermentation and maturation. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 9: 40-46.
- Kennedy JA. 2008. Grape and wine phenolic: Observations and recent findings. *Ciencia e Investigación Agraria*, 35 (2): 107-120.
- Kennedy JA, Jones GP. 2001. Analysis of proanthocyanidin cleavage products following acid-catalysis in the presence of excess phloroglucinol. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 49:1740-46
- 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.
- Llaudy M, Zamora F, Canals R, Canals J, Cabanillas P. 2005. La maceración prefermentativa en frío: efectos sobre la extracción de color y los compuestos fenólicos e influencia del nivel de maduración de la uva. (En línea) Consultado 10 de Octubre de 2012. Disponible en <http://www.acenología.com>.
- Lowe EJ, Oey A, Turner TM. 1976. Gasquet thermovinification system perspective after two years' operation. *American Journal Enology and Viticulture*, 27:130-133.
- Marais, J 2003a. 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*, 24:70-75.
- Marais, J. 2003b. Effect of different wine-making techniques on the composition and quality of Pinotage wine. II. Juice/skin mixing practices. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 24:76-79.
- Mateus N, Carvalho E, Carvalho A, Melo A, González-Paramás A, Santos-Buelga C, Silva A, De Freitas V. 2003a. Isolation and structural characterization of new acylated anthocyanin-vinyl-flavanol pigments occurring in aging red wines. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 51: 277-282.

- Mateus N, Silva A, Rivas-Gonzalo J, Santos-Buelga C, De Freitas V. 2003b. A new class of blue anthocyanin-derived pigments isolated from red wines. *Journal of Agricultural Food Chemistry*. 51: 1919-1923.
- Mazza M, Ford C. 2005. Unravelling the outcomes of extended maceration in red winemaking. *Australian & New Zealand Grapegrower & Winemaker*, 33rd Annual Technical Issue, 56-63.
- Medina K, Boido E, Dellacassa E, Carrau F. 2005. Yeast interaction with anthocyanins during red wine fermentation. *American Journal of Enology and Viticulture*, 56 (2): 104-109.
- Miller DP, Howell GS. 1989. The effect of various carbonic maceration treatments on must and wine composition of Marechal foch. *American Journal of Enology and Viticulture*, 40 3:170-174.
- Monagas M, Bartolomé B, Gómez-Cordovés C. 2005. Updated knowledge about the presence of phenolic compounds in wine. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 45: 85-118.
- Morata A, Gómez-Cordoves MC, Colomo B, Suarez JA. 2005. Cell wall anthocyanin adsorption by different *Saccharomyces* strains during the fermentation of *Vitis vinifera* L. cv Graciano grapes. *European Food Research Technology*, 220: 341-346
- Morata A, Gómez-Cordovés MC, Suberviola J, Bartolomé B, Colombo B, Suárez JA. 2003. Adsorption of Anthocyanins by Yeast Cell Walls during the Fermentation of Red Wines. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 51: 4084-4088.
- Morel-Salmi C, Souquet JM, Bes M, Cheynier V. 2006. Effect of flash release treatment on phenolic extraction and wine composition. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 54 (12): 4270-4276.
- Moreno-Pérez A, Vila-López R, Fernández-Fernández J, Martínez-Cutillas A, Gil-Muñoz R. 2013. Influence of cold pre-fermentation treatments on the major volatile compounds of three wine varieties. *Food Chemistry* 139: 770–776.

- Nel AP, van Rensburg P, Lambrechts MG. 2014. The Influence of Different Winemaking Techniques on the Extraction of Grape Tannins and Anthocyanins. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 35-2
- Nel AP. 2011. The influence of different winemaking techniques on the extraction of grape tannins. Tesis Msc. Stellenbosch, Sudáfrica. Facultad of Agro-Sciences. 146p.
- Nemanic J, Bavcar D, Vanzo A. 2002. First results with differently macerated Pinot noir wines in Slovenia. *Mitteilungen Klosterneuburg, Rebe und Wein, Obstbauund Früchteverwertung, Austria*. 52 (1-2): 21-28.
- Netzel M, Strass G, Bitsch I, Könitz R, Christmann M, Bitcsh R. 2003. Effect of grape processing on selected antioxidant phenolics in red wines. *Journal of Food Engineering*, 56: 223-228.
- OIV. 2009. *International Oenological Codex*. Organización Internationale de la Vigne et du Vin. Paris: OIV. 368p.
- Oriolani E, Rodríguez Romera M, Casassa F, Sari S, Catania C. 2007. Medición de la actividad de lacasa mediante la puesta a punto del método de la syringaldazina en uvas y mostos de la zona alta del río Mendoza. *Enología*, 4 (1): 48-51.
- 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. *Food Science and Technology*, (48): 1-8.
- Ortega-Regules A, Ros-García JM, Bautista-Ortín AB, López-Roca JM, Gómez-Plaza E. 2008. Differences in morphology and composition of skin and pulp cell walls from grapes (*Vitis vinifera* L.): technological implications. *European Food Research and Technology*, 227: 223-231.
- Pace C, Giacosa S, Torchio F, Río Segade S, Cagnasso E, Rolle L. 2014. Extraction kinetics of anthocyanins from skin to pulp during carbonic maceration of winegrape berries with different ripeness levels. *Food Chemistry*, 165: 77-84.

- Parenti A, Spugnoli P, Calamai L, Ferrari S, Gori C. 2004. Effects of cold maceration on red wine quality from Tuscan Sangiovese grape. *European Food Research and Technology*, 21 (8): 360-366.
- Parley A, Vanhanen L, Heatherbell D. 2001. Effects of pre-fermentation enzyme maceration on extraction and colour stability in Pinot Noir wine. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 7: 146-152.
- Parley, A. 1997. The effect of pre-fermentation enzyme maceration on extraction and colour stability in Pinot Noir wines. Thesis MsC. New Zealand. Lincoln University, 114 p.
- Pati S, Liberatoreb MT, Gambacorta G, Antonacci D, La Nottea E. 2009. Rapid screening for anthocyanins and anthocyanin dimers in crude grape extracts by high performance liquid chromatography coupled with diode array detection and tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1216: 3864–3868
- Pérez-Lamela C, García-Falcón MS, Simal-Gándara S, Orriols-Fernández I. 2007. Influence of grape variety, vine system and enological treatments on the colour stability of young red wines. *Food Chemistry*, 101: 601–606.
- Peynaud E. 1984. *Knowing and making wine*. New York: John Wiley & Sons. 416 p.
- 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 & Technology*, 17: 579-590.
- Pinelo M, Rubilar M, Jerez M, Sineiro J, Nuñez MJ. 2005. Effect of solvent, temperature, and solvent-to-solid ratio on the total phenolic content and antiradical activity of extracts from different compounds of grape pomace. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 53: 2111-2117.
- Puertas B, Jiménez MJ, Cantos-Villar E, Piñeiro Z. 2013. Effect of the dry ice maceration and oak cask fermentation on colour parameters and sensorial evaluation of Tempranillo wines. *International Journal of Food Science & Technology*, 48(4): 835-842.

- Puertas B, Guerrero RF, Jurado MS, Jimenez MJ, Cantos-Villar E. 2008. Evaluation of alternative winemaking processes for red wine color enhancement. *International Journal Food Science of Technology*, 14:21-28
- Ramos T, Fleuriet A, Rascalou M, Macheix JJ. 2003. The effect of anaerobic metabolism of grape berry skins on phenolic compounds. *American Journal of Enology and Viticulture*, 44(1): 13–16.
- Retali E. 2004. Macération préfermentaire à froid: application à une vendange de Nielluccio. *Revue Française D' OEnologie*, 209: 16-18.
- Reynolds A, Cliff M, Girard B, Kopp TG. 2001. Influence of fermentation temperature on composition and sensory properties of Semillon and Shiraz wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 52: 235-240.
- Ribéreau-Gayon P, Glories Y, Maujean A, Dubourdieu D. 1998. *Traité d'Oenologie. 2-Chimie du vin. Stabilisation et traitements*. Paris: La Vigne. 1184 p.
- Ribéreau-Gayon P. 1970. Le dosage des composés phénoliques totaux dans les vins rouges. *Analitical Chimestry*, 52(6), 627-631.
- Ribéreau-Gayon P, Stonestreet E. 1965. Le dosage des anthocyanes dans le vin rouge. *Bulletin de la Societé Chimique*, 9: 2649.
- Ricardo-Da-Silva JM, Cheynier V, Samson A, Bourzeix M. 1993. Effect on pomace contact, carbonic maceration and hyperoxidation on the procyanidin composition of Grenache blanc wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 44: 168-172.
- Rizzon L, Miele A, Meneguzzo J, Zanuz M. 1999. Efeito de três processos de vinificação sobre a composição química e a qualidade do vinho Cabernet franc. *Pesquisa Agropecuaria de Brasazil*, 34 (7): 1285-1293.
- Romero-Cascales I, Ros-García JM, López-Roca JM, Gómez-Plaza E. 2012. The effect of a commercial pectolytic enzyme on grape skin cell wall degradation and colour evolution during the maceration process. *Food Chemistry*, 130 (3): 626–631.
- Romero-Cascales, I. 2008 *Extracción de compuestos fenólicos de la uva al vino. Papel de los enzimas de maceración*. Tesis de PhD. Murcia, España. Universidad de Murcia. 273p.

- Romero-Cascales I, Fernández-Fernández J, López-Roca J, Gómez-Plaza E. 2005a. The maceration process during winemaking extraction of anthocyanins from grape skins into wine. *European Food Research Technology*, 221: 163-167.
- Romero-Cascales I, Ortega-Regules A, López-Roca J, Fernández-Fernández J, Gómez-Plaza E. 2005b. Differences in anthocyanin extractability from grapes to wines according to variety. *American Journal of Enology and Viticulture*, 56 (3): 212-219.
- Sacchi K, Bisson L, Adams D. 2005. A review of the effect of winemaking techniques on phenolic extraction in red wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 56 (3): 197-206.
- Sahonet, D. 2002. La macération pre fermentaire à chaud. *Progrès Agricole et Viticole*, 19: 416-418.
- Salinas MR, Garijo J, Pardo F, Zalacain A, Alonso GL. 2005. Influence of prefermentative maceration temperature on the colour and the phenolic and volatile composition of rosé wines. *Journal of the Science of Food & Agriculture*, 85:1527–1536.
- Sauvage FX, Romieu CG, Flanzzy C, Robin JP. 1991. Aminotransferases in Grapes. Isolation and Characterization of Aspartate Aminotransferase. *American Journal of Enology and Viticulture*, 42: 209-218
- Somers T, Verette E. 1988. Phenolic composition of natural wine types. *Wine Analysis*, 6: 219-257.
- Somers T, Evans M. 1979. Grape pigment phenomena: interpretation of major colour losses during vinification. *Journal of the Science of Food & Agriculture*, 30: 623-633.
- Souquet JM, Labarbe B, Le Guernevé C, Cheynier V, Moutounet M. 2000. Phenolic composition of grape stems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48 (4): 1076-1080.
- Spranger I, Clímaco MC, Sun B, Eiriz N, Fortunato C. 2004. Differentiation of red winemaking technologies by phenolic and volatile composition. *Analytical Chemistry*, 513:151–61

- Sun B, Spranger I, Roque-do-Vale F, Leandro C, Belchior P. 2001. Effect of different winemaking technologies on phenolic composition in Tinta Miúda red wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49: 5809-5816.
- 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.
- Tesniere C, Flanzy C. 2011. Carbonic Maceration Wines: Characteristics and Winemaking Process. *Advances in Food and Nutrition Research*, (63): 1-15.
- Tesniere C, Romieu C, Dugelay I, Nicol MZ, Flanzy C, Robin JP. 1994. Partial recovery of grape energy metabolism upon aeration following anaerobic stress. *Journal of Experimental Botany*, 45: 145–151.
- Tesniere C, Baumes R, Bayonove C, Flanzy C. 1989. Effect of simulated alcoholic fermentation on aroma components of grape berries during anaerobic metabolism. *American Journal of Enology and Viticulture*, 40: 183-188
- White BB, Ough CS, 1973. Oxygen uptake studies on grape juice. *American Journal of Enology and Viticulture*. 24: 148-152.
- Zamora F. 2003. *Elaboración y crianza del vino tinto: Aspectos científicos y prácticos*. Madrid: Mundi-Prensa. 225 p.
- Zimman A, Waterhouse A. 2004. Incorporation of malvidin-3-glucoside into high molecular weight polyphenols during fermentation and wine aging. *American Journal of Enology and Viticulture*, 55 (2): 139-146
- 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.

Zoecklein, B.W.; McMahon, H.M.; Jasinski, Y.W. 1999. The effects of prefermentation maceration temperature and percent alcohol at press on the concentration of Cabernet Sauvignon grape glycosides and glycoside fractions. *American Journal of Enology and Viticulture*, 50 (4): 385-390.

## 6. ANEXOS

### Extracción de polifenoles y composición de vinos tintos Tannat elaborados por técnicas de maceración prefermentativa

Piccardo Diego<sup>1</sup>, González-Neves Gustavo<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Escuela Superior de Vitivinicultura «Presidente Tomás Berreta», Universidad del Trabajo del Uruguay. Ruta 48 km 18, El Colorado, Canelones, Uruguay. Correo electrónico: dpiccardo1@hotmail.com

<sup>2</sup>Facultad de Agronomía, Udelar. Garzón 780, 12900, Montevideo, Uruguay.

Recibido: 27/12/12 - Aceptado: 18/3/13

#### Resumen

Con el objetivo de evaluar el efecto de la técnica de maceración sobre la extracción de compuestos fenólicos y la composición del vino al descube, durante la vendimia 2011 se elaboraron vinos tintos Tannat por maceración prefermentativa en frío (MF: mosto sometido cinco días a una temperatura entre 5 y 10 °C con una maceración fermentativa posterior de ocho días), prefermentativa en caliente (MC: mosto sometido seis horas a temperatura entre 60-65 °C previo a una maceración fermentativa de ocho) y tradicional (MT: mosto sometido a una maceración con fermentación de ocho días). Se comparó la extracción de polifenoles totales y de antocianos obtenida con cada técnica de vinificación, realizando análisis diarios de estos compuestos desde el encubado hasta el descube, en donde se determinó además la intensidad colorante, tonalidad y porcentajes de amarillo, rojo y azul para cada técnica empleada. La extracción de polifenoles totales y antocianos en los mostos MF presentó una cinética más lenta durante la maceración, produciendo vinos que no se diferenciaron significativamente de los elaborados por MT. Los mostos MC presentaron mayor extracción de polifenoles totales y antocianos durante la etapa prefermentativa, que se mantuvieron durante la fermentación alcohólica, obteniendo vinos con mayor intensidad colorante y mayor tonalidad respecto a los elaborados por MT. La maceración prefermentativa en caliente es una alternativa tecnológica que permite mejorar la extracción de polifenoles y potenciar el color de los vinos tintos Tannat, incrementando su aptitud para la crianza.

**Palabras clave:** maceración en frío, maceración en caliente, termovinificación, antocianos, vinificación

#### Summary

### Polyphenols Extraction and Composition of Tannat Red Wines Produced by Prefermentative Maceration Techniques

In order to evaluate the effect of the maceration technique on the extraction of phenolic compounds and the composition of the wine at devatting during 2011 vintage, Tannat red wines were produced by prefermentative cold maceration (MF: must subject to a temperature between 5 to 10 °C for five days, and eight days of fermentation with maceration), prefermentative hot maceration (MC: must subject to six hours at 60-65 °C and eight days fermentation with maceration) and traditional maceration (MT: must under maceration for eight days). The extraction of total polyphenols and anthocyanins obtained with each vinification technique was compared, performing daily analysis of these compounds from barreling through devatting, where color intensity, hue and percentage of yellow, red and blue were also determined for each technique. The extraction of total polyphenols and anthocyanins in musts MF showed a delayed kinetics during prefermentative stage, producing wines that do not differ significantly from MT wines. MC musts showed higher extraction of total polyphenols and anthocyanins during prefermentative stage, which remained during alcoholic fermentation, getting wines with more color intensity and hue compared with MT wines.

The prefermentative hot maceration is a technological alternative that allows to improve the extraction of polyphenols and enhance the color of Tannat red wines, making them suitable for aging.

**Key words:** cold maceration, hot maceration, thermovinification, anthocianins, winemaking

### Introducción

Tannat es la variedad vinífera tinta de mayor relevancia en Uruguay, debido a la superficie de viñedo implantada, a su adaptación a las condiciones eco-fisiológicas del país y a la tipicidad de sus vinos (González-Neves y Ferrer, 2000). En general, los vinos obtenidos a partir de esta variedad presentan elevados contenidos de polifenoles totales, antocianos, catequinas y proantocianidinas, una intensidad colorante superior y mayores tonalidades rojas que los vinos elaborados a partir de Cabernet Sauvignon y Merlot (González-Neves et al., 2004a, 2004b). La riqueza polifenólica y antocianica de los vinos Tannat está relacionada con el potencial enológico de sus uvas y ha sido reportada en numerosos trabajos (González-Neves y Ferrer, 2000; González-Neves et al., 2006, 2007). Se ha constatado que los vinos elaborados mediante maceraciones tradicionales mantienen el perfil antocianico característico de la uva durante cierto tiempo. Sin embargo, la estabilidad del color de los vinos Tannat es menor a la de los vinos de otras variedades (González-Neves et al., 2005; González-Neves y Ferrer, 2008). En este sentido, se debe recordar que la composición antocianica experimenta cambios radicales en el curso de la conservación y crianza de los vinos tintos, con formación de pigmentos derivados de los antocianos, que pasan a tener un rol primordial en el color (Boido et al., 2006; Fulcrand et al., 2006).

En el proceso de vinificación, durante la maceración, se determinan los contenidos de antocianos y taninos (Glories, 1984; Glories y Galvin, 1990), a la vez que se promueven reacciones de copigmentación y condensación indispensables para la estabilidad futura del color y el suavizado de la astringencia (Glories, 1984). La maceración es un proceso físico-químico complejo que incluye: extracción de las sustancias contenidas en los tejidos de los hollejos y semillas, difusión en el mosto, reifación a diversos sólidos y modificación de los compuestos extraídos. Estas últimas incluyen esencialmente compuestos fenólicos (particularmente antocianos y taninos), pero también sustancias aromáticas y precursores de aromas, sustancias nitrogenadas, polisacáridos (especialmente pectinas), sustancias minerales (como el potasio), etc. (Ribereau-Gayon et al., 1998).

Varias prácticas alternativas de vinificación han sido propuestas para regular e incrementar la extracción de compuestos de las uvas durante la maceración, así como también promover la aparición en el vino de nuevos compuestos más estables en el tiempo. Entre ellas: la maceración prefermentativa en frío, que consiste en una maceración en ausencia de alcohol, durante un tiempo tal que permita la difusión selectiva de ciertos compuestos hidrosolubles de la uva: principalmente antocianos y taninos de bajo peso molecular (Llaudy et al., 2005; Sacchi et al., 2005; Alvarez et al., 2006). La difusión prioritaria de los antocianos, durante la fase prefermentativa, explica el aumento de color de los vinos obtenidos. Las temperaturas y los tiempos en que se realiza esta práctica son muy variables, citándose entre 3 y 10 °C durante un periodo de tres a siete días (Sacchi et al., 2005; De Beer et al., 2006). Por otra parte, la maceración prefermentativa en caliente se puede definir como el calentamiento de los racimos enteros o estrujados antes de la fermentación alcohólica, con el objeto de obtener mostos o vinos más coloreados (Auw et al., 1996; Boulet, 2003). El calor actúa alterando los tejidos de los hollejos y transfiriendo sus componentes al mosto. Las temperaturas a las que se eleva el mosto durante la etapa prefermentativa varían entre 40 y 80 °C, a la vez que la duración de la maceración es dependiente de la temperatura (entre 12 y 24 h) (Ribereau-Gayon et al., 1998).

En general, la aplicación de estas técnicas ha permitido incrementar el color de los vinos, aunque no está claro como varía la extracción de los compuestos fenólicos y el color durante el curso de cada tipo de maceración (Vivas, 1993; Sacchi et al., 2005). El objetivo de esta investigación fue evaluar la cinética de extracción de los compuestos fenólicos durante la vinificación mediante maceración prefermentativa en frío y maceración prefermentativa en caliente y su efecto sobre la composición y el color de vinos tintos jóvenes elaborados a partir de uvas de la variedad Tannat.

### Materiales y métodos

#### Protocolos de vinificación

Las uvas del cv. Tannat fueron cosechadas durante la vendimia 2011, de un viñedo comercial ubicado en El Colo-

rado, Canelones, Uruguay. La fecha de cosecha fue determinada a través del seguimiento del contenido de azúcares, la acidez total y el pH de las bayas, así como también de su potencial polifenólico. En cosecha las uvas presentaron 238,2 g/l de azúcar, 4,59 g de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>/l de acidez total, pH de 3,41, antocianos totales (ApH1) 2356,64 mg/l de Mv-3-G, antocianos extraíbles (ApH3,2) 1117,94 mg/l de Mv-3-G e índice de polifenoles totales (A280) de 81,19. La uva fue cosechada en cajones de plástico de 20 kg y en bodega fue distribuida de forma aleatoria entre las distintas unidades experimentales.

El diseño experimental fue completamente al azar, con dos repeticiones por tratamiento, donde la unidad experimental consistió en un tanque de acero inoxidable de 100 l de capacidad conteniendo el mosto correspondiente a la molinda de 70 kg de uva. Las uvas fueron procesadas con una descobajadora-moledora Heilbronn (AMOS, Italia) y encubadas en los recipientes para realizar las vinificaciones por maceración prefermentativa en frío (MF), maceración prefermentativa en caliente (MC) y maceración tradicional (MT).

Luego del encubado, se adicionó anhídrido sulfuroso a los tanques vinificados por MF y fueron llevados a cámara de frío durante cinco días, con temperatura controlada entre los 5 y los 10 °C. Posteriormente, la temperatura se elevó hasta 20 °C, momento en el cual los mostos se inocularon con levaduras seleccionadas y fueron sometidos a una maceración fermentativa durante ocho días.

La vinificación por MC consistió en la aplicación, previa a la fermentación alcohólica, de temperaturas comprendidas entre 60-65 °C durante seis horas, utilizando un intercambiador de placas sumergido dentro del mosto en cada tanque, agitando periódicamente de manera manual para homogeneizar. A continuación, se disminuyó la temperatura a 20 °C, se le adicionó anhídrido sulfuroso y se inoculó con levaduras secas activas, realizando ocho días de maceración con fermentación alcohólica.

La vinificación por MT fue utilizada como testigo. Luego del despallado y estrujado se le adicionó anhídrido sulfuroso y se inoculó con levaduras secas activas, realizando una maceración con fermentación alcohólica de ocho días.

En todos los tratamientos se realizaron dos remontajes diarios, seguidos de bazuqueos, durante todo el período de maceración. Las temperaturas de fermentación fueron controladas entre los 20 y 25 °C y los vinos fueron separados de los orujos a los ocho días de maceración con fermentación alcohólica. Las dosis de anhídrido sulfuroso (Bass,

Alemania) fueron de 5 g/hl y 20 g/hl de levadura seca activa *Saccharomyces cerevisiae* LWUY4 (DSM, Chile) para cada tratamiento.

#### Análisis fisicoquímicos de los mostos

Los mostos fueron analizados por duplicado desde la molinda hasta el descube. Se extrajo una muestra de cada recipiente cada 24 horas, después de homogeneizar el contenido mediante remontajes. Previo al análisis, los mostos fueron descarboxados durante cinco minutos utilizando una bomba de vacío y centrifugados a 3500 rpm durante cinco minutos. Al momento de molinda se determinó su contenido de azúcares, acidez total y pH, empleando los métodos propuestos por OIV (1990). Durante la maceración se determinó temperatura, densidad del mosto, contenido de fenoles totales (IPT) y antocianos. El IPT fue estimado a través de medidas de la absorbancia a 280 nm (Ribéreau-Gayon, 1970). Los antocianos totales fueron determinados por el método de Ribéreau-Gayon y Stonestreet (1965). Las medidas se realizaron con un espectrofotómetro SHIMADZU, UVmini-1240, empleando celdas de cuarzo de un centímetro de recorrido óptico para medir A280 y de vidrio de un centímetro de recorrido óptico para antocianos.

#### Análisis fisicoquímicos de los vinos

Dos muestras de vino de cada tratamiento fueron analizadas al descube. Se determinaron parámetros enológicos clásicos (alcohol, acidez total, pH, anhídrido sulfuroso total y libre, acidez volátil) empleando los métodos propuestos por OIV (1990) y la composición fenólica y antocianica por las técnicas anteriormente mencionadas (Ribéreau-Gayon, 1970; Ribéreau-Gayon y Stonestreet, 1965). El color fue evaluado por el método de Glories (1964) determinando la intensidad colorante, tonalidad y porcentajes de amarillo, rojo y azul. Las medidas se realizaron con un espectrofotómetro SHIMADZU, UVmini-1240, empleando celdas de cuarzo de un centímetro de recorrido óptico para medir A280, de vidrio de un centímetro de recorrido óptico para antocianos y de vidrio de un milímetro de recorrido óptico para los parámetros cromáticos.

#### Análisis estadísticos

Las diferencias estadísticas entre los tratamientos fueron determinadas aplicando análisis de varianza y prueba de comparación de medias por Test de Tukey ( $p < 0,05$ ) a los resultados obtenidos.

## Resultados y discusión

### Desarrollo de la fermentación

La fermentación alcohólica se llevó a cabo dentro de las temperaturas prestablecidas para todos los tratamientos, desarrollándose sin paradas de fermentación (Figura 1). Los mostos MF presentaron una cinética de fermentación más lenta que los de MT. Según Cuénat et al. (1996) y Casassa et al. (2007) la maceración prefermentativa en frío favorece el desarrollo de levaduras criófilas indígenas previo a la fermentación alcohólica, consumiendo factores de crecimiento y produciendo metabolitos antagonistas que pueden dificultar el desarrollo de la levadura seca activa inoculada. Los mostos MF se mantuvieron cinco días a una temperatura inferior a los 10 °C, periodo en el cual no se observó actividad fermentativa. La fermentación alcohólica llevada a cabo por levaduras seleccionadas no se vio afectada al prolongar la fase prefermentativa, alcanzando a una densidad inferior a 1000 g/l a los ocho días de iniciada.

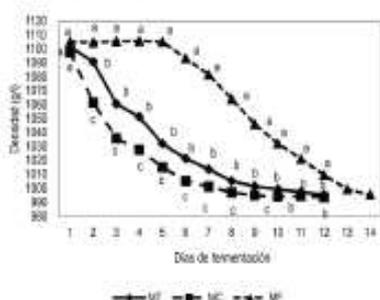


Figura 1. Evolución de la densidad (g/l) desde el encubado hasta fin de fermentación alcohólica según tratamiento. Medias con distinta letra indican diferencias significativas para el Test de Tukey ( $p < 0,05$ ). MT es Maceración tradicional, MF es Maceración prefermentativa en frío, MC es Maceración prefermentativa en caliente.

Luego del tratamiento térmico en caliente, los mostos MC presentaron una cinética de fermentación acelerada respecto a los de MT, obteniendo una densidad inferior a 1000 g/l a los siete días de iniciada la fermentación alcohólica. Con temperaturas superiores a los 40 °C, las poblaciones de bacterias lácticas y acéticas, así como de levaduras, desaparecen (Ribéreau-Gayon et al., 1998). La extracción de factores de crecimiento durante el calentamiento

favorece el desarrollo posterior de las levaduras inoculadas (Hidalgo, 2003), lo cual explica los resultados obtenidos para este tratamiento.

### Evolución del índice de polifenoles totales

Los mostos de los tratamientos evaluados presentaron diferencias en el perfil de extracción de polifenoles totales durante la maceración (Figura 2). Los mostos MT presentaron un aumento en el contenido de polifenoles totales desde el encubado hasta el quinto día de maceración donde alcanzaron el valor máximo, con una disminución hacia fin de la fermentación alcohólica. El aumento de la extracción durante la etapa prefermentativa e inicios de la fermentación se debe a la disolución de compuestos hidrosolubles en el mosto, principalmente antocianos, en conjunto con un aumento del contenido de alcohol del medio y de la temperatura, factores que potencian la extracción de los taninos. La reifijación de las sustancias extraídas a diversos sólidos y algunas reacciones químicas en las que participan (oxidaciones, degradaciones enzimáticas) ocasionan disminuciones de los contenidos de los compuestos fenólicos hacia fin de fermentación alcohólica (Docco et al., 1996; Boulton, 2001).

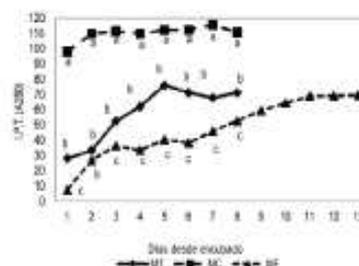


Figura 2. Evolución del IPT (índice de polifenoles totales) durante la maceración según tratamiento. Medias con distinta letra indican diferencias significativas para el Test de Tukey ( $p < 0,05$ ). MT es Maceración tradicional, MF es Maceración prefermentativa en frío, MC es Maceración prefermentativa en caliente.

La extracción de compuestos fenólicos de los mostos MF se vio retrasada respecto a los demás tratamientos. Resultados similares fueron obtenidos por Cuénat et al. (1996) y González-Neves y Ferrer (2008) y pueden explicarse debido a la baja temperatura del mosto y a la ausencia de alcohol en el medio. La combinación de estos facto-

res de extracción produce una difusión selectiva de compuestos fenólicos solubles en medio acuoso y limita la extracción de compuestos solubles en medio hidroalcohólico, como los taninos. El alcohol y las bajas temperaturas intervienen rompiendo las estructuras celulares de los tejidos de la baya y solubilizando la capa lipídica de las semillas, acentuando la disolución de los constituyentes polifenólicos de la uva en el mosto (Ribéreau-Gayon et al., 1998; Hidaigo, 2003).

Los mostos MC mostraron los mayores valores de polifenoles totales durante la maceración fermentativa (Figura 2). Durante el tratamiento térmico se observó un aumento brusco en la extracción de polifenoles a medida que aumentaba la temperatura del mosto hasta alcanzar los 60 °C (Figura 3). En las seis horas de maceración a 60 °C, el contenido de polifenoles totales aumentó, pero en menor proporción respecto a la primera etapa, estabilizándose hacia la última hora de maceración prefermentativa. Varios autores han reportado que el calentamiento del mosto por encima de los 40 °C incrementa la extracción de los compuestos fenólicos de la uva (Boulet, 2003). Escudier et al. (2008) plantean que dichas sustancias también disminuyen durante la fermentación alcohólica, resultando los vinos al final de la misma con un contenido superior (20-40%) respecto a una vinificación tradicional. En esta investigación no se observó una disminución del índice de polifenoles totales durante la maceración fermentativa; el contenido de polifenoles totales se mantuvo estable durante esta etapa. Cuando se realiza esta técnica de extracción no hay alcohol presente en el medio, por tanto se esperan resultados positivos en el contenido de antocianos, en tanto que el efecto sobre el contenido de taninos es más atenuado (Auw et al., 1996; Bouton et al., 2002). Por otra parte, se ha reportado que no existe ganancia suplementaria en la extracción de polifeno-

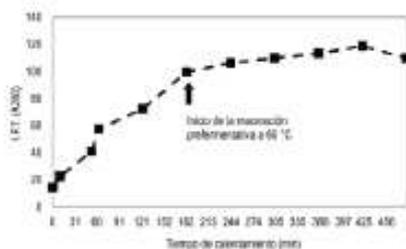


Figura 3. Evolución del IPT (índice de polifenoles totales) durante la maceración prefermentativa del tratamiento maceración prefermentativa en caliente.

les al realizar una maceración prefermentativa en caliente por encima de las siete horas (Cottureau y Desseigne, 2007), resultados que concuerdan con los obtenidos.

#### Evolución del contenido de antocianos

La evolución de los contenidos de antocianos en los mostos se observa en la Figura 4. Los mostos MT presentaron una extracción importante de los compuestos en los primeros días, alcanzando una concentración máxima, disminuyendo posteriormente sus contenidos, lo que corresponde a lo mencionado por la bibliografía (Marais, 2003a, 2003b; González-Neves y Ferrer, 2008). Dicha disminución se debe a que los antocianos son oxidados, adsorbidos por las levaduras y microcristales de bitartrato de potasio durante el desarrollo de la fermentación alcohólica, reñados en las partes sólidas de la uva o combinados con otros compuestos presentes en el mosto, tal como es reportado por Ribéreau-Gayon et al. (1998) y Zamora (2003).

En los mostos MF se observó un retraso en la extracción de antocianos respecto a los demás tratamientos, alcanzando el valor máximo al descube. Dicho contenido máximo de antocianos es menor al máximo obtenido por el tratamiento MT, resultados que no concuerdan con lo esperado, dado que la maceración prefermentativa en frío persigue la extracción prioritaria de estos compuestos (Marais, 2003a, 2003b; Gómez-Migues et al., 2006). Estos resultados podrían deberse a la baja temperatura durante la etapa prefermentativa, que determina una menor solubilización de los antocianos presentes en los hollejos, ocasionando un retraso en su extracción, resultados que también han sido reportados por otros investigadores (Casassa et al., 2007; González-Neves y Ferrer, 2008). A su vez, el rápido incremento obtenido en la extracción de antocianos cuando el mosto fue llevado a temperatura ambiente y en conjunción con el proceso fermentativo, concuerda con las cinéticas de extracción de estos compuestos reportadas (Zamora, 2003; Marota et al., 2005) y se deben fundamentalmente al efecto de la temperatura y del contenido de alcohol del medio, que potencian la extracción de dichos compuestos (Sacchi et al., 2005).

Al inicio de la fermentación alcohólica, los mostos MC, mostraron los mayores contenidos de antocianos respecto a los mostos MT y MF (Figura 4). Si bien se observó una disminución del contenido de antocianos durante la maceración fermentativa, los contenidos fueron significativamente superiores a los obtenidos en los demás tratamientos. El elevado contenido de antocianos al principio de la fermentación alcohólica indica que la extracción de estos compues-

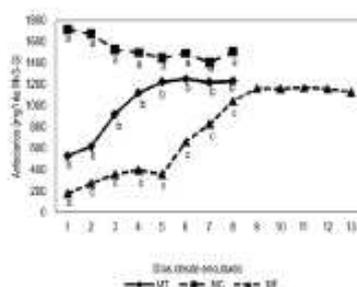


Figura 4. Evolución del contenido de antocianos durante la maceración según tratamiento. Medias con distinta letra indican diferencias significativas para el Test de Tukey ( $p < 0,05$ ). MT es Maceración tradicional, MF es Maceración prefermentativa en frío, MC es Maceración prefermentativa en caliente. Mv3-G es malvidin-3-glucósido.

tos se realizó durante la etapa prefermentativa por efecto de la temperatura. Durante la etapa de calentamiento del mosto y la primera hora de maceración prefermentativa en caliente por encima de  $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ , se observó un incremento constante en el contenido de antocianos del mosto, manteniéndose durante las restantes cinco horas de tratamiento térmico (Figura 5). Este incremento determinó cambios en el color del mosto, observándose al final de la etapa prefermentativa una elevada intensidad colorante con tonalidades violáceas intensas (datos no presentados). Los resultados obtenidos coinciden con los reportados por varios investigadores, quienes plantean que la máxima extracción de antocianos se obtiene en las primeras horas de la maceración prefermentativa en caliente (Escudier et al., 2008), siendo tres veces mayor al de una fermentación tradicional (Gao et al., 1997) y disminuyendo rápidamente hacia fin de la fermentación. Al descube se observaron contenidos 1,5

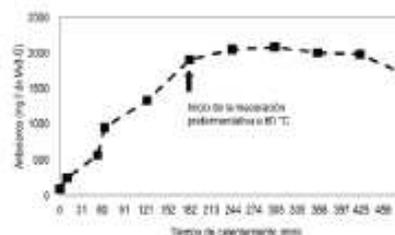


Figura 5. Evolución del contenido de antocianos durante la etapa prefermentativa del tratamiento de maceración prefermentativa en caliente. Mv3-G es malvidin-3-glucósido.

veces mayores respecto a la vinificación tradicional (Girard et al., 1997).

#### Composición físico-química de los vinos

La composición físico-química de los vinos al descube se muestra en el Cuadro 1. Los vinos MC presentaron mayor contenido de alcohol respecto a los vinos MT y MF. Esto se debe a que en la maceración prefermentativa en caliente hay evaporación de compuestos volátiles así como también de agua, lo que puede contribuir a la concentración de los distintos compuestos presentes en el mosto, entre ellos los azúcares, que serán sustrato de las levaduras (Fischer et al., 2000).

En nuestra investigación no se observaron diferencias significativas en la acidez total ni en el pH entre los vinos MC y MT. Varios autores señalan que durante la maceración prefermentativa en caliente se extraen mayores contenidos de ácido tartárico y málico, que disminuyen durante la fermentación hasta obtener valores que no difieren con los de una vinificación tradicional, debido a la mayor extracción de cationes y a la disminución de estos ácidos por salificación (Ribéreau-Gayon et al., 1998; Hidalgo, 2003). Los vi-

Cuadro 1. Composición físico-química de los vinos al descube. Medias con distinta letra indican diferencias significativas para el Test de Tukey ( $p < 0,05$ ). MT es Maceración tradicional, MF es Maceración prefermentativa en frío, MC es Maceración prefermentativa en caliente.

	Alcohol (%v/v)	Acidez total (gH <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> /l)	Acidez volátil (gH <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> /l)	pH	Extracto seco (g/l)	Azúcar residual (g/l)
MT	12,10 <sup>a</sup>	4,57 <sup>a</sup>	0,34 <sup>a</sup>	3,71 <sup>a</sup>	31,90 <sup>a</sup>	1,67 <sup>a</sup>
MF	12,15 <sup>b</sup>	4,97 <sup>a</sup>	0,29 <sup>a</sup>	3,69 <sup>a</sup>	29,07 <sup>a</sup>	1,61 <sup>a</sup>
MC	13,75 <sup>a</sup>	4,67 <sup>a</sup>	0,46 <sup>a</sup>	3,81 <sup>a</sup>	34,54 <sup>a</sup>	1,42 <sup>a</sup>

**Cuadro 2.** Color y composición polifenólica de los vinos al descube. Medias con distinta letra indican diferencias significativas para el Test de Tukey ( $p < 0,05$ ). MT es Maceración tradicional, MF es Maceración prefermentativa en frío, MC es Maceración prefermentativa en caliente, IPT = Índice de polifenoles totales, IC = Intensidad colorante; Ton = Tonalidad, % Am = Porcentaje de amarillo, % Ro = Porcentaje de rojo, % Az = Porcentaje de azul. Mv3-G es malvidín-3-glucósido.

	ITP (A280)	Antocianos (mg/l Mv3-G)	IC	Ton	% Am	% Ro	% Az
MT	60,98 <sup>b</sup>	1227,84 <sup>b</sup>	23,98 <sup>b</sup>	0,43 <sup>b</sup>	23,37 <sup>b</sup>	63,18 <sup>a</sup>	10,43 <sup>b</sup>
MF	60,18 <sup>b</sup>	1124,59 <sup>b</sup>	24,21 <sup>b</sup>	0,43 <sup>b</sup>	26,79 <sup>b</sup>	62,64 <sup>a</sup>	10,57 <sup>b</sup>
MC	96,45 <sup>a</sup>	1484,88 <sup>a</sup>	34,87 <sup>a</sup>	0,60 <sup>a</sup>	30,54 <sup>a</sup>	52,44 <sup>a</sup>	16,02 <sup>a</sup>

nos MC mostraron mayor acidez volátil, no significativa, respecto a los vinos de los demás tratamientos. De acuerdo a lo reportado por Hidalgo (2003) existe un aumento en la producción de ácido acético durante el calentamiento, que contribuye a un aumento en la acidez volátil de los vinos, y que es originario de la reacción de Maillard entre aminoácidos y azúcares, resultados no observados en esta investigación.

Los vinos del MF no se diferenciaron significativamente en cuanto a la composición química respecto a los MT, resultados que concuerdan con los obtenidos por Cuénat et al. (1996), Casassa et al. (2007) y De Santis y Frangipane (2010).

#### Color y composición fenólica de los vinos al descube

En el Cuadro 2 se observa el color y la composición polifenólica de los vinos al descube. Los vinos MF no presentaron diferencias significativas en el color (intensidad colorante, tonalidad, porcentaje rojo, porcentaje amarillo y porcentaje de azul) ni en la composición polifenólica (IPT y antocianos) respecto a los obtenidos a partir de una vinificación tradicional (MT). Estos resultados concuerdan con lo propuesto por Feulliat y Peyrono (2003), quienes plantean que el contenido fenólico de los vinos elaborados por maceración prefermentativa en frío no es significativamente mayor, e incluso puede ser menor, al obtenido por vinificaciones tradicionales. Sin embargo, varios autores observaron un incremento en el contenido de antocianos y en la intensidad colorante de los vinos al realizar maceraciones prefermentativas en frío, aunque plantean que este efecto es poco repetible en los años y está determinado por las características genéticas de la variedad utilizada (González-Neves y Ferre, 2008; De Santis y Frangipane, 2010).

Los vinos MC se diferenciaron significativamente de los elaborados por MT y MF, al presentar mayores contenidos de polifenoles y antocianos, mayor intensidad colorante, to-

nalidad, porcentaje de amarillo y porcentaje de azul. La mayor extracción de antocianos durante la maceración prefermentativa en caliente determinó vinos con mayores concentraciones de estos pigmentos y por lo tanto, con mayor intensidad colorante, resultados que coinciden con los obtenidos por Rizzon et al. (1999). La mayor tonalidad registrada debido a un mayor porcentaje de color amarillo en los vinos MC podía indicar oxidación de los antocianos extraídos. Algunos autores reportan vinos obtenidos a partir de maceración prefermentativa en caliente con mayor color y más ricos en antocianos que los obtenidos a partir de una vinificación tradicional, aunque durante su crianza en cubas presentaron una pérdida importante de pigmentos, debido a que los incrementos de las concentraciones de antocianos y taninos no necesariamente conducen a formas coloreadas estables (Boulet, 2003).

#### Conclusiones

A través de los resultados obtenidos se puede concluir que la técnica de vinificación condiciona fuertemente la extracción de polifenoles y antocianos, modificando las características de los vinos tintos jóvenes.

El perfil de extracción de polifenoles y antocianos de los mostos elaborados por maceración prefermentativa en frío fue diferente respecto a los elaborados por técnicas tradicionales. No obstante, a través de la técnica de maceración prefermentativa en frío no se lograron diferenciar los vinos, respecto a una vinificación tradicional, en cuanto a la composición polifenólica y a las características cromáticas. Dado que esta técnica puede promover la formación de pigmentos estables en el tiempo, se debe realizar un estudio del color debido a antocianos libres, polimerizados y copigmentados, así como la evolución de la composición antocianica del vino durante la conservación, para determinar el efecto de esta práctica sobre la estabilidad del color.

La maceración prefermentativa en caliente se diferenció de los demás tratamientos evaluados, siendo la que presentó vinos con mayor índice de polifenoles totales y contenido de antocianos durante la maceración y al momento del descube, manifestándose como una alternativa promisoriosa para la elaboración de vinos tintos Tannat.

### Agradecimientos

Los autores agradecen a los Enol. Diego Molinari, Lorena Pascual, Fabiana Rodríguez y Silvana Torchelo por su colaboración en las determinaciones analíticas de los mostos y vinos, así como también a Enol. Verónica Cabrera, Enol. Néstor Camelia, Ing. Agr. Graciela Calero e Ing. Agr. Emilia Pattarino por la colaboración durante el desarrollo de la investigación.

Al Dr. Rodolfo Ungerfeld, por sus aportes en la revisión del manuscrito.

### Bibliografía

- Álvarez, A., Alexandre JL, García MJ, Lizama V. 2006. Impact of prefermentative maceration on the phenolic and volatile compounds in Monastrell red wines. *Análisis Químico Acta*, 56(2): 109-115.
- Auv JM, Blanco V, O'Keefe SF, Sims CA. 1996. Effect of processing on the phenolics and color of Cabernet Sauvignon, Chardonnay, and Noble wines and juices. *American Journal of Enology and Viticulture*, 47: 279-286.
- Boido E, Alcaláde-Eon C, Carrau F, Dellacasa E, Rivas-Gonzalo JC. 2005. Aging effect on the pigment composition and color of Vitis vinifera L. Cv. Tannat Wines: contribution of the main pigment families to the wine color. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54: 6692-6704.
- Boulet JC. 2003. Termotratamiento de la vendimia. Evoluciones y consecuencias. En: Flory C. *Enología: fundamentos científicos tecnológicos*. Madrid: Mundiprensa. pp. 484-489.
- 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.
- Boulton R, Singleton V, Bisson L, Kakke R. 2002. Teoría y práctica de la elaboración del vino. Zaragoza: ACRISA. 633p.
- Casassa F, Sari S, Avagnina S, Diás 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. *Revista Internet de Viticultura y Enología*, 4(3): 1-14.
- Cottreau P, Desoigne J. 2007. Chauffage de la vendange et arômes halés. En: *Entretiens vitivinicoles Rhône-Méditerranée*. Narbonne: TV France. pp. 20-22.
- Cañat P, Lorenzini F, Breguy R, Zufferey E. 1996. La maceración prefermentativa a frío del Pinot noir. Aspecto tecnológico y microbiológico. *Revue Suisse Viticulture Arboriculture Horticulture* 4: 259-265.
- De Beer D, Joubert E, Marais J, Manley M. 2006. Maceration before and during fermentation: Effect on Pinotage wine phenolic composition, total antioxidant capacity and objective colour parameters. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 27(2): 137-150.
- De Santis D, Frangipane M. 2010. Effect of prefermentative cold maceration on the aroma and phenolic profiles of a merlot red wine. *Italian Journal of Food Science*, 22(7): 47-54.
- Dooza T, Brillouet J, Moutouret M. 1996. Evolution of grape (Cargnon noir cv) and yeast polysaccharides during fermentation and post-maceration. *American Journal of Enology and Viticulture*, 47(1): 106-110.
- Escudier J, Mikolajczak M, Bes M. 2008. Calentamiento de la cosecha: las tecnologías asociadas, métodos de verificación. *Enología*, 6: 1-19.
- Faustat M, Peyrono D. 2003. Verificación con maceración prefermentativa en frío de Pinot noir. En: Flory C. *Enología: fundamentos científicos tecnológicos*. Madrid: Mundiprensa. pp. 467-473.
- Fischer U, Strasser M, Gutzler K. 2000. Impact of fermentation technology on the phenolic and volatile composition of German red wines. *International Journal of Food Science and Technology*, 35: 81-94.
- Falstrand H, Dueñas M, Salas E, Cheynier W. 2006. Phenolic reactions during winemaking and aging. *American Journal of Enology and Viticulture*, 57(2): 289-297.
- Gao L, Girard B, Mazza G, Reynolds AG. 1997. Changes in anthocyanins and color characteristics of Pinot noir wines during different vinification processes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45: 2003-2008.
- Girard B, Kopp TG, Reynolds AG, Cliff M. 1997. Influence of vinification treatments on aroma constituents and sensory descriptors of Pinot noir wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 48: 193-206.
- Glories Y. 1984. La couleur des vins rouges. 1ère. Partie. Les équilibres des anthocyanes et des tanins. *Connaissance de la vigne et du vin*, 18(3): 196-217.
- Glories Y, Galvin C. 1990. Les complexes tanin-anthocyanes en présence d'éthanol: Conditions de leur formation. *Actualités oenologiques*, 359: 406-413.
- Gómez-Miguels M, González-Wirel L, Heredia F. 2006. Evolution of color and anthocyanin composition of Syrah wines elaborated with pre-fermentative cold maceration. *Journal of Food Engineering*, 79 (1): 271-279.
- González-Neves G, Ferrer M. 2008. Efectos del sistema de conducción y del relevo de racimos en la composición de uvas Merlot. *Agrociencia*, 12(2): 10-19.
- González-Neves G, Ferrer M. 2000. Estudio preliminar de la incidencia de distintas técnicas de manejo del viñedo sobre los parámetros productivos y la composición de vinos tintos de la variedad Tannat. *Viticultura Enología Profesional*, 66: 30-43.
- González-Neves G, Franco J, Moutouret M, Carbonneau A. 2006. Diferenciación des vins de Tannat, Merlot et Cabernet-Sauvignon de Uruguay selon leur composition polyphénolique globale. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, 40(2): 81-89.
- González-Neves G, Barreiro L, Gil G, Franco J, Carbonneau A, Moutouret M. 2005. Estudio de la composición antocianica de uvas y vinos tintos de las cv. Tannat, Cabernet-Sauvignon y Merlot: utilidad de los perfiles obtenidos para la caracterización varietal. *Bollettín O.I.V.*, 887-888: 30-44.
- González-Neves G, Barreiro L, Gil G, Franco J, Ferrer M, Carbonneau A, Moutouret M. 2004a. Anthocyanin composition of Tannat grapes from the South region of Uruguay. *Analytica Chimica Acta*, 513(1): 197-202.
- González-Neves G, Charamelo D, Balado J, Barreiro L, Boshicchio R, Gatto G, Gil G, Tessore A, Carbonneau A, Moutouret M. 2004b. Phenolic potential of Tannat, Cabernet-Sauvignon and Merlot grapes and their correspondence with wine composition. *Analytica Chimica Acta*, 513(1): 191-196.
- Hidalgo J. 2003. *Tratado de Enología*. Vol. I. Madrid: Mundiprensa. 1423p.
- Llady M, Zamora F, Canals R, Canals J, Cabanillas P. 2005. La maceración prefermentativa en frío: efectos sobre la extracción de color y los compuestos fenólicos e influencia del nivel de maduración de la uva [En línea]. *ACE Revista*

- de Enologie. Consultado 10 Octubre de 2012. Disponible en: [http://www.oenologie.com/bienicia72\\_2.htm](http://www.oenologie.com/bienicia72_2.htm).
- Marais J. 2003a. 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 for Enology and Viticulture*, 24: 70-75.
- Marais J. 2003b. Effect of different wine-making techniques on the composition and quality of Pinotage wine. II. Juice/skin mixing practices. *South African Journal for Enology and Viticulture*, 24: 76-79.
- Marota A, Calderon F, Gomez-Cordoves M, Suarez, J. 2005. Effects of pH, temperature and SO<sub>2</sub> on the formation of pyrenoxanthocyanins during red wine fermentation with two species of *Saccharomyces*. *International Journal of Food Microbiology*, 106: 123-129.
- O.I.V. 1990. *Résumé des méthodes internationales d'analyse des vins et des moûts*. Paris : Office International de la Vigne et du Vin. 369p.
- Ribèreau-Gayon P. 1970. Le dosage des composés phénoliques totaux dans les vins rouges. *Chimie Analytique*, 52(6): 627-631.
- Ribèreau-Gayon P, Stonestreet E. 1965. Le dosage des anthocyanes dans le vin rouge. *Bulletin de la Société Chimique de France*, 9: 2648.
- Ribèreau-Gayon P, Glories Y, Maujean A, Dubourdieu D. 1998. *Traité d'œnologie : 2. Chimie du vin, Stabilisation et traitements*. Vol. 2. Paris : Dunod. 1184 p.
- Rizzon L, Miele A, Meneguzzo J, Zanuz M. 1999. Efeito de três processos de vinificação sobre a composição química e a qualidade do vinho Cabernet Franc. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 34(7): 1295-1293.
- Saochi K, Bisson L, Adams D. 2005. A review of the effect of wine making techniques on phenolic extraction in red wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 56(3): 197-206.
- Vivas N. 1993. Les conditions d'élaboration des vins rouges destinés à un élevage en barriques. *Revue des Œnologues*, 68: 27-33.
- Zamora F. 2003. *Elaboración y crianza del vino tinto: Aspectos científicos y prácticos*. Madrid : Mondadori. 225p.