

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE AGRONOMÍA**

**EFFECTO DE LA CLARIFICACIÓN CON PROTEÍNAS VEGETALES SOBRE
LAS CARACTERÍSTICAS DE VINOS TINTOS DE LA VARIEDAD TANNAT**

por

Manuel MACHIAVELLO PÉREZ

**TESIS presentada como uno de
los requisitos para obtener el
título de Ingeniero Agrónomo**

**MONTEVIDEO
URUGUAY
2019**

Tesis aprobada por:

Director: _____

Ing. Agr PhD. Gustavo González Neves

Ing. Agr PhD. Guzmán Favre Silva

Ing. Agr MSc. Diego Piccardo Silva

Fecha: 9 de agosto de 2019

Autor: _____

Manuel Machiavello Pérez

AGRADECIMIENTOS

A mi familia, mis grandes mentores.

Especialmente a mis padres por haberme brindado la oportunidad de estudiar y por haberme apoyado en todo momento.

A mis amigos y compañeros de ruta. Todos han sido parte del camino.

A Gustavo González Neves por la oportunidad de realizar esta tesis, la formación brindada y su constante apoyo.

A Diego Piccardo y Guzmán Favre, grandes participes de este trabajo y grandes amigos.

A UdelaR. Facultad de Agronomía por toda la formación recibida y los recursos brindados en los años de formación.

TABLA DE CONTENIDO

	Página
PÁGINA DE APROBACIÓN.....	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
LISTA DE CUADROS E ILUSTRACIONES.....	VI
1. <u>INTRODUCCIÓN</u>	1
2. <u>REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</u>	3
2.1. <u>VITICULTURA EN URUGUAY</u>	3
2.2. <u>CLARIFICACIÓN</u>	3
2.2.1. <u>Introducción</u>	3
2.2.2. <u>Concepto</u>	4
2.2.3. <u>Componentes del vino afectados en la clarificación</u>	5
2.2.3.1. Limpidez – turbidez.....	6
2.2.4. <u>Fenómenos coloidales</u>	6
2.2.5. <u>Propiedades de las soluciones coloidales</u>	8
2.2.6. <u>Fundamento físico-químico de los procesos clarificantes</u>	8
2.2.7. <u>Técnicas de clarificación</u>	9
2.2.7.1. Clarificación espontánea.....	9
2.2.7.2. Clarificación provocada por encolado de los vinos...	10
2.2.7.3. Mecanismo de la clarificación con proteínas.....	11
2.2.7.4. Factores que afectan la clarificación con proteínas..	12
2.3. <u>COLAS O PRODUCTOS CLARIFICANTES</u>	13
2.3.1. <u>Clarificantes minerales</u>	13
2.3.1.1. Bentonita.....	13
2.3.2. <u>Clarificantes orgánicos</u>	15
2.3.2.1. Gelatina.....	15
2.3.2.2. Cola de pescado.....	15
2.3.2.3. Leche y caseína.....	15
2.3.2.4. Clara y albúmina de huevo.....	16
2.3.2.5. Levaduras.....	16
2.3.3. <u>Clarificantes orgánicos de origen vegetal</u>	16
2.3.3.1. Proteína de papa.....	16

2.3.4. <u>Clarificantes sintéticos</u>	18
2.3.4.1. Polivinilpolipirrolidona (PVPP).....	18
3. <u>MATERIALES Y MÉTODOS</u>	19
3.1. INTRODUCCIÓN.....	19
3.2. DISEÑO EXPERIMENTAL.....	20
3.3. TRATAMIENTOS.....	20
3.4. ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICO DE LOS VINOS.....	20
3.5. ANÁLISIS SENSORIAL.....	21
3.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	29
4. <u>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</u>	23
4.1. COMPOSICIÓN GENERAL.....	23
4.2. COMPOSICIÓN FENÓLICA.....	23
4.3. COLOR.....	27
4.4. ANÁLISIS SENSORIAL.....	29
5. <u>CONCLUSIONES</u>	31
6. <u>RESUMEN</u>	33
7. <u>SUMMARY</u>	34
8. <u>BIBLIOGRAFÍA</u>	35

LISTA DE CUADROS E ILUSTRACIONES

Cuadro No.	Página
1. Índices de composición fenólica y parámetros cromáticos.....	21
2. Composición físico-química del vino base y de los vinos tratados.....	23
3. Composición fenólica del vino base y de los vinos tratados.....	24
4. Parámetros cromáticos del vino base y de los vinos tratados.....	28
5. Descripción organoléptica de los vinos clarificados.....	30
Figura No.	
1. Variación porcentual en la concentración antociánica de los vinos clarificados respecto al vino base.....	25
2. Variación porcentual en el contenido de catequinas respecto al vino base.	26

1. INTRODUCCIÓN

La conservación de los vinos implica cambios significativos en sus propiedades. Luego de un tiempo de reposo los vinos tienden a clarificarse espontáneamente y estabilizarse por sedimentación y precipitación de origen químico y físico-químico de partículas enturbiantes. Estos procesos suelen ser lentos y no suficientes para obtener una correcta limpidez y estabilidad del vino, por lo que es necesario la utilización de métodos físicos o químicos para estabilizar completamente el producto antes de que salga al mercado.

Con el propósito de acelerar los fenómenos de estabilización se utilizan clarificantes. Los clarificantes son productos de diversa naturaleza que actúan interaccionando con los componentes del vino logrando así una estabilización correcta en breves períodos de tiempo. El empleo de clarificantes puede determinar una mejora en ciertas características sensoriales, atenuación o eliminación de aromas defectuosos y una mayor redondez y un deterioro en otras, como la disminución del color de los vinos tintos por insolubilización y precipitación parcial de algunas moléculas fenólicas.

Se busca en un clarificante que produzca una precipitación veloz, una limpidez elevada y forme borras compactas y de pequeño volumen, respetando las características organolépticas positivas del vino en la mayor medida.

Los clarificantes de naturaleza proteica son muy utilizados por su capacidad de interacción con los componentes de los vinos. Las proteínas de origen animal han sido las más utilizadas en las últimas décadas. Sin embargo, son proteínas potencialmente alergénicas.

Una solución al problema de las trazas de clarificantes alérgenos en los vinos es sustituir su empleo por proteínas de origen vegetal. Es por ello que este trabajo plantea evaluar el empleo de clarificantes de origen vegetal en la estabilización de vinos tintos de la variedad Tannat, considerando su impacto sobre los componentes de calidad de los vinos y sus propiedades sensoriales.

En este estudio van a ser considerados vinos tintos de la variedad Tannat por ser la variedad de vid más implantada en el país, representando el 27 % de la superficie de viñedos y el 27 % de la uva producida en el año 2018 (INAVI, 2018), y por tratarse de una variedad tánica que usualmente requiere tratamientos para que sus vinos puedan ingresar al mercado rápidamente con una calidad sensorial valorable por el consumidor final.

Los objetivos específicos consisten en la evaluación de la incidencia de diversas alternativas de clarificación sobre la composición de vinos tintos Tannat, evaluar la incidencia de estas alternativas sobre el color de los vinos y

valorarlos sensorialmente correlacionando los resultados con su composición y verificando el efecto de cada alternativa de estabilización.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. VITICULTURA EN URUGUAY

La viticultura se desarrolla en el Uruguay en distintas regiones de su territorio sobre diferentes condiciones edafo-climáticas, concentrándose el 85% de los viñedos en la zona centro Sur del país, en las cercanías de su capital Montevideo. La superficie de viñedos es de 6.605 ha explotadas por 1.022 productores. El 74% de los viñedos del país posee entre 0 y 5 ha de extensión y ocupan el 32% de la superficie total nacional de viñedos. Los viñedos de entre 5 y 20 ha de extensión representan el 24 % del total de viñedos y un 45 % del total de la superficie (INAVI, 2018).

El territorio nacional está comprendido entre los paralelos 30° y 35° de latitud Sur y los meridianos 53° y 58° de longitud Oeste. El clima del territorio se define como templado-húmedo sin estación seca según la clasificación de Köppen con cuatro estaciones bien definidas. El país se ubica en latitudes subtropicales, en medio de una transición climática entre la zona Norte del país con características continentales y la zona Sur donde tienen efecto los vientos oceánicos del Oeste. Las precipitaciones tienen un régimen iso-higro. Su distribución espacial es decreciente en la transecta NE-SW, con valores anuales máximos de 1400 mm en el Noreste y mínimos de 900 mm en el Sudoeste del país (Romero, 2018).

En la vendimia 2017 se registró una producción total cercana a los 96 millones de kilogramos, de los cuales el 97 % se destinó a la elaboración de vinos. El 80 % de la producción total se corresponde a variedades tintas, mientras que el 20 % restante pertenece a variedades de uva blanca (INAVI, 2018).

La cepa tinta más cultivada en el Uruguay es la Tannat (*Vitis vinífera cv. Tannat*). Esta cepa tiene origen en la región de Madiran, en el Sudoeste de Francia. Las condiciones edafo-climáticas presentes en el territorio nacional permiten producir uvas Tannat potencialmente aptas para la elaboración de vinos tintos finos monovarietales y de corte.

2.2. CLARIFICACIÓN

2.2.1. Introducción

Los vinos contienen una gran cantidad de partículas en suspensión una vez finaliza la fermentación alcohólica. Estas partículas presentan diferentes tamaños y diversos orígenes como fragmentos vegetales del racimo, partículas

de tierra, levaduras, bacterias, sales del ácido tartárico, proteínas, compuestos fenólicos polimerizados y polisacáridos, entre otros. Considerando su tamaño y naturaleza así como otros factores externos, estas sustancias sedimentarán en el vino con mayor o menor velocidad debido a la acción de la gravedad (Hidalgo, 2002).

La clarificación natural, sedimentación espontánea por la acción de la gravedad, además de ser lenta, puede no ser suficiente para obtener vinos limpios y estables, por lo que resulta indispensable en muchos casos complementarla mediante la utilización de agentes que interactúan con los componentes del vino provocando la precipitación de compuestos inestables y la sedimentación de las moléculas que lo enturbian (González-Neves et al., 2014).

2.2.2. Concepto

Como es mencionado anteriormente, el vino recién elaborado contiene una gran cantidad de partículas y sustancias, algunas en forma de solución verdadera y otras bajo la forma de dispersión coloidal. Resulta entonces que su grado de limpidez estará condicionado por su composición y por una posible insolubilización de determinadas sustancias, así como también por posibles desarrollos microbianos que se pudieran producir en el vino (Hidalgo, 2002).

Los vinos tintos no clarificados pueden aparentar estar límpidos y sin embargo contener una cantidad de materia colorante inestable. Cualquier factor que desestabilice a esa materia colorante coloidal provocará la formación de turbios y precipitados por lo que se hace necesaria la aplicación de algún tratamiento estabilizador como por ejemplo la eliminación de los coloides inestables mediante el uso de clarificantes. A través del uso de agentes clarificantes se busca la eliminación de las partículas que enturbian el vino acelerando la sedimentación espontánea que ocurre por gravedad (Ribéreau-Gayon et al., 2003).

El propósito del empleo de clarificantes es reducir la astringencia y/o amargor del vino, eliminar proteínas capaces de formar turbios o reducir el color por adsorción y precipitación de fenoles poliméricos y taninos. Los clarificantes empleados reaccionan con los componentes del vino, química o físicamente, formando complejos que pueden separarse del vino.

Por medio de la clarificación se acelera el proceso de sedimentación y eliminación de compuestos parcialmente solubles, como proteínas y polisacáridos, capaces de enturbiar el vino o formar precipitados en la botella. Por otro lado, si bien el proceso se aplica post-fermentación en la mayoría de los casos, clarificaciones pre-fermentativas son útiles a la hora de prevenir

problemas causados por la fruta que ingresa a bodega infectada con hongos (Harbertson, 2009).

El resultado de la clarificación es entonces la estabilización del vino. Asimismo, se mejoran cualidades o aspectos organolépticos como el color y la limpidez, primeros atributos sensoriales apreciados por un consumidor, otorgándole mayor redondez o sedosidad a los vinos.

2.2.3. Componentes del vino afectados en la clarificación

La composición química del vino, en particular el perfil y concentración en compuestos fenólicos, determina características sensoriales como el color, la astringencia y el amargor, con efectos directos sobre sabor y aroma (Cheynier et al., 2006).

El proceso de clarificado puede afectar la composición de los vinos por su acción físico-química sobre los compuestos fenólicos y en consecuencia modificar el perfil organoléptico de los mismos.

Los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios del catabolismo de los azúcares presentes en todas las plantas vasculares y en la mayoría de los musgos (Ribéreau-Gayon et al., 2006). En la uva se concentran básicamente en hollejos, semillas y escobajos. Su estructura base está compuesta por grupos fenólicos y anillos aromáticos (Hipólito Isaza, 2007).

Los compuestos fenólicos pueden ser clasificados en no flavonoides y flavonoides según su estructura química (González-Neves et al., 2011). Los no flavonoides incluyen a los ácidos fenólicos, sus derivados y a los estilbenos y no contribuyen de forma directa al color del vino (Zamora, 2013).

Los flavonoides son los compuestos fenólicos más importantes de la uva en términos cuantitativos y cualitativos y abarcan tres grandes grupos: los flavonoles, los antocianos y los flavanoles o taninos (González-Neves et al., 2011).

Los flavanoles explican el color amarillo de la piel de las uvas blancas y de parte del color amarillo del vino blanco y tinto. Al igual que los compuestos no flavonoides realizan un aporte secundario en el color del vino tinto pero resultan ser positivos como copigmentos de los antocianos en mostos y vinos tintos jóvenes (Fulcrand et al., 2006).

Los antocianos son pigmentos que proporcionan el color rojo azulado de los hollejos de las uvas tintas y del vino tinto joven (González-Neves et al., 2011).

La familia de los flavanoles está integrada por las diferentes formas isoméricas de la catequina y sus polímeros llamados taninos condensados o proantocianidinas. Estos compuestos fenólicos no participan directamente en el color del vino pero juegan un rol determinante como copigmentos y a través de transformaciones químicas en las que reaccionan entre si y/o con los antocianos dando lugar a nuevos pigmentos. Asimismo, son en gran medida los responsables del sabor amargo, de la astringencia, del cuerpo y del potencial de envejecimiento de los vinos (Zamora, 2013).

2.2.3.1. Limpidez – turbidez

Si bien la limpidez en los vinos ha sido siempre una característica buscada por los consumidores, hoy en día existe una tendencia a tolerar en los tintos la presencia de sedimentos de materia colorante acompañados de otros precipitados ya que se consideran una garantía de integridad y pureza de los mismos.

La presencia de partículas en suspensión confiere el aspecto turbio de los vinos. Estas partículas interceptan la radiación luminosa que procede de una dirección y la refleja en diferentes direcciones provocando el aspecto opaco y turbio que se aprecia visualmente. La presencia de sustancias insolubilizadas o en suspensión no afecta en lo más mínimo al resto de las cualidades organolépticas de los vinos (Hidalgo, 2002).

Materia colorante en estado coloidal, cristales de tartrato potásico, precipitados de compuestos fenólicos y proteínas son solo algunas de las partículas causantes de la turbidez en los vinos que pueden formarse durante el proceso de vinificación (Ribéreau-Gayon et al., 2003).

Las partículas que causan la turbidez se eliminan de manera natural por sedimentación luego de prolongados reposos y los vinos resultan estabilizados a consecuencia de precipitaciones de origen químico y químico-físico que se realizan por acción del tiempo. Sin embargo, estos procesos son muchas veces insuficientes y requieren de varios años para que el vino alcance la limpidez y estabilidad deseada. Este hecho motiva a la aplicación a nivel de bodega de diversas técnicas como la clarificación con proteínas, filtrado o la centrifugación que aceleran los procesos de limpieza y estabilización de los vinos (Molina, 2000).

2.2.4. Fenómenos coloidales

Los fenómenos coloidales tienen un rol muy importante en la estabilidad o inestabilidad de la limpidez y por lo tanto en el aspecto que presenta el vino.

La estabilidad de los vinos depende de las propiedades coloidales de los mismos (Hidalgo, 2002).

Los coloides no son visibles de manera directa, pero absorben y/o desvían la luz generando aspectos no límpidos en los líquidos (Blouin et al., 2004).

Tanto los mecanismos de formación de turbios en los vinos como los tratamientos para conseguir evitarlos dependen de las propiedades de los coloides. Generalmente, estos mecanismos comprenden dos etapas: la primera corresponde a una reacción química que forma una sustancia coloidal que permanece en solución límpida; la segunda etapa corresponde a la asociación de los coloides en partículas que flocculan, produciendo la formación de un enturbiamiento en el vino (Ribéreau-Gayon et al., 2003).

En los sistemas coloidales se aplican los términos de “fase dispersa” y “medio de dispersión o fase dispersante” y se denominan “micelas” a las partículas que forman la fase dispersa (Hidalgo, 2002).

Una solución coloidal está compuesta por partículas sólidas de tamaño pequeño llamados coloides que por acción de un conjunto de fuerzas que impiden su agregación y floculación, se mantienen dispersas en un líquido (Ribéreau-Gayon et al., 2003).

Aquellas fuerzas que impiden la agregación de los coloides se desarrollan entre las fases sólida y líquida de una solución coloidal en una zona límite llamada “interfase”, que presenta una elevada superficie de varios m² por cada ml de dispersión (Hidalgo, 2002).

Según Hidalgo (2002) se conocen dos tipos de dispersiones coloidales. Por un lado se encuentran los “coloides micelares o hidrófobos” formados por micelas o agregados de un conjunto grande de moléculas simples unidas por enlaces físicos de poca energía, como Van der Waals, que producen repulsión entre las partículas. Por otro lado, los “coloides macromoleculares”, formados por partículas no asociadas de mayor tamaño y en el que solo intervienen enlaces químicos covalentes y la carga eléctrica que poseen se explica en la disociación de las funciones ácidas o básicas que contienen. Estos coloides, también denominados “hidrófilos” fundamentan su estabilidad por su hidratación o afinidad al agua además del efecto de repulsión de cargas eléctricas, y pueden estabilizar a los coloides micelares actuando como “coloides protectores” (Hidalgo, 2002).

Los “coloides protectores” son capaces de impedir la precipitación y sedimentación de los coloides hidrófobos o micelares y de esta manera retrasar

la clarificación espontánea o la clarificación por encolado. La acción protectora se produce porque las partículas hidrofílicas se fijan sobre la superficie de los coloides hidrófobos, formando una suerte de envoltorio. El efecto entonces se debe a la estabilización de los otros coloides en el medio y a la imposibilidad de que estos se aproximen para flocular (Hidalgo, 2002).

Son ejemplos de coloides macromoleculares en el vino las proteínas y los polisacáridos de la uva como también las manoproteínas procedentes de las levaduras, polisacáridos de las bacterias lácticas y los glucanos de la *Botrytis cinérea*. Ejemplos de coloides micelares son la materia colorante coloidal, polifenoles condensados, sales metálicas del hierro y cobre y los tartratos (Hidalgo, 2002).

2.2.5. Propiedades de las soluciones coloidales

Las partículas coloidales presentan una determinada carga eléctrica que estaría originada por una adsorción preferencial de los iones del medio, los cuales comunican su carga eléctrica al coloide. La intensidad de las cargas será función del pH del medio, de su temperatura y de la fuerza iónica del medio dispersante (Hidalgo, 2002).

A pH del vino las proteínas presentan carga positiva, mientras que levaduras, bacterias, materia colorante coloidal, sales metálicas, bentonita, carbones, taninos, gomas y sílice coloidal están negativamente cargados. A su vez, en función del pH precipitarán los coloides y algunos podrán comportarse como moléculas ácidas (-) o neutras, o como ácidas (-) o básicas (+) en el caso de las proteínas (Hidalgo, 2002).

2.2.6. Fundamento físico-químico de los procesos clarificantes

Existen fenómenos de atracción o repulsión como las fuerzas de Van der Waals, interacciones electroestáticas, interacciones polar o ácido-base de Lewis, entre otras, que determinan la estabilidad o inestabilidad de los coloides en suspensión. Cuando la resultante entre estas interacciones provoque una atracción entre partículas se producirá una aglomeración de coloides. En cambio, puede que la resultante determine la repulsión entre las partículas coloidales y estas permanezcan en la suspensión de manera estable. En otras palabras, cuando la concentración de coloides es baja en un medio las fuerzas electroestáticas de repulsión prevalecen sobre las de atracción y el medio permanece estable. En el caso contrario, con concentraciones altas de coloides se produce floculación (Hidalgo, 2002).

Los coloides hidrófilos o macromoleculares se mantienen estables en un medio debido a su carácter hidrófilo y su carga eléctrica. Tomando como

ejemplo a las proteínas, su precipitación y floculación solo se produce cuando estos dos factores son anulados o perdidos, lo cual puede ocurrir por dos vías posibles e inversas entre sí. Primero se produce la “desnaturalización” o pérdida del carácter hidrófilo de las proteínas ante la presencia de alcohol, taninos o por aumento de la temperatura del medio. Finalmente, la floculación se produce por la pérdida de su carga eléctrica por presencia de sales en el medio, las cuales presentan carga opuesta (Hidalgo, 2002).

Otra teoría sobre el mecanismo de floculación de los coloides hidrófilos sostiene que la precipitación se produce cuando las proteínas interaccionan a través de uniones de tipo Van der Waals con partículas coloidales formadas por grupos de taninos unidos por interacciones hidrófobas (Hidalgo, 2002).

La limpieza de los vinos por clarificación se basa en que entre coloides de carga opuesta, sin importar su naturaleza hidrofóbica o hidrofílica, se puede producir una floculación mutua y en que las proteínas, cargadas positivamente, luego de flocular y precipitar arrastran los coloides de carga opuesta. En consecuencia, se produce la eliminación de las partículas coloidales y en suspensión que causan la turbidez de los vinos. Por otro lado, los coloides, bien en estado disperso o en proceso de floculación, pueden adsorber en su superficie una gran cantidad de sustancias o partículas como materia colorante, independientemente de su carga eléctrica, la cual pueden arrastrar en una clarificación (Hidalgo, 2002).

2.2.7. Técnicas de clarificación

Las diversas técnicas de clarificación constituyen procedimientos para prevenir o corregir los enturbiamientos producidos en el vino. Se puede establecer una primer clasificación que discrimine la técnica de clarificación natural o espontánea y las clarificaciones provocadas.

2.2.7.1. Clarificación espontánea

La clarificación espontánea es la caída progresiva de las partículas en suspensión del vino por acción de la fuerza de gravedad. La capacidad y velocidad de sedimentación de las partículas dependerá de factores propios, del medio y del ambiente externo (Ribéreau-Gayon et al., 2003).

Entre los factores propios de las partículas que condicionan su sedimentación están su carga eléctrica, volumen y su masa, que depende de la diferencia entre la densidad de la partícula y la del líquido. El pH del vino por su parte, a medida que se hace más alto provoca una disminución en la velocidad de caída. Por otro lado, el líquido ofrece mayor o menor resistencia a la sedimentación dependiendo de su viscosidad y su densidad, que es función del

contenido en azúcares y alcohol, y de la presencia de coloides protectores. Otros factores externos como temperatura y características de los depósitos tienen también efecto en la eficacia y eficiencia de la clarificación (Hidalgo, 2002).

Resulta válido decir que la clarificación espontánea es una técnica lenta y casi nunca produce una completa limpieza de los vinos ni tampoco logra su total estabilización frente a posibles quiebras o precipitaciones, razón por la cual en las bodegas se suele practicar técnicas provocadas como la clarificación por encolado. Estas técnicas se realizan mediante la adición de productos clarificantes, que una vez en el vino coagulan y producen grumos. Los grumos sedimentan arrastrando aquellas partículas capaces de enturbiar los vinos teniendo un doble efecto: clarificante y estabilizante (Ribéreau-Gayon et al., 2003).

2.2.7.2. Clarificación provocada por encolado de los vinos

La clarificación por encolado consiste en añadir al vino una sustancia clarificante o “cola”, que tiene la capacidad de flocular y sedimentar arrastrando partículas capaces de generar turbios al fondo de un depósito. De esta manera se puede lograr la limpieza y estabilización de los vinos a través de una técnica de bajo costo, eficaz y de corta duración, que si bien puede resultar insuficiente en algunas ocasiones, hace que la eficiencia de los filtrados posteriores sea mucho mayor (Hidalgo, 2002).

Los agentes de clarificación más frecuentemente utilizados actúan atrayendo las partículas con carga positiva y negativa presentes en el vino, provocando su propia desnaturalización, descarga eléctrica y posterior floculación y precipitación (González-Neves et al., 2014).

Por otro lado, a través del encolado también se puede lograr una mejora en las características organolépticas de los vinos. Los clarificantes arrastran consigo compuestos volátiles, entre ellos los responsables de aromas defectuosos. Asimismo, y dependiendo de la cola utilizada, se podrán eliminar aquellos taninos de mayor peso molecular, los cuales presentan la mayor reactividad con las proteínas de la saliva y que por lo tanto causan mayores sensaciones de aspereza, astringencia y amargor (Cheynier et al., 2006).

La utilización de clarificantes de naturaleza proteica por su parte puede afectar el color de los vinos tintos al provocar la precipitación de pigmentos (Castillo-Sánchez et al., 2006). No obstante, existen reportes de impactos leves en algunas ensayos (Stankovic et al., 2004). También es posible una reducción en el contenido de moléculas positivas en lo gustativo como los taninos asociados a polisacáridos (Hidalgo, 2002).

2.2.7.3. Mecanismo de la clarificación con proteínas

La astringencia es una de las propiedades sensoriales típicas provocadas en boca por los vinos tintos. Esta sensación se origina en la interacción entre las proteínas salivares y algunos polifenoles como los taninos condensados y elágicos. Las proteínas que se utilizan con el propósito de clarificar interactúan con los taninos del vino a través de un mecanismo similar al que ocurre en la boca durante el consumo de un vino (Gambutí et al., 2012).

Cuando en un vino turbio se añade una cola proteica, muchas veces junto a otra sustancia floculante, se produce una desnaturalización por floculación y sedimentación de las proteínas arrastrando consigo otras moléculas en suspensión (Hidalgo, 2002).

La floculación es precedida por la coagulación, razón por la que se suele hablar de los procesos de coagulación-floculación. La coagulación es la desestabilización de las partículas coloidales causadas por la acción de algún agente químico que neutraliza sus cargas electrostáticas y hace que las partículas tiendan a unirse entre sí. A su vez, la floculación es la aglomeración de estas partículas desestabilizadas en flóculos que sedimentan (Ribéreau-Gayon et al., 2003).

En un medio como el vino y a valores de pH inferior a 4,7 donde se encuentra su punto de cambio de carga eléctrica, las proteínas se comportan como un coloide hidrófilo de carga positiva. Su floculación se produce ante la presencia de taninos u otras sustancias añadidas, que transforman a las proteínas en coloides hidrófobos de carga negativa, para que luego se produzca su descarga por acción de los cationes del vino como calcio, sodio, potasio, magnesio y hierro (Hidalgo, 2002).

En situaciones donde los niveles de taninos en el vino son bajos, la floculación de las proteínas se produce por una vía alternativa. El primer paso consiste en la transformación por desolvatación o pérdida de agua de las proteínas en coloides hidrófobos positivos, seguido de su descarga y floculación con las partículas de carga eléctrica negativa y aniones del vino (Hidalgo, 2002).

Para establecer la dosis de cola y de agente floculante a utilizar en una clarificación se deben realizar ensayos previos de laboratorio. La clarificación por encolado no es una reacción estequiométrica, existe un gran número de factores interviniendo como la composición de cada vino a tratar y las condiciones externas del proceso. El riesgo de aplicar dosis excesivas de cola está en que se produzca “sobreencolado”. El citado fenómeno ocurre cuando las dosis de proteínas añadidas superan lo necesario pudiendo permanecer

estas en el vino como coloides en solución y ser fuente de turbios (Hidalgo, 2002).

La no estequiometría de la reacción tiene origen en las interacciones entre proteínas y taninos. En aquellos casos en que la dosis de proteínas añadida es baja los taninos se unen a la superficie de las proteínas por varios sitios formando un coloide hidrófobo de carga negativa de partículas aisladas. En cambio, cuando la dosis de proteínas añadida es elevada las partículas coloidales proteína-tanino que se forman pueden unirse a través de puentes cruzados. A su vez, cuanto mayor es el grado de polimerización de los taninos mayor es la interacción entre taninos y proteínas (Hidalgo, 2002).

Otro factor a considerar en la clarificación es la naturaleza de la proteína empleada. Aquellas de menor tamaño muestran una peor afinidad por los taninos, las más ricas en prolina son las de mayor afinidad por los taninos, mientras que las de mayor densidad de carga eléctrica son las de mejor performance (Hidalgo, 2002).

2.2.7.4. Factores que afectan la clarificación con proteínas

El pH tiene efecto directo en la interacción tanino-proteína. A medida que el pH baja se reduce la densidad de carga eléctrica de los taninos. Por lo tanto, a medida que la acidez del vino es más baja, la interacción entre proteínas y taninos es tanto mejor y la precipitación más rápida (Hidalgo, 2002).

En el caso de la temperatura, aquellas por debajo de los 15 °C atenúan el movimiento los coloides en el vino y por lo tanto se vuelve más fácil la floculación de los coloides (Hidalgo, 2002).

El alcohol por su parte, provoca la disminución de la reactividad de los taninos con las proteínas y la disminución en la solubilidad de los coloides formados, por lo que a mayores contenidos de alcohol más dificultosa se vuelve la clarificación con proteínas (Hidalgo, 2002).

Por su parte, aquellos vinos con elevado potencial de oxidación se comportan de mejor manera ante la clarificación proteica. Hay ocasiones en los que se los deja aireando algunos días antes de la clarificación debido a que hay cationes capaces de aumentar su valencia bajo estas condiciones, lográndose mejores resultados de limpieza y estabilización (Hidalgo, 2002).

Finalmente, existe una dualidad de efectos promovidos por la presencia de los polisacáridos del vino sobre la clarificación con proteínas. Si bien algunos polisacáridos como las pectinas, ácido poligalacturónico y arabino galactanos procedentes de la uva pueden presentar una acción activadora de la clarificación, otros como el glucano de la *Botrytis cinérea* o la goma arábica

añadida pueden comportarse como coloides protectores e impedir una correcta sedimentación de los coloides (Hidalgo, 2002).

2.3. COLAS O PRODUCTOS CLARIFICANTES

Cada caso de clarificación debe ser considerado único con el propósito de obtener resultados óptimos y con la menor intervención posible. Todo vino o mosto según su composición justificará la aplicación de un determinado producto o técnica específica (Blouin, 2004).

Resulta clave entonces el conocimiento de las características propias de cada clarificante así como su modo de acción, correcta preparación, dosificación y condiciones óptimas de actuación para lograr los mejores resultados posibles.

Los clarificantes pueden clasificarse siguiendo dos criterios: según su funcionalidad y según su naturaleza. De acuerdo al primer criterio existen tres grupos: los clarificantes o colas propiamente dichas; los floculantes o sustancias adyuvantes, que permiten o facilitan el fenómeno de la clarificación, y por último aquellos aditivos que se utilizan para mejorar el resultado de la clarificación y/o corregir los vinos. Considerando el origen de los productos pueden agruparse en clarificantes minerales o inorgánicos, orgánicos y de síntesis (Hidalgo, 2002).

2.3.1. Clarificantes minerales

Los clarificantes minerales o inorgánicos como bentonita o caolín son usualmente empleados como productos floculantes de las proteínas. A su vez, dentro de este grupo se incluyen sustancias adsorbentes como los carbones, capaces de mejorar determinados caracteres de los vinos (Hidalgo, 2002).

2.3.1.1. Bentonita

La bentonita es una arcilla de estructura laminar o silicato de aluminio hidratado perteneciente a la familia de las montmorillonitas con origen en la descomposición de las cenizas volcánicas (Hidalgo, 2002).

La composición de la bentonita siempre varía dependiendo de su lugar de extracción. Existen bentonitas de tipo ácidas, sódicas, cálcicas y magnésicas (Hidalgo, 2002).

La bentonita presenta una serie de propiedades fisicoquímicas como la permeabilidad de sus hojas a los líquidos, capacidad de aumento de volumen y de elevada adsorción. Estas propiedades tienen origen en su estructura, donde las láminas están totalmente separadas entre sí. Por otro lado, las láminas en

suspensión acuosa presentan carga negativa en toda su superficie con excepción de los bordes que tienen carga positiva (Hidalgo, 2002).

Otra propiedad importante de la bentonita es su capacidad de intercambio catiónico, definida como la suma de todos los cationes que a un determinado valor de pH puede adsorber y que equivale al total de las cargas negativas de la arcilla. Su valor para las bentonitas oscila entre los 50 a 150 meq/100 gramos y los cationes más intercambiados son el calcio, el sodio, el hierro y el magnesio. Cuando las cargas eléctricas de la bentonita son neutralizadas se da su floculación y sedimentación (Hidalgo, 2002).

La bentonita es utilizada para flocular las proteínas añadidas durante una clarificación por encolado. La floculación se produce porque las bentonitas forman una dispersión coloidal de carga negativa con la capacidad de descargar a las proteínas cuya carga eléctrica es positiva (Hidalgo, 2002).

La bentonita es mayormente utilizada como clarificante de los vinos blancos o rosados con bajos contenidos en taninos, donde el empleo de taninos se evita para evitar sabores secos y astringentes. Esta arcilla es poco utilizada en la clarificación de vinos tintos (Hidalgo, 2002).

La bentonita no elimina polisacáridos pero sí proteínas, especialmente aquellas de bajo peso molecular. La acción desproteinizante se ve favorecida por pH bajos, aunque Catarino et al. (2008) sostienen que no todas las bentonitas tienen el mismo efecto estabilizante a bajos pH, y temperaturas de tratamiento de entre 15° a 20 °C. El tratamiento con esta arcilla puede resultar muy efectivo para prevenir tanto “quebras proteicas” que es el precipitado de proteínas naturales del vino, como “quebras cúpricas”. El cobre en el vino precipita en forma de sulfuro de cobre coloidal a consecuencia de la formación de una floculación entre esta sustancia y las proteínas del vino (Hidalgo, 2002).

Otra particularidad de la bentonita es que adsorbe la materia colorante coloidal, por lo que otro de sus usos es la estabilización del color en los vinos tintos. El tratamiento con bentonita adsorbe el coloide, floclula, sedimenta e impide su posterior precipitación (Hidalgo, 2002). Algunos autores han reportado disminuciones para nada irrelevantes en la intensidad del color del vino luego de una clarificación con bentonita (González-Neves et al., 2014).

Stankovic et al. (2004) mencionan un efecto diferencial de la bentonita sobre las formas coloreadas o incoloras de los antocianos. Las formas coloreadas serían afectadas con mayor intensidad. Así mismo, estos autores probaron la capacidad de la bentonita para remover materias coloidales coloreadas constituidas por cationes flavilium o antocianinas ionizadas,

polisacáridos y proteínas. Por lo tanto, constataron los efectos de la bentonita sobre la intensidad colorante y su consecuente capacidad para estabilizar vinos.

2.3.2. Clarificantes orgánicos

Los clarificantes orgánicos son los más utilizadas a nivel enológico. Pueden ser aplicados solos o combinados dependiendo del propósito de cada clarificación y en la mayoría de los casos se los emplea junto a una sustancia floculante (Hidalgo, 2002).

2.3.2.1. Gelatina

La gelatina, también llamada “osteocola”, es el clarificante más utilizado en enología, presentándose en el vino como un coloide con carga eléctrica positiva, y precisando de tanino, bentonita o sol de sílice para flocular (Hidalgo, 2002).

La gelatina es un excelente clarificante cuando se la utiliza de buena forma. Por otro lado, puede producir sobreencolado por defecto del agente floculante. A su vez, como tiene capacidad para precipitar compuestos fenólicos del vino provoca caídas en el color de los tintos (Hidalgo, 2002).

2.3.2.2. Cola de pescado

La cola de pescado o “ictícola”, formada por fibras de colágeno de alto peso molecular, es uno de los mejores clarificantes para aquellos vinos con bajos contenidos de materias en suspensión como los blancos. Es una cola con baja capacidad de sobreencolado y poco sensible a la presencia de coloides protectores (Hidalgo, 2002).

2.3.2.3. Leche y caseína

La caseína es una heteroproteína fosfórica. Como clarificante es ideal para vinos blancos. Coagula instantáneamente ante la acidez del vino, por lo que no es necesaria la utilización de alguna molécula floculante. Tiene capacidad desodorante y decolorante, propiedad utilizada para eliminar de manera preventiva polifenoles oxidables (Hidalgo, 2002).

La leche muestra sus mayores virtudes como decolorante y sobre todo como desodorante de olores defectuosos. Como contrapartida, utilizada en dosis excesivas puede darse sobreencolado producto de la presencia de otras proteínas distintas de la caseína, razón por la cual se sugiere aplicarla junto a algún floculante (Hidalgo, 2002).

2.3.2.4. Clara y albúmina de huevo

La clara de huevo es un clarificante utilizado en la limpieza de vinos tintos con excesos de taninos astringentes. Es utilizada en forma de claras frescas, claras congeladas, y claras en polvo o albúmina de huevo. Taninos y bentonitas son los floculantes normalmente utilizados (Hidalgo, 2002).

2.3.2.5. Levaduras

Las levaduras utilizadas como clarificantes poseen la propiedad de adsorber compuestos fenólicos oxidados y moléculas que generan sabores defectuosos y reducir los niveles de acetaldehído producto de su gran superficie específica. A su vez, impide las oxidaciones de los compuestos oxidables del vino dado que posee poder reductor. Por otro lado, su adición puede tener efectos gustativos positivos en el vino ya que la autólisis de las levaduras aumenta el contenido de polisacáridos (Hidalgo, 2002).

Para clarificar con levaduras se emplean borras frescas de vinos elaborados con mostos blancos bien desfangados (Hidalgo, 2002).

2.3.3. Clarificantes orgánicos de origen vegetal

Existe una tendencia actual en la industria alimenticia a sustituir en el procesamiento de alimentos proteínas de origen animal por proteínas de origen vegetal (González-Neves et al., 2014). La aparición de la encefalopatía espongiiforme bovina (EEB), el creciente número de casos de alergia a los alimentos y la intolerancia a determinados compuestos que estos traen han obligado a la industria a tomar medidas (González-Neves et al., 2014). Existe en consecuencia en la actualidad una amplia gama de productos comerciales a base de proteínas derivadas de plantas de soja, gluten de trigo, arroz, papa, altramuz o maíz disponibles para los procesos enológicos (González-Neves et al., 2014).

2.3.3.1. Proteína de papa

Como ya es mencionado, la alergenicidad potencial de las proteínas animales ha motivado la investigación y uso de proteínas de origen vegetal también en el proceso de clarificación de los vinos. Un ejemplo es el grupo de las Patatin P o patatinas, familia de glicoproteínas que constituye más del 40% de la proteína soluble total de los tubérculos de papa (*Solanum tuberosum*) y posee un peso molecular de entre 39-45 kDa (Gambutí et al., 2012).

Esta proteína ha sido la sustancia de origen vegetal de más reciente aprobación por la OIV para ser utilizada como agente clarificante. Su uso en la industria alimentaria es común ya que posee propiedades emulsionantes y bajo

riesgo alergénico (Castells et al., citados por Becerril Eraso, 2015). Por otro lado, presenta las ventajas de no requerir etiquetado como posible alérgeno potencial y los productos tratados pueden ser comercializados para consumidores vegetarianos y veganos (Iturmendi et al., 2013).

La patatina posee características como buena solubilidad, propiedades aglutinantes y emulsionantes satisfactorias, razón por la que se convierte en un aditivo alimentario de alta potencialidad para sustituir proteínas que provocan alergias con frecuencia como las de huevo, gluten, leche pescado, soja y nueces, principales fuentes de proteínas alimentarias en la actualidad. La alergia a la papa, principal cultivo hortícola del mundo, es mucho menos común que para todas estas proteínas (Gambutí et al., 2012).

El comportamiento en la clarificación de la patatina fue evaluado por Gambuti et al. (2012) en un ensayo comparativo donde fueron usados la albúmina de huevo, el caseinato de potasio, la patatina y una gelatina, sobre vino tinto de la variedad Aglianico, rico en polifenoles. Se aplicaron las dosis de 10, 20 y 30 g/hL para todos los clarificantes y se evaluó la astringencia, la composición fenólica y el color del vino clarificado. La clarificación con patatina no provocó cambios en la intensidad colorante ni en el contenido total de antocianos. A su vez, se observó un incremento en la absorción en los 620 nm, lo cual no se correspondería con la reducción en el contenido total de antocianos monoméricos obtenida, por lo que es probable que nuevos pigmentos se hayan formado a consecuencia de la adición de proteínas vegetales.

Por otro lado, todos los tratamientos y en cada dosis considerada provocaron una caída significativa en el contenido de fenoles totales y taninos. Asimismo, produjo una disminución significativa de la astringencia del vino en niveles similares que la gelatina y por encima de la albúmina de huevo y el caseinato de potasio (Gambutí et al., 2012).

La primera empresa en producir un clarificante a base de extractos de proteínas vegetales de patata fue Laffort y en 2013 lanzó al mercado un producto a base de proteína de papa llamado Vegecoll® (Iturmendi et al., 2013).

Según estudios el empleo de Vegecoll a dosis bajas es tan eficaz como otros clarificantes de origen animal; reduciendo la turbidez de mostos a valores similares que la gelatina y siendo capaz de eliminar compuestos fenólicos oxidados y aquellos susceptibles a la oxidación que pueden derivar en aromas negativos. Por otro lado, se ha observado reducción de la astringencia y buena estabilización de la materia colorante en vinos tintos (Iturmendi et al., 2013).

Para que el uso de clarificantes a base de proteínas vegetales constituya una realidad más que una tendencia, estos deben producir una precipitación rápida formando borras compactas y afectando de manera mínima la cantidad de compuestos fenólicos responsables del color y respetando las características organolépticas del vino a tratar en la mayor medida posible, logrando obtener un producto límpido y estable en el tiempo.

La patatina surge entonces como una alternativa real al uso de clarificantes de origen animal en la elaboración de vinos. Algunas de sus características son: masa molecular aparente similar al de la albúmina de huevo, punto isoeléctrico de 4,6 y solubilidad baja al pH del vino (Gambutí et al., 2012).

2.3.4. Clarificantes sintéticos

2.3.4.1. Polivinilpirrolidona (PVPP)

PVPP es un polímero sintético prácticamente insoluble en el vino que absorbe especialmente compuestos fenólicos de bajo peso molecular como antocianinas y catequinas, con acción sobre los compuestos volátiles del vino (Bowyer, 2008). La PVPP es utilizada en el tratamiento de vinos blancos para eliminar compuestos fenólicos que dan origen al pardeamiento y la astringencia, así como también para remover compuestos que pueden generar pinking. En los vinos tintos se la puede emplear con el objetivo de reducir el amargor y mejorar el aspecto visual de los mismos (Ribéreau-Gayon et al., 2003).

Según Hidalgo (2002) la PVPP tiene acción preferente sobre aquellos compuestos fenólicos no polimerizados como catequinas y proantocianidinas, afecta antocianos y pigmentos amarillos, y no posee acción sobre compuestos fenólicos no flavonoides. Al respecto, Castillo-Sánchez et al. (2006) mencionan que la intensidad colorante de vinos obtenidos de *Vitis vinifera* var. *Vinhão* tratados con PVPP fue significativamente menor con respecto a los tratamientos con albumina, gelatina y caseína.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. INTRODUCCIÓN

El experimento consistió en comparar tres tratamientos de clarificación por coadyuvantes enológicos comerciales en un vino tinto joven de la variedad Tannat. Los tratamientos fueron VEGECOLL® (Clarificante 1) clarificante exclusivo a base de proteínas vegetales extraídas de papa, POLYMUST PRESS® (Clarificante 2) clarificante producto de la asociación de PVPP, proteína vegetal y bentonita y tratamiento testigo (T) o control sin agregado de clarificantes. Los vinos resultantes del tratamiento con el Clarificante 1 y el Clarificante 2 pasan a denominarse C1 y C2 respectivamente.

El vino base (VB) utilizado fue elaborado en el año 2017, en la bodega experimental de Facultad de Agronomía, a partir de uvas del cultivar Tannat de un viñedo comercial del Departamento de Canelones. El mismo está conducido en espaldera e implantado sobre portainjerto SO4 a la densidad de 3.333 plantas por hectárea, sin riego. Las uvas se cosecharon a primeras horas de la mañana e inmediatamente fueron transportadas a la bodega en cajones de plástico de 20 kg. Las uvas se cosecharon con una acidez de 4,5 g/L en H₂SO₄, pH de 3,26 y un contenido de azúcares de 201 g/L. El potencial fenólico de la uva fue de 1.887 mg/L (potencial total en antocianos a pH1), 861 mg/L (potencial en antocianos extraíbles a pH3,2), y un índice de extractibilidad (EA%) de 54,4. La uva fue procesada con una descobajadora-moledora Alfa 60 R (Italcom, Italia) de acero inoxidable y rodillos de goma, y el mosto obtenido fue inmediatamente encubado en tanques de acero inoxidable de un hectolitro de capacidad. Luego de la molienda el mosto junto con las cascarras y semillas recibieron una dosis de 5 g de anhídrido sulfuroso por cada 100 kg de uva.

La vinificación se realizó mediante maceración tradicional con ocho días de duración y la temperatura de fermentación se mantuvo entre 26 y 28 °C. El tiempo de maceración coincidió con el tiempo de la duración de la fermentación alcohólica. Se sembraron 20 g de levaduras secas activas por hectolitro (*Saccharomyces cerevisiae* WE372, Anchor, Sudáfrica) comenzando los remontajes y bazuqueos en la mañana siguiente. Finalizada la maceración se procedió al prensado con una prensa manual de acero inoxidable. El vino de gota se unió al vino de prensa y se envasó en bidones de 3 L de capacidad previo agregado de 50 mg/L de anhídrido sulfuroso, donde se mantuvo hasta el momento de realizar el ensayo de clarificación.

3.2. DISEÑO EXPERIMENTAL

El ensayo tuvo un diseño completamente al azar con tres repeticiones por tratamiento. La unidad experimental fue un contenedor de plástico de tres litros de capacidad.

3.3. TRATAMIENTOS

El ensayo fue instalado el día 11 de julio de 2017 y dio por finalizado a los 15 días. El día 26 de julio los vinos tratados fueron trasegados a botellas de vidrio de 375 mL de capacidad de dónde se tomaron las muestras para realizar los análisis correspondientes.

En T los contenedores fueron llenados con el vino base sin ningún tipo de clarificante. Por otro lado, en el tratamiento Clarificante 1 los contenedores fueron llenados con el vino base y se adicionó el clarificante según dosis de etiqueta (5 g/HL) mientras que en el tratamiento Clarificante 2 los contenedores fueron llenados con el vino base y adicionados con el clarificante según dosis de etiqueta (15 g/HL).

Posteriormente fueron depositados en la bodega donde permanecieron sin moverse durante 15 días a temperatura ambiente.

3.4. ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICO DE LOS VINOS

Se determinó composición básica del vino base al comienzo del ensayo y de todas las repeticiones reales de los distintos tratamientos al finalizar el ensayo.

Los parámetros enológicos clásicos alcohol, acidez total, pH, anhídrido sulfuroso total y libre y acidez volátil se determinaron en los laboratorios de INAVI empleando un analizador de infrarrojo Winescan TM Autosampler 79000 (Foss, USA) y el software Foss Integrator versión 154 (Foss, Dinamarca).

La composición fenólica se evaluó mediante los índices espectrofotométricos clásicos y los parámetros cromáticos a través de los índices enológicos tradicionales de Glories (1984) y los parámetros del sistema CIELAB, de acuerdo con Ayala et al. (1997) en el laboratorio de la cátedra de enología de la facultad según los métodos mencionados en el cuadro 1.

Cuadro 1. Índices de composición fenólica y parámetros cromáticos

Variable	Método
Polifenoles totales (índice Folin-Ciocalteu)	Singleton y Rossi (1965)
Proantocianidinas	Ribereau-Gayon y Stonestreet (1966)
Metilcelulosa	Sarneckis et al. (2006)
Catequinas	Swain y Hillis (1959)
Reactividad de taninos	Índice DMACH según Vivas et al. (1994)
DMACH/LA	Vivas et al. (1994)
Índice de etanol	Glories (1978)
Antocianos totales	Ribereau-Gayon y Stonestreet (1965)
Intensidad colorante	Glories (1984b)
Tonalidad	Glories (1984b)
CIELAB	Ayala et al. (1997)

Se realizaron dos repeticiones de cada análisis por muestra luego de centrifugar los vinos a 3500 rpm durante tres minutos, empleando una centrífuga CENCOM II (Selecta, España). Las medidas se efectuaron con un espectrofotómetro modelo S-2150UVE de marca UNICO, empleando celdas de vidrio de un centímetro de recorrido óptico para medir polifenoles totales, proantocianidinas, catequinas y DMACH, índice de etanol, metilcelulosa y de vidrio de un milímetro de recorrido óptico para determinar los parámetros cromáticos.

3.5. ANÁLISIS SENSORIAL

La evaluación sensorial de los vinos se realizó bajo la forma de análisis sensorial descriptivo cuantitativo por un panel de cata experto integrado por 8 integrantes del género masculino y 5 del género femenino de entre 21 y 60 años de edad.

Los descriptores seleccionados para la evaluación visual fueron intensidad de color, calidad de color y transparencia. Por otra parte, los descriptores olfativos evaluados fueron intensidad aromática, calidad aromática, aromas frutados y aromas vegetales, mientras que cuerpo, amargor, astringencia, persistencia y equilibrio fueron los descriptores gustativos seleccionados. Adicionalmente, se solicitó a los participantes que emitieran un juicio global.

La intensidad para cada descriptor fue adjudicada utilizando una escala no estructurada de respuesta cuantitativa donde 0 se correspondía con el valor mínimo de percepción y 10 era el valor máximo de intensidad.

3.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos se analizaron estadísticamente utilizando InfoStat-Statistical Software-versión estudiantil. Se hicieron análisis de varianza y separaciones de medias mediante Tukey al 5 %.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. COMPOSICIÓN GENERAL

La composición físico-química de los vinos se observa en el cuadro 2. Como se aprecia hubo escasas diferencias estadísticas entre los vinos clarificados y el testigo, y entre estos y VB en las variables consideradas luego del período de estabilización. Se verificaron diferencias significativas en el grado alcohólico y la acidez total, aunque las mismas no tienen relevancia enológica.

Cuadro 2. Composición físico-química del vino base y de los vinos tratados

	VB	T	C1	C2
Alcohol (%v/v)	12,26±0,01 α	12,6±0,03 α.b	12,29±0,02 α.a	12,24±0,02 β.b
Acidez total (gH₂SO₄/l)	3,32±0,01 α	3,31±0,05 α.a	3,32±0,005 α.a	3,27±0,02 β.b
Acidez volátil (gH₂SO₄/l)	0,44±0,0 α	0,45±0,01 α.a	0,45±0,01 α.a	0,45±0,01 α.a
pH	3,6±0,0 α	3,59±0,0 α.a	3,59±0,006 α.a	3,59±0,006 α.a
Azúcares reductores (g/l)	2,33±0,0 α	2,27±0,08 α.a	2,29±0,1 α.a	2,32±0,06 α.a

Medias con diferentes letras griegas indican diferencias significativas para el Test de Tukey ($p < 0,05$) entre el vino base y los tratamientos. Medias con diferentes letras romanas indican diferencias significativas para el test de Tukey ($p < 0,05$) entre tratamientos.

4.2. COMPOSICIÓN FENÓLICA

El cuadro 3 muestra la composición fenólica del VB y de los vinos T, C1 y C2. Al finalizar el período de clarificación, los vinos T, C1 y C2 no presentaron diferencias estadísticas en la concentración de polifenoles totales. Cosme et al. (2011) en cambio, encontraron que la PVPP, componente del Clarificante 2, provocaba disminuciones en la concentración total de polifenoles.

Cuadro 3. Composición fenólica del vino base y de los vinos tratados

	VB	T	C1	C2
P.T. (mg/l)	1238±17,3 α	1222±69,0 α.a	1254±26,0 α.a	1232±25,2 α.a
Antocianos (mg/l)	504±0,6 α	491±8,4 α.a	489±6,0 α.a	454±12,4 β.b
Proantocianidinas (mg/l)	1565 α	1594±115,9 α.a	1678±28,4 α.a	1601±291,1 α.a
MCP	-	9,8±1,4 a	9,0±2,1 a	8,2±1,8 a
Catequinas (mg/l)	867±44,1 α	802±27,7 αβ.b	727±50,9 β.b	456±77,1 γ.a
DMACH	-	78,4±3,6 b	77,3±2,3 b	70,8±1,5 a
DMACH/LA	-	46,7±3,1 a	45,3±2,1 a	47±9,6 a
Índice de etanol	-	17,4±1,3 b	18,8±1,3 b	21,2±1,3 a

Medias con diferentes letras griegas indican diferencias significativas para el Test de Tukey ($p < 0,05$) entre el vino base y los tratamientos. Medias con diferentes letras romanas indican diferencias significativas para el test de Tukey ($p < 0,05$) entre tratamientos. P.T. es polifenoles totales; MCP es taninos precipitables por metilcelulosa.

Si bien a nivel de la concentración fenólica general no se registraron diferencias entre los tratamientos, el análisis de las distintas familias fenólicas mostró que los productos utilizados tuvieron un efecto diferencial. En este sentido, los vinos clarificados con Clarificante 2 presentaron una menor concentración de antocianos en relación a los demás tratamientos. Este resultado podría explicarse por el efecto individual o combinado provocado por la presencia de bentonita y PVPP en la formulación. González-Neves et al. (2014) determinaron en un ensayo de clarificación en vino tinto de la variedad Tannat que la bentonita provocaba disminuciones en los contenidos de antocianos. Adicionalmente, Stankovic et al. (2004) encontraron un efecto diferencial de la bentonita sobre los antocianos, que determinaría una reducción mayor en los contenidos de antocianos ionizados. Efectos similares fueron reportados por Chagas et al. (2012) en vinos tratados con bentonita. La bentonita de carga electronegativa en el vino fija por un fenómeno de atracción electroestática aquellas moléculas de carga opuesta como el catión flavilio (Hidalgo, 2002). A su vez, los mismos autores reportaron para el mismo ensayo una disminución en los derivados de base Cianidina y Delfinidina, así como en

los contenidos de antocianos acilados, mientras que los contenidos de derivados de Malvidina aumentaban.

Por su parte, Hidalgo (2002) afirma que la PVPP afecta los contenidos de antocianos en vinos tintos. En una misma línea, Lisanti et al. (2016) reportaron la capacidad de esta molécula de absorber compuestos fenólicos de bajo peso molecular como antocianinas. Cosme et al. (2017) por su parte, determinaron que las combinaciones de PVPP, proteína vegetal y sílica y PVPP, bentonita cálcica y levaduras inertes provocaban descensos significativos en las concentraciones totales de antocianos y de antocianos coloreados.

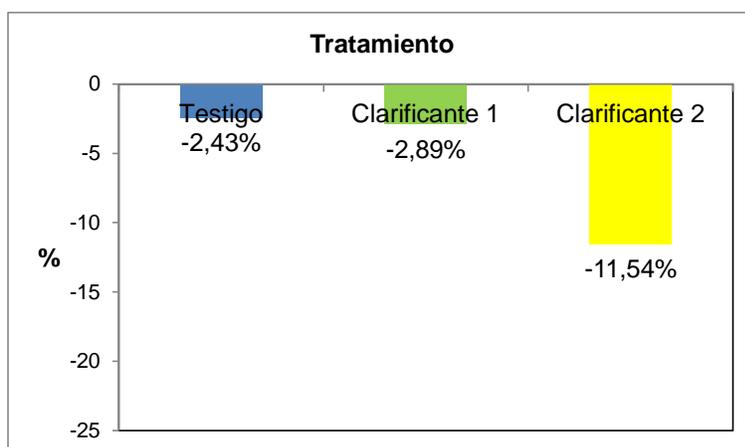


Figura 1. Variación porcentual en la concentración antociánica de los vinos clarificados respecto al vino base

Adicionalmente, los tratamientos generaron un efecto diferencial sobre los flavanoles. Los taninos condensados o proantocianidinas no fueron afectados de manera significativa. Este resultado se observa en los contenidos totales de proantocianidinas y en MCP (ver cuadro 3).

Sin embargo, pese a que las concentraciones de taninos precipitables por MC no difirieron significativamente entre los vinos de los distintos tratamientos, los valores registrados en los vinos C1 y C2 fueron menores al registrado en los vinos T. En consecuencia, podría existir un efecto de estos productos sobre los taninos condensados, aunque de menor magnitud.

En contraposición, los vinos C1 y C2 presentaron mayor concentración de proantocianidinas que los vinos T, si bien las diferencias no fueron significativas estadísticamente. Surge así la interrogante de la posibilidad de que ambos productos contengan taninos en su composición como consecuencia de las formas de extracción de las proteínas de papa en el proceso de elaboración de los mencionados clarificantes.

El tratamiento Clarificante 2 provocó la reducción en la concentración de catequinas. Este resultado es coherente con la composición que se declara para el producto. Como se menciona, el Clarificante 2 contiene PVPP. El efecto resulta congruente con lo reportado por Verza et al. (2008), quienes sostienen que este polímero sintético posee particular capacidad de absorción de compuestos fenólicos de bajo peso molecular como las catequinas. Bowyer (2008) atribuye esta capacidad por parte de la PVPP a la rígida estructura de la molécula y su incapacidad para interactuar con especies fenólicas de mayor tamaño.

Por su parte, los vinos C1 si bien no presentaron diferencias significativas para esta variable respecto a los vino T, también presentaron menores contenidos, lo que permite suponer que si bien en menor magnitud, también habrían afectado a los taninos de bajo pero molecular.

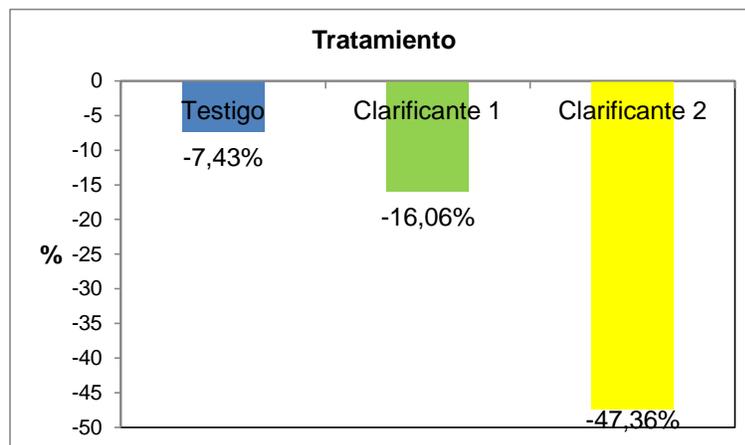


Figura 2. Variación porcentual en el contenido de catequinas respecto al vino base

Los vinos C2 mostraron el menor valor del índice DMACH, diferenciándose de manera significativa de los tratamientos T y Clarificante 1 que no presentaron diferencias estadísticas entre sí. En consecuencia, los vinos tratados con Clarificante 2 presentarían una concentración mayor de taninos con mayor grado de polimerización porque precipitaron preferencialmente los menos polimerizados.

Por otro lado, no hubo diferencias entre tratamientos en el grado medio de polimerización de las moléculas de taninos estimado mediante el índice DMACH/LA. El resultado hace presumir que no hubo un efecto diferencial de los tratamientos sobre las moléculas de distinto tamaño.

Los vinos C2 mostraron un índice de etanol más elevado respecto a los demás tratamientos. Esto podría traducirse en que los vinos C2 presentaron un porcentaje mayor de taninos asociados a polisacáridos con respecto al total de taninos. Los resultados sugieren por lo tanto que los taninos asociados a polisacáridos son poco afectados por el producto. Los vinos C1 y T por su parte no se diferenciaron entre sí.

4.3. COLOR

No hubo diferencias de relevancia enológica en la intensidad colorante (IC) entre los tratamientos T, Clarificante 1 y Clarificante 2 (ver cuadro 4). Resulta entonces que los descensos reportados en la presente investigación en la concentración de antocianos en los vinos C2 (ver cuadro 3) no significaron una diferencia apreciable analíticamente en el color del vino. Los resultados obtenidos están de acuerdo con los encontrados por Gambuti et al. (2012) en el caso del Clarificante 1, donde se observó que la clarificación con patatina no provocaba cambios sobre este parámetro cromático. Sin embargo, estos resultados no se ajustarían en el caso del Clarificante 2 a lo reportado por González-Neves et al. (2014), quienes demostraron disminución de la IC en vinos tintos de la variedad Tannat clarificados con bentonita. En un mismo sentido, Stankovic et al. (2004), demostraron que la bentonita provocaba la disminución de la intensidad colorante de vinos tintos de tres variedades viníferas.

No obstante, se observa una marcada evolución en la IC de los vinos T, C1 y C2 respecto a la obtenida en el vino base. Esta reducción en la IC puede vincularse con la caída en la concentración de antocianos que se observa en el cuadro 2 entre el VB y los tratamientos. Las bajas temperaturas registradas durante el otoño y el invierno en el sitio donde fue llevado a cabo el ensayo pueden haber causado la precipitación de antocianos.

Cuadro 4. Parámetros cromáticos del vino base y de los vinos tratados

	VB	T	C1	C2
I.C.	12,3±0,0 α	9,6±0,04 β.a	9,5±0,06 β.a	9,4±0,08 γ.b
Ton	0,67±0,001 α	0,56±0,004 βa.b	0,55±0,004 β.a	0,57±0,02 β.b
%Am	34,38±0,1 α	31,61±0,1 βa.b	31,48±0,1 β.b	32,06±0,6 β.a
%Ro	51,63±0,02 β	56,48±0,2 α.ab	56,55±0,2 α.a	55,94±0,6 α.b
%Az	13,98±0,1 α	11,89±0,1 β.a	11,96±0,1 β.a	11,98±0,09 β.a
L*	46±0,1 γ	53,62±0,1 β.b	53,68±0,1 β.b	54,27±0,2 α.a
C*	45,78±0,2 γ	48,03±0,2 α.a	47,95±0,2 α.a	47±0,6 β.b
h*	5,96±0,2 α	0,99±0,3 β.ab	0,67±0,6 β.b	1,77±1,0 β.a

Medias con diferentes letras griegas indican diferencias significativas para el Test de Tukey ($p < 0,05$) entre el vino base y los tratamientos. Medias con diferentes letras romanas indican diferencias significativas para el test de Tukey ($p < 0,05$) entre tratamientos. I.C. es intensidad colorante; Ton es tonalidad; %Am es porcentaje de amarillo; %Ro es porcentaje de rojo; %Az es porcentaje de azul; L* es claridad; C* es croma o saturación; h* es tono.

Los vinos clarificados presentaron diferencias significativas en la tonalidad (Ton) y en los porcentajes de rojo (%Ro) y amarillo (%Am). González-Neves et al. (2014) reportaron que la bentonita provocaba un descenso en los matices rojizos y un incremento en los amarillentos. Stankovic et al. (2004) por su parte, encontraron que la bentonita provocaba una caída en la intensidad de los componentes rojo y azul del color de los vinos, mientras que los valores de pigmentación amarilla crecían concluyendo que la bentonita utilizada bajo

determinadas dosis puede derivar en vinos de coloraciones teja. La concentración de bentonita presente en Clarificante 2 no parece ser suficiente para provocar el mencionado efecto.

La tonalidad respecto al vino base también bajó para los tres tratamientos en similares proporciones. Esto se refleja en la reducción registrada en los valores de absorbancia a 420 nm.

Las diferencias con el vino base pueden corresponderse a la propia evolución del vino, aquella que es inherente a las condiciones de almacenamiento e independiente de los tratamientos de clarificación. No obstante, los tratamientos pueden haber afectado el contenido de pigmentos de coloración amarilla. Probablemente se produjo la precipitación y sedimentación de compuestos oxidados, lo cual se corresponde con lo encontrado por Iturmendi et al. (2013), donde una alta eficiencia a la hora de remover pigmentos oxidados fue mencionada para el Clarificante 1. Los mismos autores mencionan que el Clarificante 1 tiene capacidad para remover compuestos fenólicos oxidados y aquellos susceptibles a oxidación como catequinas y epicatequinas, que pueden oxidarse a formas quinonas. En un mismo orden, Gambuti et al. (2015) determinaron una reducción alta en la absorbancia a 420 nm en mosto de la variedad Greco luego de ser tratado con patatina.

4.4. ANÁLISIS SENSORIAL

El cuadro 4 muestra que a través del análisis sensorial no se logró diferenciar vinos de los diferentes tratamientos. Los vinos recibieron una valoración positiva por el panel de cata, que destacó favorablemente la intensidad en el color, la redondez entendida como baja astringencia, y el carácter frutal a nivel aromático.

Se percibieron diferencias únicamente para el descriptor aromas vegetales, donde los vinos T se separaron estadísticamente de los vinos C1, siendo apreciada en los primeros una mayor intensidad de aromas vegetales. Al respecto, no existen reportes a la fecha de la capacidad de remoción de compuestos odoríferos por parte de la proteína de papa.

Por otro lado, a pesar de que estadísticamente no se diferenciaron, los valores sugieren que en los vinos T se percibieron aromas vegetales con mayor intensidad que en los vinos C2. Si bien en este estudio no se consideró el análisis de los compuestos volátiles y el efecto de cada tratamiento sobre los mismos, autores como Lambri et al. (2010) reportan la capacidad de la bentonita de adsorción y remoción de ciertas moléculas odoríferas, mientras que Bowyer (2008) sostiene que la PVPP es capaz de eliminar moléculas que intervienen en los aromas de un vino.

Cuadro 5. Descripción organoléptica de los vinos clarificados

	T	C1	C2
Intensidad color	7,08±1,0 a	7,11±1,1 a	7,10±1,1 a
Calidad color	7,44±1,0 a	7,63±0,9 a	7,54±1,1 a
Transparencia	7,50±1,2 a	7,42±1,3 a	7,38±1,4 a
Intensidad aromática	6,65±1,0 a	6,43±1,0 a	6,50±0,9 a
Calidad aromática	6,79±1,0 a	6,65±1,1 a	6,84±1,3 a
Aromas frutados	6,67±0,9 a	6,44±0,8 a	6,43±1,1 a
Aromas vegetales	5,26±1,7 a	4,62±1,5 b	4,98±1,7 ab
Cuerpo	6,40±1,0 a	6,24±1,2 a	6,13±1,2 a
Acidez	5,92±1,6 a	6,04±1,5 a	5,74±1,8 a
Amargor	4,14±1,8 a	4,14±2,1 a	4,12±1,9 a
Astringencia	5,59±1,4 a	5,75±1,3 a	5,46±1,6 a
Persistencia	6,68±1,5 a	6,75±1,3 a	6,46±1,2 a
Equilibrio	6,16±1,4 a	6,11±1,3 a	5,99±1,3 a
Juicio global	6,25±1,0 a	6,23±1,1 a	6,03±1,2 a

Medias con diferentes letras romanas indican diferencias significativas para el test de Tukey ($p < 0,05$) entre tratamientos.

Por consiguiente, las diferencias entre tratamientos en los parámetros cromáticos definidos como IC y Ton y aquellas encontradas entre los contenidos de catequinas, que hacían suponer la existencia de vinos más o menos astringentes, no lograron ser apreciadas en esta evaluación. Al respecto, los vinos T y C1 que poseían una concentración mayor de catequinas respecto a los vinos C2 no se percibieron más amargos (Arnold et al., 1979).

5. CONCLUSIONES

Los distintos tratamientos clarificantes produjeron diferentes efectos sobre la composición del vino. En consecuencia, los vinos resultantes presentaron diferencias entre sí en las concentraciones de aquellas moléculas que explican el color del vino como en los compuestos que explican las respuestas somato-sensoriales percibidas al beber un vino.

Los efectos más destacables fueron los obtenidos por el Clarificante 2. La fórmula disminuyó de manera significativa los contenidos de antocianos y catequinas probando su capacidad para remover compuestos fenólicos de bajo peso molecular.

A diferencia del Clarificante 2, el Clarificante 1 no presentó efectos significativos sobre antocianos y catequinas. De esta manera se podría decir que en este ensayo la clarificación con patatina no tuvo incidencia en la coagulación-precipitación de estas moléculas.

Considerando que Clarificante 1 solo contiene patatina mientras que Clarificante 2 contiene patatina, PVPP y bentonita, se podría inferir que los efectos de remoción sobre antocianos ionizados y catequinas son atribuibles a estas dos últimas moléculas.

A pesar de la caída en la concentración de antocianos que provocó Clarificante 2, las diferencias en intensidad colorante y tonalidad no resultaron de importancia enológica entre tratamientos.

Para conocer el efecto específico que el Clarificante 2 tiene sobre cada uno de los derivados antociánicos habría que complementar el presente trabajo con un análisis de perfil HPLC. Esta información resultaría de suma valía para conocer, considerando el perfil de antocianos de cada vino, como Clarificante 2 puede afectarlo y determinar así la conveniencia de utilizar este producto para clarificar un determinado caldo.

Por otro lado, los productos no alteraron las concentraciones de proantocianidinas. Al respecto, si bien no existen diferencias estadísticas entre tratamientos las concentraciones de proantocianidinas aumentaron para los vinos C2 y C1. Este hecho haría suponer que ambos productos contienen taninos de naturaleza no especificada. Futuros análisis que permitan caracterizar el perfil de taninos de los vinos resultarían indispensables para sostener o descartar esta hipótesis.

Se podría concluir en base a lo antes mencionado que la patatina, agente de clarificación no tradicional de origen vegetal, poco impacto presentó

sobre el color y las concentraciones de antocianos, catequinas y proantocianidinas de vinos tintos de la variedad Tannat en el presente ensayo.

Por otra parte, el análisis sensorial no arrojó mayores diferencias entre tratamientos. Por lo tanto, las diferencias en antocianos y catequinas entre tratamientos para las dosis y condiciones de ensayo empleadas no resultarían perceptibles a escala sensorial aun para un panel de cata entrenado.

El único descriptor que presentó diferencias entre tratamientos fue el de aromas vegetales. Los C1 fueron percibidos como menos “vegetales” lo cual sería positivo pensando en un perfil aromático idóneo para un tinto joven, por el que se esperan destacadas notas de carácter frutal principalmente. En caso de interés por conocer la acción específica que puede tener la patatina sobre aquellos volátiles que explican los aromas vegetales se ameritaría un análisis de carácter más específico.

En conclusión, de los resultados obtenidos se desprende que la patatina poca incidencia tuvo sobre los contenidos polifenólicos de vinos tintos secos de la variedad Tannat. El único efecto provocado por esta proteína en el presente trabajo fue sobre aquellos volátiles percibidos como “vegetales”. Por otro lado, la clarificación con la fórmula patatina, PVPP y bentonita provoca la precipitación de antocianos y catequinas mayoritariamente, acción que sería atribuible a los segundos componentes.

La clarificación es un proceso que debe ajustarse a cada caso para conocer los resultados posibles de cada producto y dosis. La composición polifenólica de cada vino debería ser analizada en cada caso a la hora de optar por alguna de las opciones de mercado.

La elección de un clarificante también debe ser función de los objetivos comerciales de cada bodega, y es por ello que se puede afirmar que el Clarificante 2 constituye una opción válida para aquellas bodegas que apuestan por potenciales clientes que optan por vinos libre de alérgenos y veganos.

6. RESUMEN

En el ensayo se comparó la acción de tres tratamientos de clarificación por coadyuvantes enológicos comerciales en un vino tinto joven de la variedad Tannat. Los tratamientos fueron Clarificante 1, compuesto a base de proteínas vegetales extraídas de papa, Clarificante 2, asociación de PVPP, proteína vegetal y bentonita y tratamiento T. El ensayo tuvo un diseño completamente al azar con tres repeticiones por tratamiento. Se determinó composición básica del vino base al comienzo del ensayo y de todas las repeticiones de los tratamientos al finalizar el ensayo. Adicionalmente, fueron evaluados los parámetros enológicos contenido alcohólico, acidez total, pH, anhídrido sulfuroso total y libre y acidez volátil, la composición fenólica mediante los índices espectrofotométricos clásicos y los parámetros cromáticos a través de los índices enológicos tradicionales y los parámetros del sistema CIELAB. Los vinos resultantes se evaluaron sensorialmente bajo formato de análisis sensorial descriptivo cuantitativo. Los resultados mostraron que el Clarificante 2 redujo de manera significativa los contenidos de antocianos y catequinas. Por su parte, el Clarificante 1 no presentó efectos significativos sobre antocianos y catequinas. Adicionalmente, las concentraciones de proantocianidinas no resultaron modificadas por alguno de los tratamientos. A su vez, las diferencias resultantes en intensidad colorante y tonalidad entre tratamientos no supusieron relevancia enológica. Finalmente, el análisis sensorial únicamente arrojó diferencias para el carácter aromas vegetales. Los C1 fueron percibidos como menos “vegetales”.

Palabras clave: Tannat; Clarificación; Antocianos; Taninos; Vino.

7. SUMMARY

In this research trial, the action of three fining treatments by commercial enological adjuvants over a young red wine of the Tannat variety was compared. The treatments were Clarificante 1, composed of vegetal proteins extracted from potato, Clarificante 2, association of PVPP, vegetable protein and bentonite and treatment T. The experiment had a completely random design with three repetitions per treatment. The basic composition of the base wine was determined at the beginning of the experiment and at the end of the trial for all the repetitions of the treatments. In addition, enological parameters such as alcohol content, total acidity, pH, total and free sulfur dioxide and volatile acidity were evaluated as well as phenolic composition by classical spectrophotometric indexes and chromatic parameters through the traditional oenological indices and the CIELAB system parameters. The resulting wines were sensorially evaluated under the format of quantitative descriptive sensory analysis. Results showed that Clarificante 2 significantly reduced the anthocyanin and catechin contents. On the other hand, Clarifier 1 did not have significant effects on anthocyanins and catechins. Additionally, concentrations of proanthocyanidins were not modified by any of the treatments. On top of, the resulting differences in color intensity and hue between treatments did not assume oenological relevance. Finally, the sensory analysis only showed differences for the character vegetable scents. The C1 were perceived as less "vegetable".

Keywords: Tannat; Fining; Anthocyanins; Tannins; Wine.

8. BIBLIOGRAFÍA

1. Arnold, R. A.; Noble, A. C. 1979. Effects of pomace contact on flavor of Chardonnay wine. *American Journal of Enology and Viticulture*. 30:179-181.
2. Ayala, F.; Echávarri, J. F.; Negueruela, A. I. 1997. A new simplified method for measuring the color of wines. I. Red and rose wines. *American Journal of Enology and Viticulture*. 48 (3):357-363.
3. Becerril Eraso, K. J. 2015. Efecto de la temperatura en la clarificación de vinos tintos con proteína de patata. Tesis Ingeniería Agroalimentaria y del medio rural. Urtarrila, España. Universidad Pública de Navarra. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos. 63 p.
4. Blouin, J.; Peynaud, E. 2004. *Enología práctica*. 4ª. ed. Madrid, Mundi-Prensa. 360 p.
5. Bowyer, P. K. 2008. Non-proteinaceous fining agents. *The Australian & New Zealand Grapegrower & Winemaker*. 534:65-71.
6. Catarino, S.; Madeira, M.; Monteiro, F.; Rocha, F.; Curvelo-Garcia, A. S.; Bruno de Sousa, R. 2008. Effect of bentonite characteristics on the elemental composition of wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 56 (1):158-165.
7. Chagas, R.; Monteiro, S.; Ferreira, R. 2012. Assessment of potential effects of common fining agents used for white wine protein stabilization. *American Journal of Enology and Viticulture*. 63 (4):574-578.
8. Cosme, F.; Nuno, J.; Vilela, A.; Nunes, F .M. 2017. Reserve Ruby Port wine: alternatives to gelatine protein fining agents. *In: World Vine and Wine Congress (40th, 2017, Sofia)*. Book of abstracts. Sofia, Bulgaria, OIV. pp. 123-125.
9. Gambuti, A.; Rinaldi, A.; Moio, L. 2012. Use of patatin, a protein extracted from potato, as alternative to animal proteins in fining of red wine. *European Food Research and Technology*. 235:753-765.

10. _____.; _____.; _____.; Romano, R.; Manzo, N. 2015
Performance of a protein extracted from potatoes for fining of white
musts. Food Chemistry. 190:237-243.
11. Glories, Y. 1978. Recherches sur la matière colorante des vins rouge.
Thèse doctorat d'état. Bordeaux, France. Université de Bordeaux
II. 364 p.
12. _____. 1984. La couleur des vins rouges. 2^{ème}. partie: mesure,
origine et interprétation. Connaissance Vigne Vin. 18 (4):253-271.
13. González-Neves, G.; Favre, G.; Gil, G.; Ferrer, M. 2011. Potencial
polifenólico de la uva: índices propuestos y posibles aplicaciones.
Comunicata Scientiae. 2 (2):57-69.
14. _____.; _____.; _____. 2014. Effect of fining on the colour
and pigment composition of young red wines. Food Chemistry.
157:385-392.
15. Harbertson, J. F. 2009. A guide to the fining of wine. Washington State
University. Extension Manual 016. 10 p.
16. Hidalgo Togoeres, J. 2002. Tratado de enología. Madrid, Mundi-Prensa.
v.2, 1.423 p.
17. Hipólito Isaza, J. 2007. Taninos o polifenoles vegetales. Scientia et
Technica. no. 33:13-18
18. INAVI (Instituto Nacional de Vitivinicultura, UY). 2018. Estadísticas de
viñedos 2018 datos nacionales. (en línea). Las Piedras. 65 p.
Consultado 22 nov. 2018. Disponible en
<http://www.inavi.com.uy/uploads/archivos/nacionales2018.pdf>
19. Iturmendi, N.; Moine, V.; Renouf, V.; Rinaldi, A.; Gambuti, A.; Moio, L.
2013. Vegecoll®, a revolutionary new vegetal, allergen-free fining
alternative to gelatine and egg white. (en línea). Capetown,
Wineland Media. s.p. Consultado 23 dic. 2017. Disponible en
<https://www.wineland.co.za/vegecoll-a-revolutionary-new-vegetal-allergen-free-fining-alternative-to-gelatine-and-egg-white/>
20. Lambri, M.; Dordoni, R.; Silva, A.; De Faveri, D. M. 2010. Effect of
bentonite fining on odor-active compounds in two different white

wine styles. American Journal of Enology and Viticulture. 61 (2):225-233.

21. Lisanti, M.; Gambuti, A.; Genovese, A.; Piombino, P.; Moio, L. 2016. Treatment by fining agents of red wine affected by phenolic off-odour. European Food Research and Technology. 243 (3):501-510.
22. López Casado, I. 2014. Uso de clarificantes de proteína vegetal en vino tinto ecológico. Tesis Enólogo. Logroño, España. Universidad de la Rioja. Facultad de Ciencias, Estudios Agroalimentarios e Informática. 37 p.
23. Molina, R. 2000. Teoría de la clarificación de mostos y vinos y sus aplicaciones prácticas. Madrid, Mundi-Prensa. 317 p.
24. Ribéreau-Gayon, P.; Stonestreet, E. 1965. Determination of anthocyanins in red wine. Bulletin de la Societe Chimique de France. 9:2649-2652.
25. _____.; _____. 1966. Concentration of the tannins in red wine and determination of their structure. Chimie Analytique. 48:188-196.
26. _____.; Glories, Y.; Maujean, A.; Dubourdieu, D. 2003. Tratado de enología: química del vino, estabilización y tratamientos. Buenos Aires, Hemisferio Sur. v.2, 554 p.
27. _____.; Dubourdieu, D.; Donèche, B.; Lonvaud, A. 2006. Handbook of Enology: the microbiology of wine and vinifications. 2nd. ed. Wiltshire, Wiley. v.1, 497 p.
28. Romero, R. 2018. Características geográficas y socioeconómicas del Uruguay. (en línea). La Estanzuela, INIA s.p. Consultado 15 set. 2018. Disponible en http://www.inia.org.uy/disciplinas/agroclima/uruguay_gral.htm
29. Sarneckis, C. J.; Damberg, R. G.; Jones, P.; Mercurio, M.; Herderich, M. J.; Smith, P. A. 2006. Quantification of condensed tannins by precipitation with methyl cellulose: development and validation of an optimised tool for grape and wine analysis. Australian Journal of Grape and Wine Research. 12 (1):39-49.

30. Singleton, V. L.; Rossi, J. A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*. 16 (3):144-158.
31. Stankovic, S.; Slobodan, J.; Živković, J. 2004. Bentonite and gelatine impact on the young red wine coloured matter. *Food Technology and Biotechnology*. 42 (3):183-188.
32. Swain, T.; Hillis, W. E. 1959. The phenolic constituents of *Prunus domestica*. I. The quantitative analysis of phenolic constituents. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 10 (1):63-68.
33. Tomás-Barberán, F. A. 2003. Los polifenoles de los alimentos y la salud. *Alimentación, Nutrición y Salud*. 10 (2):41-53.
34. Verza, S. G.; Pavei, C.; Ortega, G. G. 2008. Study of the specificity of cross-povidone (PVPP) as binding agent in the quantification of polyphenolic compounds. *Journal of the Brazilian Chemical Society*. 19 (8):1627-1633.
35. Vivas, N.; Glories, Y.; Lagune, L.; Saucier, C.; Augustin, M. 1994. Estimation du degré de polymérisation des procyanidines du raisin et du vin par la méthode au p-diméthylaminocinnamaldéhyde. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*. 28(4):319-336.
36. Zamora Marín, F. 2013. La química del color del vino. (en línea). *Acenología*. set.:s.p. Consultado 15 ago. 2017. Disponible en http://www.acenologia.com/cienciaytecnologia/quimica_color_vino_cienc1213.htm.