

## 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A continuación, se van a exponer los resultados obtenidos correspondientes al análisis de las muestras de uvas Merlot de los dos tratamientos aplicados en la viña (vendimia en verde, VV; y testigo, T), así como al análisis de los vinos tintos obtenidos con las uvas de cada tratamiento.

Respecto a la discusión de los resultados obtenidos, en primer lugar hay que destacar que las conclusiones que se deriven de este estudio necesitarían ser confirmadas con estudios prolongados a sucesivas vendimias, puesto que sólo se ha controlado el nivel de carga de las cepas, y la dosis de riego, que ha sido igual en todos los casos. Sin embargo, otros factores que afectan a la calidad de la producción vitícola son difíciles de controlar, por no decir que imposibles.

Estamos hablando fundamentalmente de los factores climáticos, y se ha dado la circunstancia de que en la vendimia del 2003 las condiciones climáticas han sido bastante especiales, puesto que hemos padecido un verano inusualmente caluroso, con temperaturas anormalmente altas, superando los 40°C, que se mantuvieron durante unos 35-40 días, justamente en la época en que tenía lugar la síntesis de la mayor parte de los compuestos fenólicos de la uva (envero y etapa posterior de maduración). En este sentido, hay que recordar que, mientras es necesario un mínimo de energía luminosa para mantener la síntesis de los compuestos fenólicos, la síntesis de algunos de ellos, especialmente la de los antocianos, queda inhibida cuando se alcanzan temperaturas superiores a los 35°C. Esta síntesis disminuida de antocianos en la vendimia del 2003, como efecto del excesivo calor, ha podido constatarse en una gran mayoría de las bodegas manchegas, que han elaborado vinos de menor intensidad colorante, en general, que los de otras vendimias más normales en cuanto a climatología.

## 5.1. DESARROLLO DE LA MADUREZ TECNOLÓGICA Y NIVELES DE CARGA ALCANZADOS

En la Tabla 5.1 aparecen los datos relativos a la evolución de los principales parámetros tecnológicos de la uva durante la maduración.

**Tabla 5.1. Datos relativos al tamaño de las uvas y a las características del mosto, para cada tratamiento realizado a las cepas de uvas Merlot estudiadas.**

Muestras*		Peso (g) de 100 uvas	Nº uvas	pH del mosto	Grado alcohólico probable (% V/V)	Acidez total (g/l ác. tartárico)
<b>1VV</b>	28-jul	53.5	201	3.12	9.10	11.78
	07-ago	57.1	199	3.67	12.60	6.00
	14-ago	73.3	150	3.95	13.60	5.85
	21-ago	69.9	161	4.09	14.60	4.40
	28-ago	75.8	189	4.19	14.00	3.20
<b>2VV</b>	28-jul	65.1	159	2.97	8.80	14.75
	07-ago	78.1	149	3.50	12.30	6.15
	14-ago	80.2	149	3.73	14.60	5.85
	21-ago	83.8	144	3.84	14.70	4.55
	28-ago	105.6	119	3.89	14.10	3.90
<b>1T</b>	28-jul	63.5	178	2.97	7.80	15.83
	07-ago	73.4	155	3.53	10.30	7.65
	14-ago	100.4	106	3.73	11.80	5.64
	21-ago	82.7	156	3.87	14.00	4.50
	28-ago	87.0	129	3.90	13.40	3.75
<b>2T</b>	28-jul	55.3	200	2.95	7.90	16.42
	07-ago	70.8	155	3.26	10.70	8.80
	14-ago	82.4	140	3.52	12.40	5.55
	21-ago	87.3	129	3.76	14.20	4.76
	28-ago	85.9	170	3.90	13.70	3.60

\* Designación de muestras: 1 y 2, conjunto de cepas "1" y "2"; VV, cepas con tratamiento de vendimia en verde; T, cepas testigo.

Podemos observar el patrón clásico de la maduración en clima cálido (Jackson y Lombard, 1993), que se caracteriza por alcanzar elevados contenidos en azúcares, que se manifestarán en altos grados alcohólicos probables (en torno a 14% de alcohol, en volumen), junto con una baja acidez total (no se llegan a alcanzar los 4 g/l, como ácido tartárico) y valores elevados de pH (de 3.9 y superiores), que obligarán a la corrección de la acidez, por

adición de ácido tartárico hasta unos 6 g/l, para así asegurar que las fermentaciones alcohólicas transcurran favorablemente, tanto desde la perspectiva microbiológica (no ocurrencia simultánea de la fermentación maloláctica) como desde la relativa a la extracción de color durante la vinificación (la forma flavilio de los antocianos es la coloreada de rojo, y predomina a pH ácido). Podríamos afirmar que en todos los tratamientos la madurez tecnológica alcanzada fue suficiente, y que en los dos conjuntos de muestras (“1” y “2”), las uvas de cepas con vendimia en verde alcanzaron un grado alcohólico probable algo superior que sus correspondientes testigos, mientras que la acidez total fue bastante similar, salvo en el caso de vendimia en verde 1VV, con la menor acidez total de todos los casos.

En cuanto a la carga de las cepas según el tratamiento aplicado en el viñedo (Tabla 5.2), observamos que en las cepas en las que se llevó a cabo la vendimia en verde se obtuvieron aproximadamente 3 kg de racimos, mientras que en los testigos la cantidad ascendió a unos 6 kg. Por tanto, se consiguió el objetivo prefijado, que fue reducir a aproximadamente la mitad el nivel de carga de las cepas. En los dos tratamientos se obtuvieron cargas moderadas, que en principio pueden ser bien sostenidas por la superficie foliar de la plantación, en este caso una espaldera (Carbonneau, 1989; Fuentes y Amorós, 1993). El peso medio del racimo se situó en torno a los 120 g, propio de la variedad (Jiménez, 1993), si bien en el tratamiento 1VV el peso del racimo fue algo menor, probablemente por el daño observado debido a los pájaros, al ir más avanzada su maduración (Tabla 5.1).

**Tabla 5.2. Datos relativos a la carga (kg de uva por cepa y peso medio del racimo) obtenida en cada tratamiento realizado a las cepas de uvas Merlot estudiadas.**

Muestra*	Cepa	Número de racimos	Carga por cepa (kg)	Carga por racimo (g)
<b>1VV</b>	1 <sup>a</sup>	39	3.31	84.9
	2 <sup>a</sup>	35	2.46	70.3
	3 <sup>a</sup>	21	2.25	107.1
	4 <sup>a</sup>	22	1.98	90.0
	5 <sup>a</sup>	23	2.43	105.7
<b>Media</b>		28	2.49	91.6
<b>Total</b>		140	12.43	
<b>2VV</b>	1 <sup>a</sup>	31	4.05	130.6
	2 <sup>a</sup>	25	3.61	144.4
	3 <sup>a</sup>	22	2.76	125.5
	4 <sup>a</sup>	22	1.96	89.1
	5 <sup>a</sup>	24	3.08	128.3
<b>Media</b>		25	3.09	123.6
<b>Total</b>		124	15.46	
<b>1T</b>	1 <sup>a</sup>	42	4.32	102.9
	2 <sup>a</sup>	43	4.46	103.7
	3 <sup>a</sup>	43	5.82	135.3
	4 <sup>a</sup>	51	6.68	131.0
	5 <sup>a</sup>	46	7.30	158.7
<b>Media</b>		45	5.72	126.3
<b>Total</b>		225	28.58	
<b>2T</b>	1 <sup>a</sup>	55	7.17	130.4
	2 <sup>a</sup>	48	5.52	115.0
	3 <sup>a</sup>	50	6.79	135.8
	4 <sup>a</sup>	47	5.32	113.2
	5 <sup>a</sup>	55	6.00	109.1
<b>Media</b>		51	6.16	120.7
<b>Total</b>		255	30.80	

\* Designación de muestras: 1 y 2, conjunto de cepas "1" y "2"; VV, cepas con tratamiento de vendimia en verde; T, cepas testigo.

## 5.2. COMPOSICIÓN FENÓLICA DE LOS HOLLEJOS DE LAS UVAS: EVOLUCIÓN Y DIFERENCIAS ENTRE TRATAMIENTOS

### 5.2.1. POLIFENOLES TOTALES

En general, se apreció un retraso en la síntesis de polifenoles totales en los tratamientos con mayor carga, tal como se deduce del menor contenido en estas sustancias en el momento del primer muestreo (Figura 5.1). No obstante, estos tratamientos llegaron a equipararse a los tratamientos con menor carga, los de vendimia en verde, en las fases finales de la maduración. En el caso “2” esta equiparación ocurrió tempranamente, y los dos tratamientos fueron prácticamente parejos durante la mayor parte de la maduración, mientras que en el caso “1” el desfase no se corrigió hasta las fases finales de la maduración, en que incluso se invirtió. Todos los tratamientos alcanzaron valores muy similares al final de la maduración, salvo el 1VV que obtuvo un valor sensiblemente inferior.

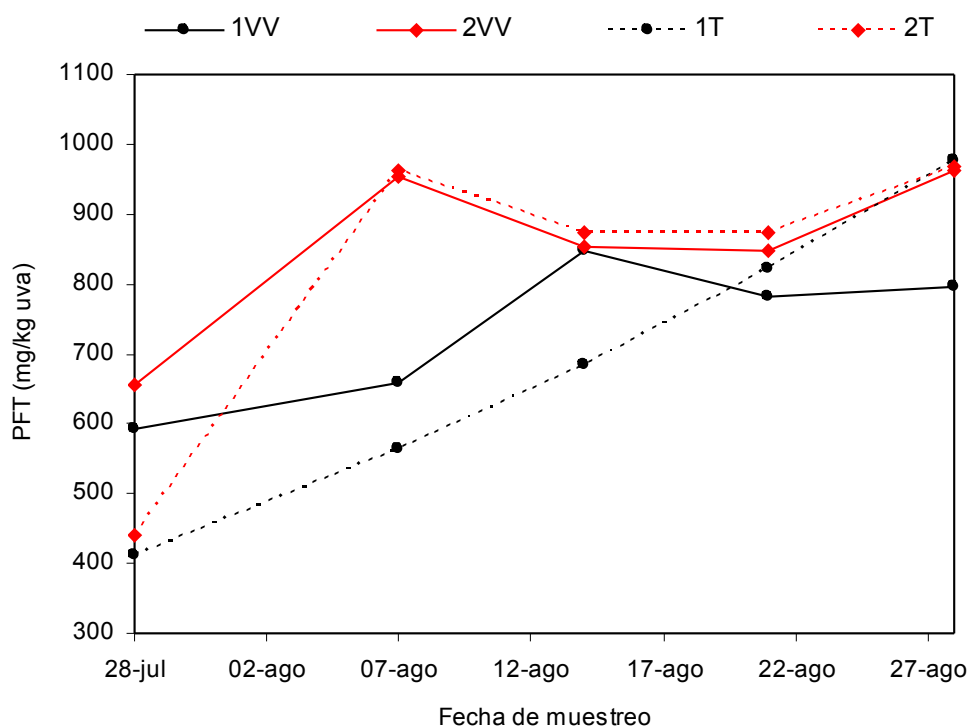


Figura 5.1. Evolución del contenido en polifenoles totales (como ácido gálico) de los hollejos de uvas Merlot, según el nivel de carga (VV, vendimia en verde; T, testigo).

### 5.2.2. ANTOCIANOS

Los contenidos en polifenoles analizados correspondieron sólo a los que se hallaban en los hollejos de las uvas estudiadas, y en éstos, cuando se trata de uvas tintas Merlot, los compuestos fenólicos analizados fueron mayoritariamente antocianos, tal como pudo deducirse de la buena correlación encontrada ( $R^2 = 0.8979$ ) entre el contenido en polifenoles totales y el de antocianos de los hollejos (Figura 5.2), similar a la encontrada en las uvas de otras variedades tintas representativas, como la Cencibel (Martín González, 2003; Martínez Gago, 2003).

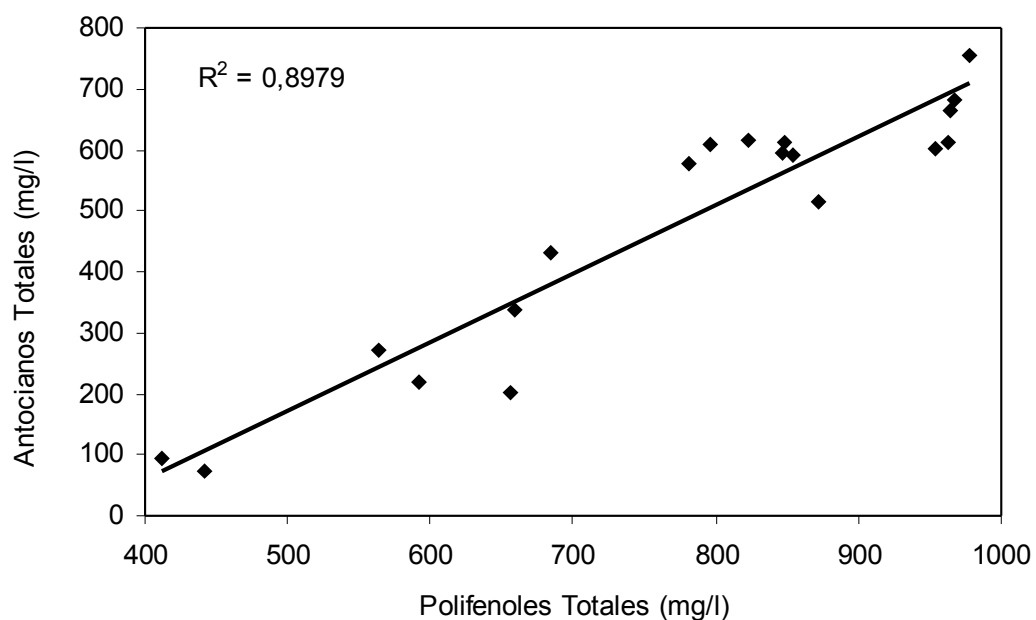


Figura 5.2. Correlación entre los contenidos en polifenoles totales (como ácido gálico) y en antocianos (como 3-monoglucósido de malvidina) correspondientes a las uvas Merlot de los diferentes tratamientos estudiados, durante su maduración.

Por tanto, cabe esperar que el contenido en antocianos de las uvas correspondientes a los distintos tratamientos estudiados, siguieran una evolución similar a la mostrada por los polifenoles totales, como así se encontró (Figura 5.3). El tratamiento 1T alcanzó el mayor contenido en antocianos por kg de uva, seguido de los tratamientos 2VV y 2T, con contenidos muy similares, y siendo el tratamiento 1VV el de menor contenido en antocianos.

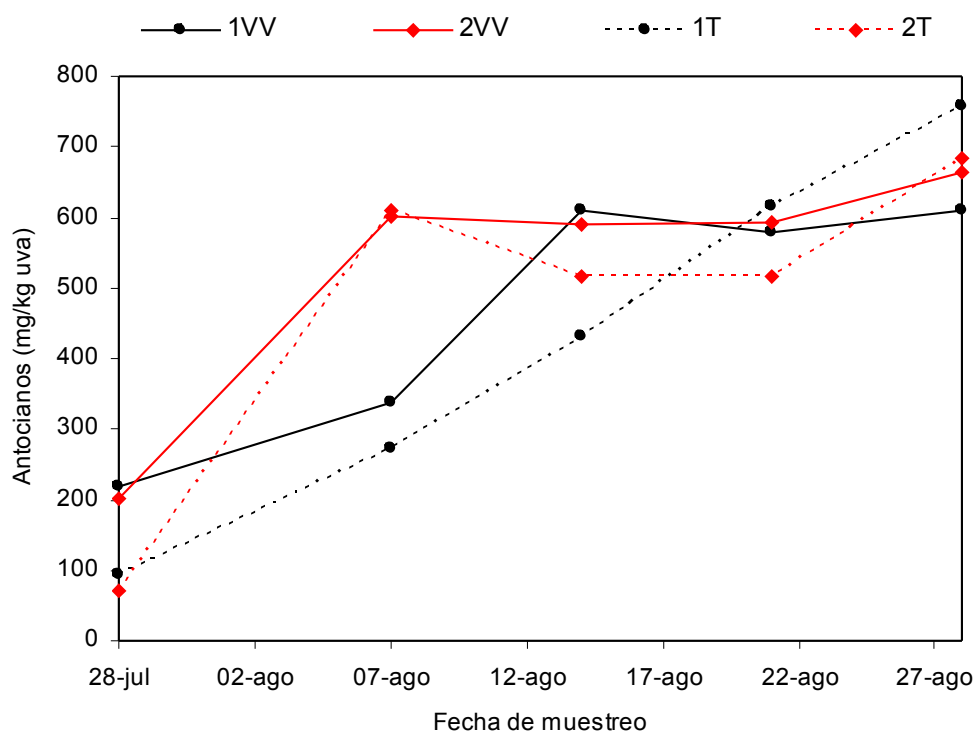


Figura 5.3. Evolución del contenido en antocianos (como 3-monoglucósido de malvidina) de los hollejos de uvas Merlot, según el nivel de carga (VV, vendimia en verde; T, testigo).

Los resultados anteriores no parecieron responder a las expectativas iniciales, ya que cabría esperar un mayor contenido en polifenoles totales y en antocianos en aquellos tratamientos en los que se acumularon más azúcares, que fueron los de menor carga (1VV y 2VV, Tabla 5.1), pues es conocida la correlación existente entre los azúcares acumulados y la materia colorante (Jackson y Lombard, 1993), pero también es cierto que en condiciones de altas temperaturas se puede inhibir la síntesis de antocianos en las bayas (Kliewer, 1977). Es muy importante que los racimos estén sombreados cuando se desarrollan en un clima cálido, para que la temperatura del racimo no suba excesivamente, pero no totalmente pues es necesario algo de luz para completar el contenido en antocianos (Bergquist, 2001; Spayd y col., 2002).

En general, atendiendo a la evolución de los contenidos en polifenoles totales y en sus representantes mayoritarios en los hollejos, los antocianos, se apreció un adelanto en la maduración en los tratamientos con menor carga, tal como cabría esperar (Amorós, 2001).

Este anticipo nos estaría indicando que la madurez fenólica se adelantó en los tratamientos con menor carga, al igual que lo observado en estudios realizados con uvas Cencibel y Cabernet Sauvignon (Blanco Benavente, 2002; Castro Villalobos, 2002; Hermosín y col., 2002).

Los resultados encontrados para los polifenoles totales y los antocianos, en función de la carga según el tratamiento aplicado, parecen estar indicando que unos niveles de carga del orden de los 6 kg por cepa no parecen ser excesivos en el caso de la variedad Merlot, mientras que en otras variedades estudiadas con anterioridad (Cencibel y Cabernet Sauvignon) la diferencia cualitativa entre vendimias de calidad y mediocres estuvo situada en unos valores ligeramente inferiores, cercanos a los 5 kg por cepa.

En cuanto al contenido en antocianos monómeros individuales, en todo el periodo de maduración considerado se observó que el antociano mayoritario fue el 3-monoglucósido de malvidina. Entre los derivados acilados de este antociano, el más importante de los encontrados fue el derivado acetilado, seguido de cerca por el derivado cumarílico, detectándose también la presencia del derivado cafeoilado en pequeñas proporciones. El nivel de carga afectó a la biosíntesis de los diversos antocianos individuales, de tal forma que en los tratamientos con menor carga (1VV y 2VV) se observó un paulatino crecimiento de la proporción del antociano mayoritario, el 3-monoglucósido de malvidina, mientras que en los tratamientos con mayor carga (1T y 2T) los niveles de este antociano fueron prácticamente constantes, con una ligera oscilación a mediados del periodo de maduración (Figuras 5.4 y 5.5). También se observó que en los tratamientos con mayor carga, la proporción final del derivado cumarílico del 3-monoglucósido de malvidina fue algo mayor, mientras que la del derivado acetilado resultó algo menor.



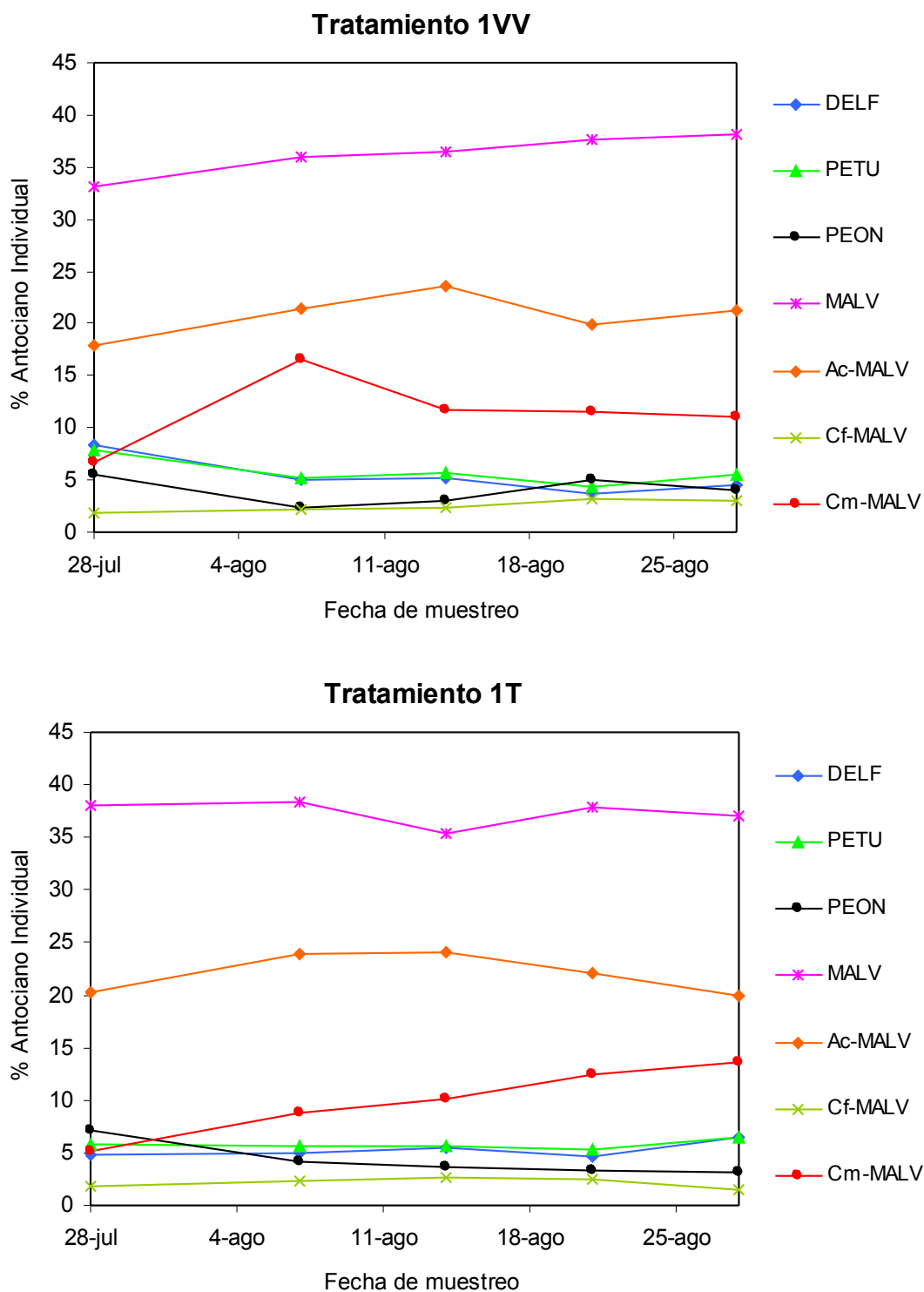


Figura 5.4. Evolución de las proporciones de los antocianos individuales mayoritarios en las uvas Merlot del conjunto de cepas "1", según el nivel de carga (VV, vendimia en verde; T, testigo). Designación de antocianos: DELF, PETU, PEON y MALV son los 3-monoglucósidos de delfinidina, petunidina, peonidina y malvidina, respectivamente; Ac-, Cm- y Cf, son los derivados acetilado, cumarílico y cafeoilado, respectivamente.

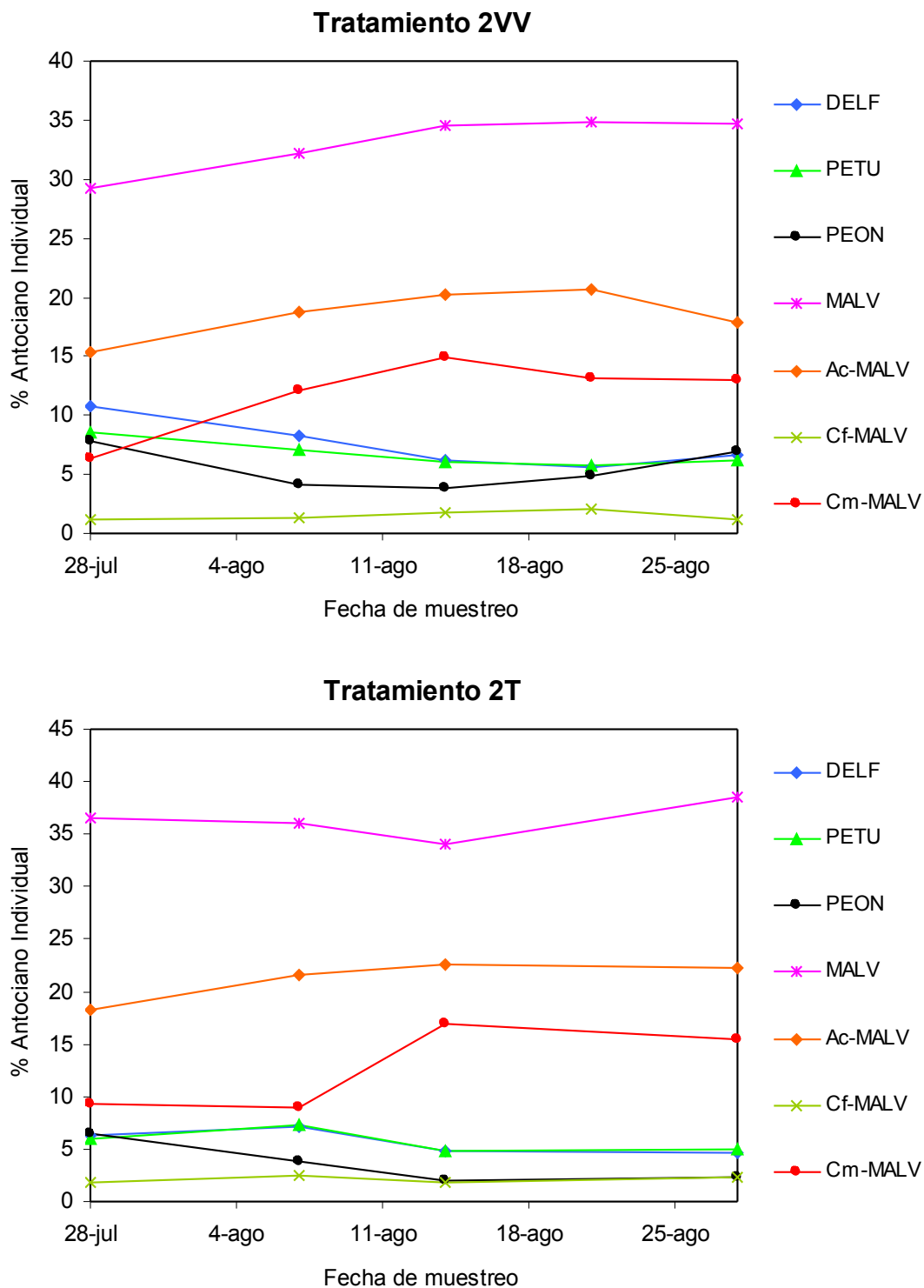


Figura 5.5. Evolución de las proporciones de los antocianos individuales mayoritarios en las uvas Merlot del conjunto de cepas “2”, según el nivel de carga (VV, vendimia en verde; T, testigo). Designación de antocianos: DELF, PETU, PEON y MALV son los 3-monoglucósidos de delfinidina, petunidina, peonidina y malvidina, respectivamente; Ac-, Cm- y Cf, son los derivados acetilado, cumarílico y cafeoilado, respectivamente.

Por otro lado, en las muestras recogidas al final de la maduración, correspondientes a uvas en estado de madurez tecnológica óptima, el perfil de antocianos que se obtuvo (Tabla 5.3) fue bastante homogéneo entre todos los tratamientos y similar al encontrado para otras muestras de uvas Merlot (Hermosín Gutiérrez y García Romero, 2004), por lo que se puede confirmar el carácter varietal del perfil de antocianos mostrado por las uvas de la variedad Merlot.

**Tabla 5.3. Perfil de antocianos monómeros (porcentaje de cada antociano monómero individual, respecto del total de antocianos monómeros separados por HPLC) de las uvas Merlot estudiadas (valor medio y desviación estándar correspondientes a las muestras del último día de todos los tratamientos).**

<i>3-Monoglucósido de</i>	<i>Derivado no acilado</i>	<i>Derivado acetilado</i>	<i>Derivado cumarílico</i>	<i>Derivado cafeoilado</i>
Delfinidina	5.57 ± 1.19	1.24 ± 0.23	1.55 ± 0.19	n.d.
Cianidina	0.90 ± 0.43	0.24 ± 0.23	0.12 ± 0.07	n.d.
Petunidina	5.76 ± 0.63	2.04 ± 0.39	2.43 ± 0.23	n.d.
Peonidina	4.15 ± 2.02	1.76 ± 0.68	1.52 ± 0.53	n.d.
Malvidina	37.10 ± 1.71	20.32 ± 1.87	13.26 ± 1.83	2.03 ± 0.83

n.d. = no detectado

### 5.2.3. FLAVONOLES

La cantidad total de flavonoles detectados en las uvas estudiadas se ha deducido a partir de los cromatogramas de HPLC, sumando las cantidades ( $\mu\text{mol/kg}$  de uva) de cada uno de los flavonoles separados, ya que la medida global obtenida espectrofotométricamente a 360 nm no es exclusiva de los flavonoles, tal como se ha explicado en el apartado de “Materiales y Métodos” (4.3.3, apartado a).

En términos generales, la evolución de los flavonoles siguió la tendencia mostrada por los polifenoles totales (Figura 5.1) y los antocianos (Figura 5.3), sobre todo en el caso de la muestra “1”, mientras que la muestra “2” tuvo una evolución menos acusada y con menores diferencias entre los tratamientos de vendimia en verde y el testigo (Figura 5.6). De nuevo, se observa como el tratamiento 1T destacó por ser el que mayor contenido en flavonoles alcanzó, con una evolución casi exponencial durante el periodo de maduración.

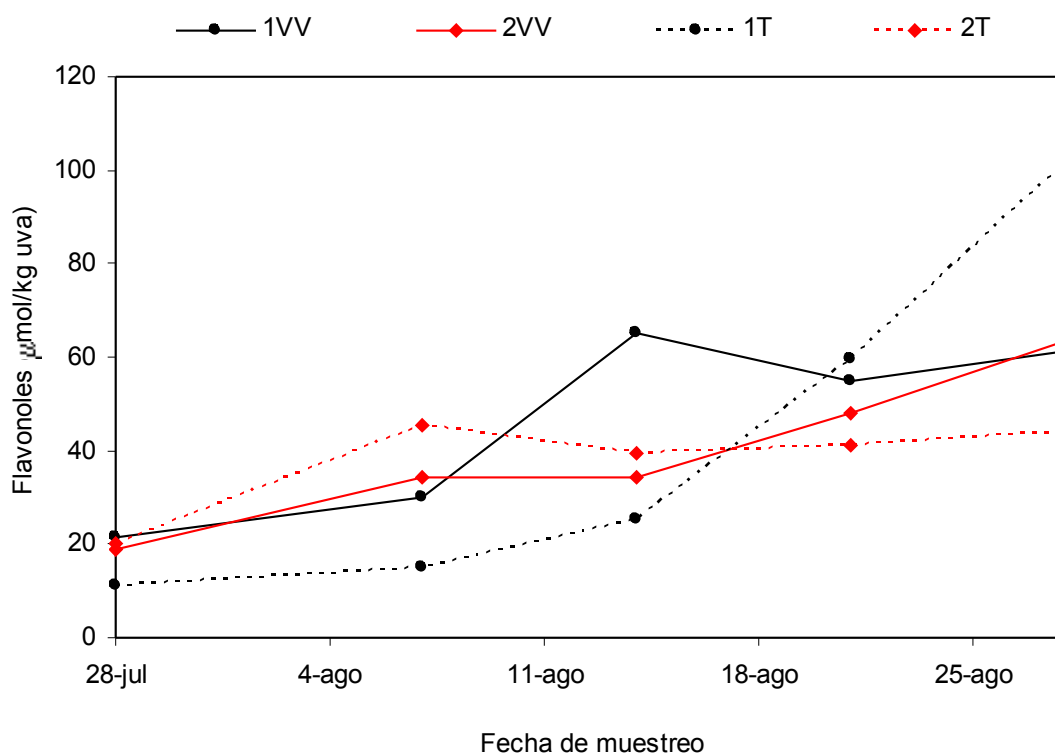
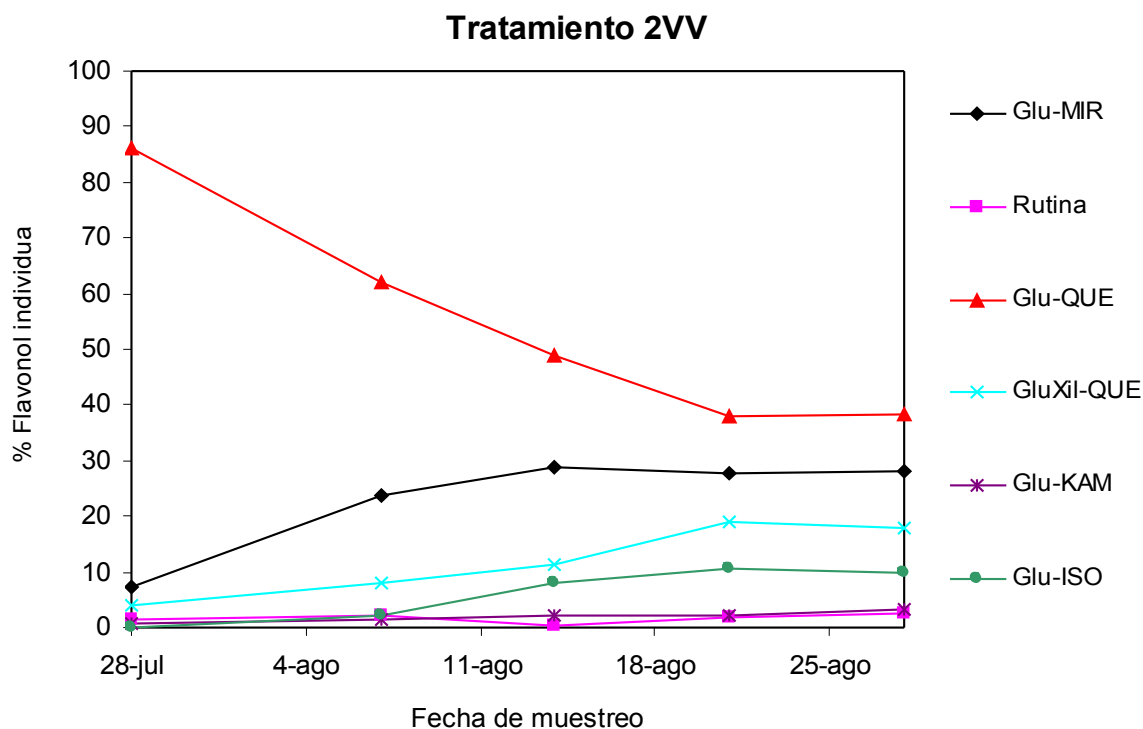
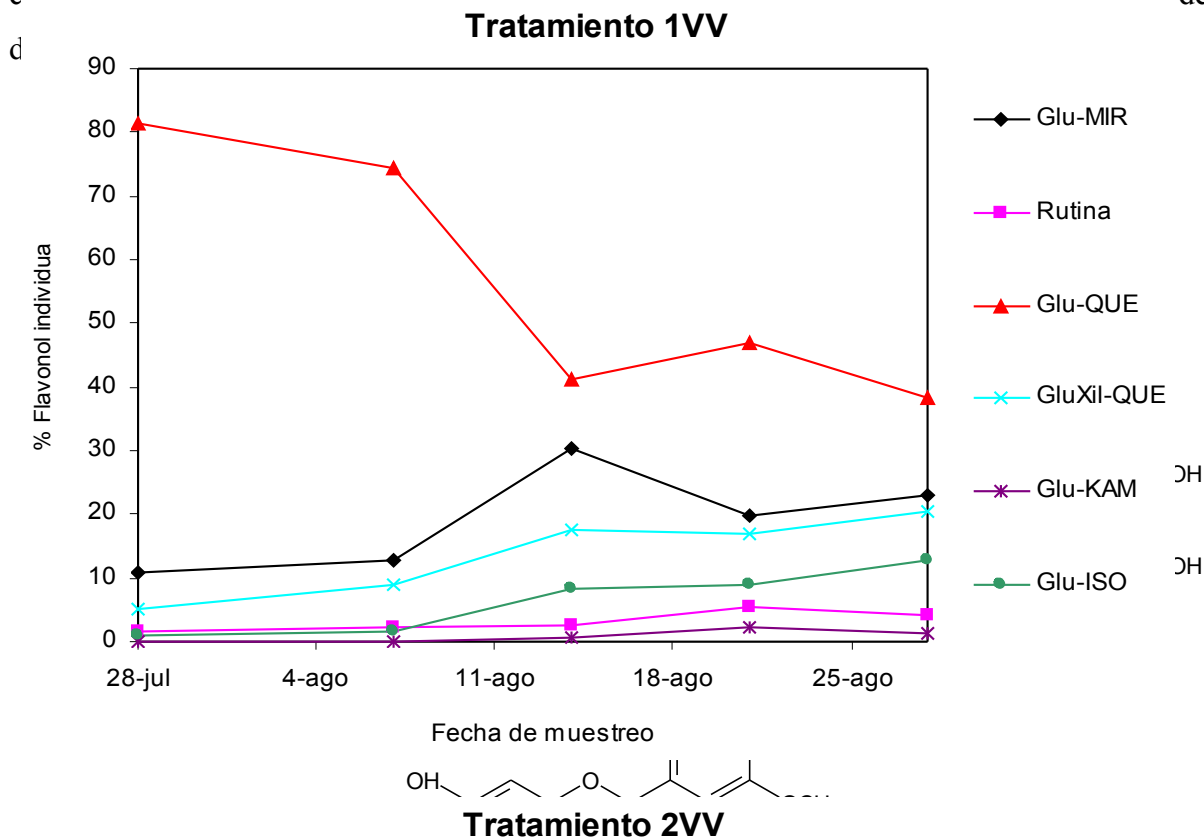
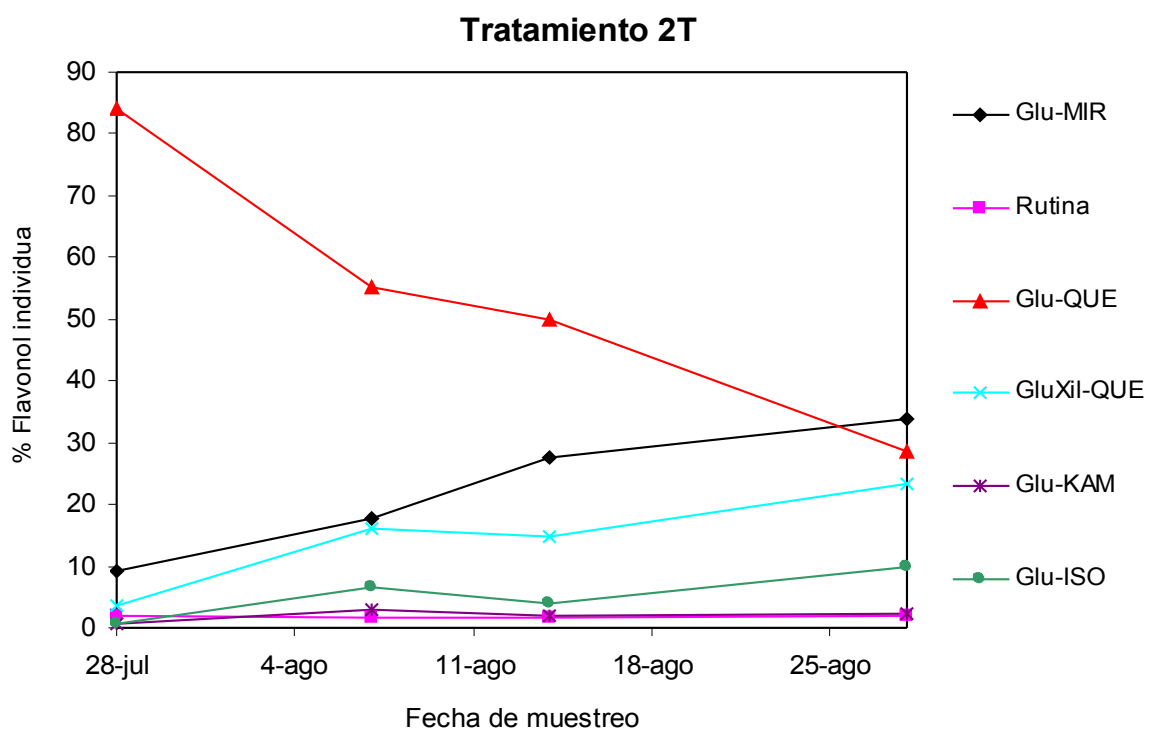
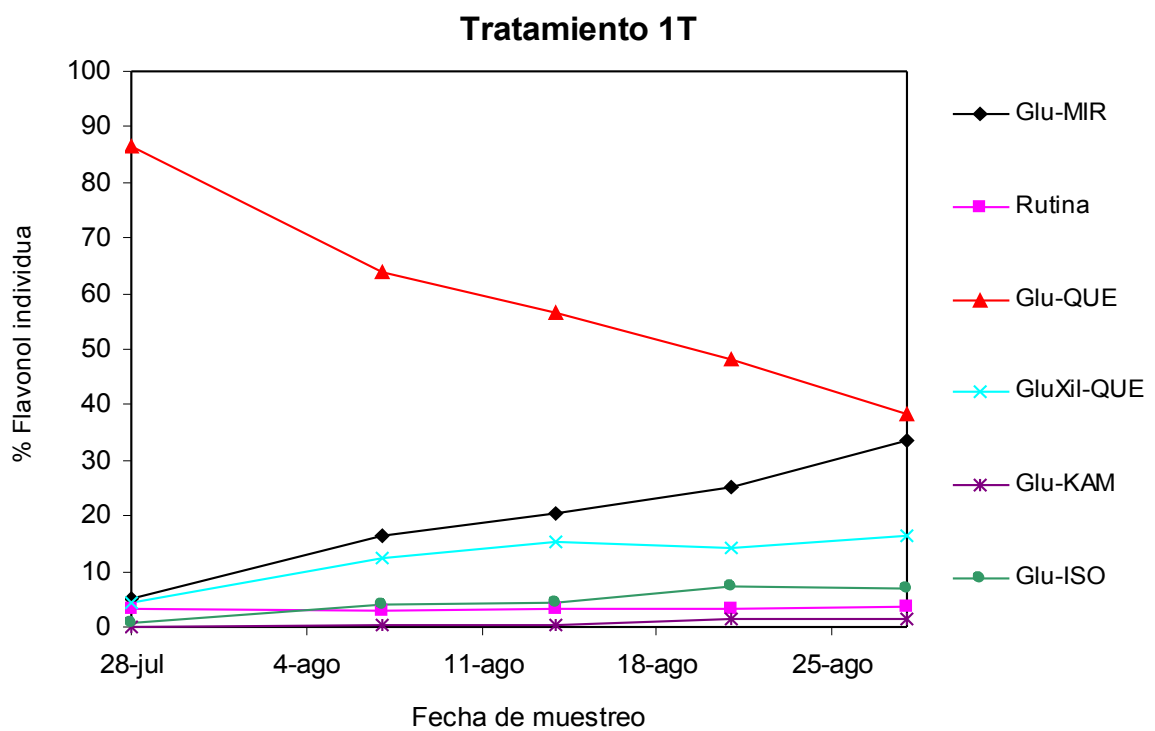


Figura 5.6. Evolución del contenido en flavonoles (determinados por HPLC) de las uvas Merlot estudiadas, según el nivel de carga (VV, vendimia en verde; T, testigo).

Al observar los datos de la evolución de cada flavonol individual durante la maduración, se puede deducir que el flavonol determinante en la ruta biosintética de éstos parece ser el 3-monoglucósido de quercetina: este flavonol tiene dos grupos hidroxilos en su

anillo B, y proviene de la hidroxilación del flavonol con un solo grupo hidroxilo, el 3-monoglucósido de kampfrol; la posterior hidroxilación o metilación del 3-monoglucósido de quercetina, conduce a los 3-monoglucósidos de miricetina y de isoramnetina, respectivamente (Figura 5.7). Las velocidades a las que ocurren estas reacciones de transformación de unos flavonoles en otros no tienen por qué ser iguales. Así, el 3-monoglucósido de kampfrol se encontró en todo momento en proporciones muy pequeñas, al hidroxilarse rápidamente, y el inicialmente predominante 3-monoglucósido de quercetina se fue transformando más lentamente en los otros dos citados, que fueron acumulándose por lo que sus proporciones crecieron (Figuras 5.8 y 5.9). También se observó un crecimiento de la proporción del





*Figura 5.9. Evolución de las proporciones de los flavonoles individuales encontrados en las uvas Merlot del conjunto de muestras testigo “1” y “2”. Designación de flavonoles: Glu, 3-monoglucósido; GluXil, 3-glucosilxilósido; MIR, miricetina; QUE, quercetina; KAM, kampferol; ISO, isoramnetina.*

El nivel de carga obtenido en cada tratamiento tuvo su reflejo en la velocidad de síntesis de los distintos flavonoles. Los tratamientos de vendimia en verde presentaron una mayor velocidad de transformación del 3-monoglucósido de quercetina respecto a la

velocidad de su formación a partir de su precursor durante las primeras semanas de maduración, mientras que en las últimas 1 o 2 semanas las proporciones prácticamente se estabilizaron (Figura 5.8). La razón de esta estabilización del perfil de flavonoles en los tratamientos en verde pareció ser diferente según las muestras estudiadas: en la 1VV debido a que la síntesis de flavonoles pareció inhibirse en las dos últimas semanas, ya que su concentración apenas varió en este tiempo (Figura 5.6); en la 2VV debido a una igualación de las velocidades de formación y de transformación del 3-monoglucósido de quercetina, ya que la síntesis de flavonoles continuó durante la última semana, en la que su concentración aumentó (Figura 5.6).

En cuanto a las muestras testigo, ambas tuvieron un comportamiento similar pero diferente a las de vendimia en verde, pues en ambos casos la proporción de 3-monoglucósido de quercetina siempre estuvo disminuyendo, a favor de los otros flavonoles en que se transforma (Figura 5.9). Estos resultados estarían en la misma línea que las observaciones anteriores relativas a polifenoles totales y antocianos, en cuanto a que la síntesis de compuestos fenólicos parece estar adelantada en los tratamientos en verde, de menor carga. En este caso, sólo es posible invocar una causa para la continua disminución de la proporción del 3-monoglucósido de quercetina en las muestras testigo: la velocidad de transformación del 3-monoglucósido de quercetina siempre fue superior a la de su formación, incluso en el caso de la muestra 2T, en la que prácticamente no hubo síntesis neta de flavonoles durante las últimas 2 semanas (Figura 5.6).

Los compuestos fenólicos de una determinada familia o tipo pueden ser utilizados como un criterio de diferenciación varietal para las uvas de *Vitis vinifera*, atendiendo a qué compuestos de ese tipo y en qué proporciones se encuentran (a esto se le denomina “perfil”). Uno de los tipos de compuestos fenólicos más utilizados para este fin con uvas tintas han sido los antocianos, como hemos hecho en el epígrafe anterior, y también es posible utilizar a los derivados de los ácidos hidroxicinámicos y a los flavonoles, pudiendo estos últimos ser empleados también con variedades de uvas blancas. En el caso de las uvas de la variedad Merlot que hemos estudiado, éstas presentaron el siguiente perfil de flavonoles, en el momento de su vendimia (valor medio $\pm$ desviación estándar del porcentaje molar de cada flavonol individual encontrado en la última muestra analizada para cada tratamiento): 3-



monoglucósido de miricetina,  $29.67 \pm 5.10$ ; rutina,  $3.08 \pm 0.89$ ; 3-monoglucósido de quercetina,  $35.87 \pm 4.85$ ; 3-glucosilxilósido de quercetina,  $19.43 \pm 3.09$ ; 3-monoglucósido de kampfrol,  $2.09 \pm 0.85$ ; 3-monoglucósido de isoramnetina,  $9.86 \pm 2.42$ .

Los valores de desviación estándar hallados para el perfil de flavonoles resultaron bastante altos, como cabría esperar por las diferencias observadas en la acumulación de estas sustancias durante la maduración y según el tratamiento aplicado, y que hemos comentado anteriormente. Por tanto, aunque se ha demostrado que el perfil de flavonoles es una característica varietal, al menos para otras variedades de uva (Andrade y col., 2001; Cantos y col., 2002; Martín González, 2003), parece que en nuestro estudio con uvas Merlot el perfil de flavonoles no ha resultado ser tan característico. La causa de esta falta de homogeneidad en los resultados quizá sea debida al escaso número de muestras de uvas Merlot maduras analizadas, sólo cuatro. No obstante, que sepamos, es la primera vez que se describe el perfil de flavonoles de la variedad Merlot, al menos el correspondiente a uvas de esta variedad cultivadas en clima cálido.

Por último, en relación con el contenido en flavonoles de las uvas Merlot estudiadas, está bien establecido que la síntesis de antocianos y de flavonoles en la uva es independiente (Price y col., 1995; Haselgrove y col., 2000), y cuando se analizan uvas de una misma variedad pero de distinta procedencia, o producidas con distintas técnicas de cultivo, no se encuentra ninguna correlación entre el contenido en antocianos y el de flavonoles (Martín González, 2003). En nuestro caso, se encontró que durante la maduración la relación entre el contenido en flavonoles y en antocianos fue exponencial, con muy buenos coeficientes de correlación (salvo para 2VV que fue algo menor), de tal forma que al aumentar el contenido en antocianos el de flavonoles lo hizo en mayor medida (Figura 5.10). Parece, pues, que la síntesis de flavonoles se acelera más que la de los antocianos a lo largo de la maduración.

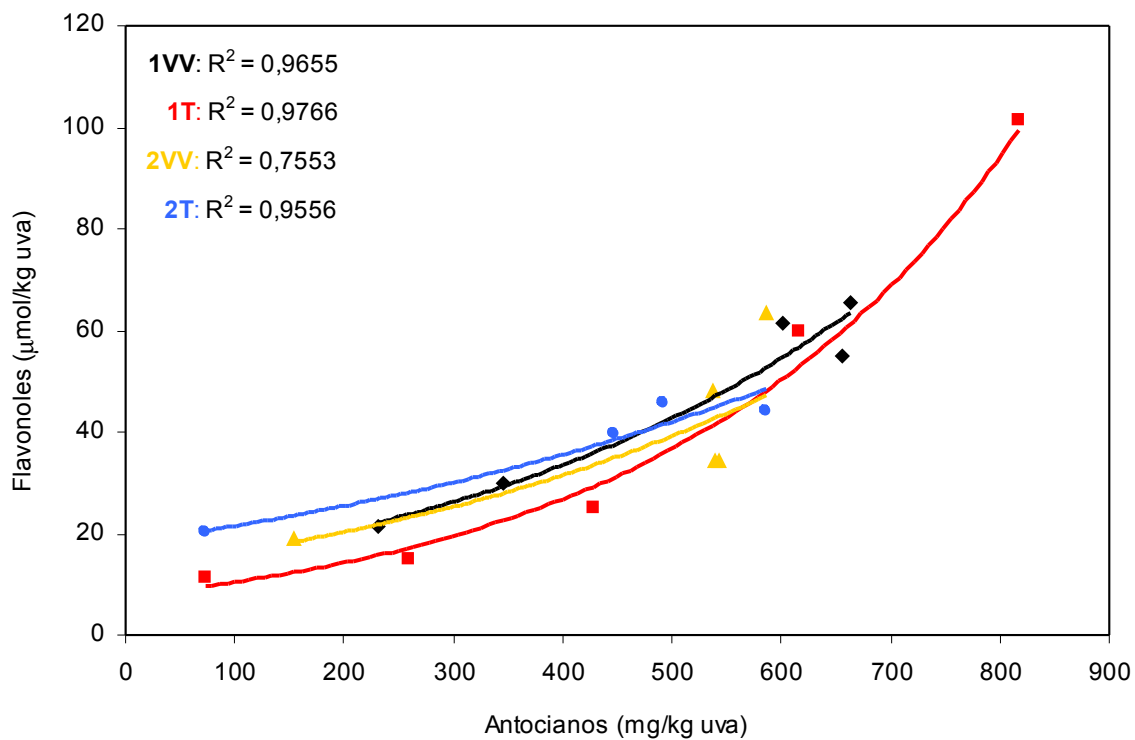


Figura 5.10. Evolución del contenido en flavonoles, en relación al de antocianos, durante la maduración de las uvas Merlot estudiadas, de las muestras "1" y "2", y de los tratamientos en verde (VV) y testigo (T).

#### 5.2.4. DERIVADOS DEL ÁCIDO HIDROXICINÁMICO

Este tipo de sustancias se encuentra en la uva exclusivamente bajo dos formas, esterificando al ácido tartárico (ácidos hidroxicinamoiltartáricos), y como derivados acilados de los antocianos (derivados *p*-cumarílicos y, en menor medida derivados cafeoilados, ambos también ésteres de estos ácidos hidroxicinámicos con el hidroxilo de la posición 6 de la molécula de glucosa de los antocianos). Los últimos ya se han considerado al hablar de los antocianos, por lo que a continuación nos referiremos sólo a los primeros (ácidos caftárico, cutárico y fertárico).

**Tabla 5.4. Concentraciones (mg/kg de uva) de los derivados del ácido hidroxicinámico en los hollejos de las uvas Merlot estudiadas.**

Muestras*		Ácido <i>t</i> -caftárico <sup>1</sup>	GRP <sup>1</sup>	Ácido cafeico	Ácido <i>t</i> -cutárico <sup>2</sup>	Ácido <i>p</i> -cumárico
1VV	28-jul	nd	1.82	0.27	0.21	0.12
	07-ago	nd	1.41	0.49	0.47	0.13
	14-ago	nd	1.48	0.28	0.14	0.26
	21-ago	nd	1.29	0.27	0.12	0.20
	28-ago	nd	1.20	0.29	0.15	0.20
2VV	28-jul	0.82	5.57	0.51	0.19	0.12
	07-ago	0.36	4.18	0.79	0.19	0.30
	14-ago	0.40	3.61	0.45	0.17	0.25
	21-ago	0.43	4.05	0.66	0.18	0.22
	28-ago	0.54	3.60	0.69	0.24	0.25
1T	28-jul	nd	1.20	0.09	0.21	0.02
	07-ago	nd	1.01	0.23	0.13	0.10
	14-ago	nd	1.32	0.30	0.11	0.20
	21-ago	nd	1.65	0.32	0.17	0.26
	28-ago	nd	2.08	0.54	0.19	0.27
2T	28-jul	0.72	3.09	0.56	0.19	0.08
	07-ago	0.30	2.30	0.75	0.22	0.39
	14-ago	0.41	3.29	0.76	0.18	0.22
	28-ago	0.28	2.28	0.70	0.18	0.27

\* Designación de muestras: 1 y 2, conjunto de cepas "1" y "2"; VV, cepas con tratamiento de vendimia en verde; T, cepas testigo. <sup>1</sup> Como ácido cafeico. <sup>2</sup> Como ácido *p*-cumárico.

Las cantidades encontradas de los ácidos hidroxicinamolitartráricos en los hollejos fueron muy pequeñas, ya que la principal fuente de estos compuestos en la uva normalmente es la pulpa (Tabla 5.4). Además, el método empleado en la extracción de estas sustancia a partir de los hollejos para su posterior análisis, suele introducir algunos artefactos debidos al

medio ácido empleado y a la aireación durante el batido de la muestra; es por ello que también se observó la presencia de ácidos hidroxicinámicos, liberados tras la hidrólisis de los correspondientes ácidos hidroxicinamoiltartáricos, y del denominado GRP o producto resultante de la oxidación del ácido caftárico y posterior reacción de la *o*-quinona resultante con el tripéptido glutatión. En algunos casos estos artefactos alcanzaron tal magnitud que no llegaron a observarse algunos de los ácidos hidroxicinamoiltartáricos (ácidos *c*-caftárico y *c*-cutárico en todas las muestras, y ácido *t*-caftárico en las muestras de 1VV y 1T). En ninguna de las muestras se observó la presencia del ácido fertárico o de su producto de hidrólisis, el ácido ferúlico.

Debido a las pequeñas cantidades detectadas de estos compuestos en los hollejos no fue posible encontrar un patrón claro de evolución de estas sustancias durante la maduración, incluso después de sumar todos los compuestos derivados de un mismo ácido hidroxicinámico (por ejemplo GRP, ácido cafeico y ácido *t*-caftárico). Las únicas tendencias que se observaron fueron que la muestra “1” sintetizó menor cantidad de estas sustancias en el hollejo, y que los derivados del ácido cafeico predominaron en todo momento sobre los del ácido *p*-cumárico.

#### **5.2.5. FLAVAN-3-OLES: MONÓMEROS, OLIGÓMEROS Y POLÍMEROS (TANINOS)**

Este tipo de sustancias se encuentra tanto en los hollejos como en las pepitas, siendo esta última su principal fuente. En todo caso, la tendencia que muestran los flavan-3-oles a formar enlaces interflavan hace que las cantidades de monómeros y de oligómeros sea pequeña, predominando los polímeros, también denominados taninos. Por ello, las cantidades encontradas de los monómeros más importantes, (+)-catequina y (-)-epicatequina, fueron sólo del orden de 1 mg/kg de uva, mientras que algunos de los oligómeros, como los dímeros denominados procianidina B1 y procianidina B3 se encontraron en cantidades de varios mg/kg de uva, y los taninos ya se encontraron en cantidades muy superiores, del orden de los miles de mg/kg de uva (Tabla 5.5). La (+)-catequina predominó sobre la (-)-epicatequina en todo momento y en todos los tratamientos, así como los dímeros (procianidinas tipo B) que incorporan a la (+)-catequina, la procianidina B1 (epicatequina-[4→6]-catequina) y la procianidina B3 (catequina-[4→6]-catequina).

La evolución encontrada del contenido en la (+)-catequina en los hollejos durante la maduración fue la de disminuir rápidamente en las primeras fases de ésta para prácticamente mantenerse constante en el resto del periodo de maduración, mientras que la cantidad de (-)-epicatequina permaneció prácticamente constante. Los tratamientos con mayor carga (1T y 2T) mostraron mayores contenidos en estos flavan-3-oles monómeros, prácticamente durante todas las fases de la maduración.

Los patrones de evolución mostrados por las procianidinas tipo B, durante la maduración, no mostraron una clara tendencia, pues no se encontró que se repitieran al comparar las muestras “1” y “2”, o que hubiera diferencias al comparar los tratamientos de menor carga (VV) con los de mayor carga (T). Como mucho, podríamos decir que la tendencia más generalizada fue la disminución de la cantidad de procianidina B1 y el aumento de la cantidad de procianidina B3, en cualquier grupo de muestras o de tratamiento.



Los taninos de los hollejos, de gran importancia para las sensaciones en boca de cuerpo y de astringencia de los vinos y en la estabilización de los antocianos por formación de pigmentos poliméricos, tendieron a disminuir ligeramente durante la maduración, aunque en algunas muestras hubo una cierta recuperación al final de la maduración (1T y 2VV). Es conocido que al avanzar la maduración de la uva, los taninos de los hollejos aumentan su grado de polimerización, y eso conlleva una pérdida de reactividad hacia las proteínas, o lo que es lo mismo, una pérdida de la sensación astringente que provocan (Glories y Saucier, 2000). Los resultados obtenidos confirmaron este tipo de evolución, ya que se observó una disminución de la Intensidad de Astringencia (una medida de los taninos que son reactivos hacia las proteínas), salvo una recuperación al final de la maduración para las mismas muestras que mostraron una recuperación de la cantidad de taninos (1T y 2VV). Respecto a la Intensidad de Astringencia, y este resultado puede tener una gran relevancia sensorial, se encontró que los tratamientos de mayor carga (los testigos) tuvieron mayor cantidad de taninos astringentes (mayor Intensidad de Astringencia) que sus respectivos tratamientos de menor carga, sobre todo en la muestra “1”.

### 5.3. EVOLUCIÓN, Y DIFERENCIAS ENTRE TRATAMIENTOS, DE LOS TANINOS DE LAS PEPITAS

En los vinos tintos, la mayor parte de los taninos normalmente procede de las pepitas, a no ser que se lleve a cabo una maceración muy corta, en la que se eliminarían los orujos cuando el contenido en alcohol del mosto-vino en fermentación fuera aún bajo. Es un hecho bien conocido que la extracción de taninos de las pepitas comienza tarde, pues es necesario que haya suficiente alcohol en el medio para disolver la capa cérica que recubre a las pepitas. Por tanto, parece lógico que en un estudio encaminado a evaluar la calidad de la uva con la que piensan elaborarse vinos susceptibles de crianza, por tanto sometidos a maceraciones que suelen durar como mínimo hasta el final de la fermentación alcohólica, también se siga la evolución de los taninos de las pepitas durante la maduración de las uvas.

Desde un punto de vista cualitativo se observó cómo las pepitas de las uvas de todas las muestras analizadas fueron sufriendo los siguientes cambios: el color fue oscureciéndose desde una tonalidad ocre clara, con algunas tonalidades verdosas, hasta un color marrón oscuro (Figura 5.1); inicialmente las pepitas eran algo blandas, y fueron endureciéndose con el tiempo. Estos cambios son consecuencia de un aumento del grado de lignificación de las semillas durante la maduración.

Otro cambio que suele atribuirse durante la maduración de las semillas es el aumento del grado de polimerización de los taninos que contienen, sin que el contenido en taninos varíe apreciablemente. El aumento del grado de polimerización de los taninos conlleva una disminución de la reactividad de éstos hacia las proteínas, y por ende, una disminución de su carácter astringente, muy interesante desde el punto de vista organoléptico.

Así, cuando se analizó el contenido en taninos de las pepitas durante la maduración de las uvas Merlot estudiadas, se apreció (Tabla 5.6) que en general, el contenido en taninos disminuyó durante la maduración, aunque esta disminución fue más acusada en el caso de la muestra “2”; en esta muestra la cantidad inicial fue superior y la disminución fue continuada, mientras que en la muestra “1” se observó que la disminución ocurrió fundamentalmente al final del periodo de maduración.



**28-julio**



**7-agosto**



**14-agosto**



**21-agosto**



**28-agosto**



*Figura 5.11. Aspecto de las pepitas de la muestra 1VV en distintas fases de su maduración.*

**Tabla 5.6. Contenido (mg/kg de uva) en taninos e intensidad de astringencia (contenido en taninos “astringentes”), e índice de gelatina (% de los taninos que son “astringentes) en las pepitas de las uvas Merlot estudiadas.**

Muestra*		Taninos	Intensidad de Astringencia	Índice de Gelatina
1VV	28-jul	2208	1103	49.9
	07-ago	2402	1269	52.8
	14-ago	2380	530	22.3
	21-ago	2421	397	16.4
	28-ago	2001	300	15.0
1T	28-jul	1822	1168	64.1
	07-ago	2226	1651	74.2
	14-ago	2215	1534	69.3
	21-ago	2055	1308	63.7
	28-ago	1650	1036	62.8
2VV	28-jul	2573	385	15.0
	07-ago	2349	446	19.0
	14-ago	2208	278	12.6
	21-ago	2045	205	10.0
	28-ago	1484	154	10.4
2T	28-jul	2916	2049	70.2
	07-ago	2747	1958	71.3
	14-ago	2372	1464	61.7
	21-ago	2324	1389	59.7
	28-ago	2120	1270	59.9

\* Designación de muestras: 1 y 2, conjunto de cepas “1” y “2”; VV, cepas con tratamiento de vendimia en verde; T, cepas testigo.

Las cantidades obtenidas para los taninos de las pepitas deberían ser superiores a las encontradas en los hollejos (Tabla 5.5), pero en general fueron inferiores. La razón de esta aparente incongruencia reside en que los métodos de extracción de los taninos han sido distintos según se tratara de los hollejos o de las pepitas, aunque el disolvente extractor fue el mismo en ambos casos: mientras los hollejos se trituraron finamente para poder recuperar la mayor parte posible de compuestos fenólicos de diversa naturaleza, en el caso de las pepitas se empleó una extracción de las pepitas sin triturar. Tras consultar la bibliografía, vimos que para la extracción de taninos de las pepitas se han utilizado tanto métodos que trituraban éstas como otros que las maceraban enteras; la principal desventaja de la trituración de las pepitas es que se extrae mucho material no fenólico que puede suponer un artefacto en las

determinaciones posteriores, por lo que elegimos un método de extracción de las pepitas enteras, pero que está limitado en cuanto al porcentaje de compuestos fenólicos que extrae, aunque se parece más a las condiciones empleadas en las vinificaciones reales.

Respecto al carácter astringente de los taninos de las pepitas, éste se evaluó con los parámetros “Intensidad de Astringencia” (cantidad de taninos que son “astringentes”) e “Índice de Gelatina” (proporción de taninos que son “astringentes”). Como puede observarse en la Tabla 5.11, la Intensidad de Astringencia de los taninos de las pepitas fue disminuyendo conforme avanzaba la maduración de las uvas, tras un ligero repunte en las primeras fases de ésta, alcanzándose valores mucho más bajos en los tratamientos de menor carga, los de vendimia en verde. En cuanto a los valores del Índice de Gelatina, éstos cayeron en el caso de los tratamientos de menor carga a niveles muy bajos, que corresponderían a taninos que podrían denominarse “suaves”, mientras que los niveles alcanzados por los tratamientos de mayor carga se quedaron en valores mucho más altos, correspondiendo a taninos que podrían denominarse “duros”, por tanto no deseables.

## 5.4. CARACTERÍSTICAS DE LOS VINOS ELABORADOS CON LAS UVAS DE LOS DISTINTOS TRATAMIENTOS

### 5.4.1. ANÁLISIS CONVENCIONALES

Las vinificaciones que se realizaron con las uvas Merlot de los distintos tratamientos, transcurrieron sin ningún problema. Los azúcares fermentables fueron agotados por las levaduras, tal como reflejan los datos correspondientes al grado alcohólico, a la densidad relativa de los vinos, y a la cantidad de azúcares reductores residuales, inferior al límite legal de 5 g/l (Tabla 5.7). La fermentación maloláctica que se indujo, provocó el lógico aumento en el valor del pH de los vinos, en torno a 0.2 unidades, y el resto de parámetros determinados confirmaron la normalidad con que estos vinos fueron elaborados. Los vinos quedaron con una acidez total algo superior a la de los mostos de partida, pero hay que recordar que se hizo una corrección de acidez al inicio de la fermentación alcohólica para asegurar que el pH del mosto estuviera en torno a 3.6, y así asegurar una vinificación exenta de riesgos. Como puede verse, los distintos tratamientos no introdujeron apenas cambios en los valores de los parámetros convencionales de los vinos, a excepción del grado alcohólico, resultado de las diferencias encontradas en el contenido de azúcares de los distintos tratamientos (Tabla 5.1).

**Tabla 5.7. Análisis convencionales realizados a los vinos elaborados con uvas Merlot de los distintos tratamientos\*, tras finalizar la fermentación maloláctica.**

<b>Análisis Convencionales</b>	<b>1VV</b>	<b>1T</b>	<b>2VV</b>	<b>2T</b>
<b>% Alcohol (V/V)</b>	14.00	13.45	14.05	13.65
<b>Densidad relativa (20/20)</b>	990.7	991.0	991.2	990.5
<b>Azúcares Reductores (g/l)</b>	3.0	1.9	2.7	2.1
<b>pH (tras Fermentación Alcohólica)</b>	3.83	3.90	3.79	3.71
<b>pH (tras Fermentación Maloláctica)</b>	4.00	4.13	3.99	3.94
<b>Acidez Total (g/l, como ácido tartárico)</b>	4.54	4.11	4.61	4.82
<b>Acidez Volátil (g/l, como ácido acético)</b>	0.39	0.42	0.45	0.43
<b>SO<sub>2</sub> Libre (mg/l)</b>	8	9	15	23
<b>SO<sub>2</sub> Total (mg/l)</b>	14	20	29	39

\* Designación de los vinos: 1 y 2, elaborados con uvas de las muestras "1" y "2"; VV, elaborados con uvas de las cepas con tratamiento de vendimia en verde; T, elaborados con uvas de las cepas testigo.

### 5.4.2. COMPOSICIÓN FENÓLICA GLOBAL

A diferencia de lo encontrado en la comparación de la composición fenólica de los hollejos (ver epígrafe 5.2), en la que en general no se encontraron apenas diferencias entre los tratamientos de distinto nivel de carga, los vinos que se elaboraron con las uvas de cada tratamiento sí mostraron diferencias más apreciables (Tabla 5.8)

**Tabla 5.8. Composición fenólica global de los vinos elaborados con uvas Merlot de los distintos tratamientos\*.**

		1VV		1T		2VV		2T	
		VM	DE	VM	DE	VM	DE	VM	DE
<b>Polifenoles Totales (mg/l)<sup>1</sup></b>	<b>FA<sup>6</sup></b>	1155 <sup>a</sup>	43	914 <sup>b</sup>	35	1086	46	1160	71
	<b>FML<sup>7</sup></b>	1184 <sup>a</sup>	34	994 <sup>b</sup>	2	1125 <sup>a</sup>	6	1051 <sup>b</sup>	19
<b>Antocianos Totales (mg/l)<sup>2</sup></b>	<b>FA<sup>6</sup></b>	473 <sup>a</sup>	23	363 <sup>b</sup>	10	483	19	503	40
	<b>FML<sup>7</sup></b>	445 <sup>a</sup>	13	358 <sup>b</sup>	1	481 <sup>a</sup>	1	452 <sup>b</sup>	20
<b>Antocianos monómeros<sup>3</sup></b>	<b>FA<sup>6</sup></b>	198,6	7,2	196,6	30,2	239,6	7,0	212,3	27,2
	<b>FML<sup>7</sup></b>	132,3	7,0	145,4	38,9	168,5	5,7	179,3	35,8
<b>% Antocianos no monómeros<sup>4</sup></b>	<b>FA<sup>6</sup></b>	58,0	1,5	45,8	8,3	50,4	1,5	57,8	5,4
	<b>FML<sup>7</sup></b>	70,3	1,6	59,4	10,9	65,0	1,2	60,3	7,9
<b>Flavonoles<sup>5</sup></b>	<b>FA<sup>6</sup></b>	40,0 <sup>a</sup>	2,8	16,5 <sup>b</sup>	0,8	25,6 <sup>a</sup>	4,3	17,1 <sup>b</sup>	1,7
	<b>FML<sup>7</sup></b>	36,1 <sup>a</sup>	4,3	15,7 <sup>b</sup>	0,5	24,9 <sup>a</sup>	1,5	19,4 <sup>b</sup>	2,6
<b>Taninos (g/l)</b>	<b>FA<sup>6</sup></b>	1.66	0.08	1.52	0.04	1.75 <sup>a</sup>	0.04	1.42 <sup>b</sup>	0.15
	<b>FML<sup>7</sup></b>	1.30	0.10	1.32	0.16	1.29	0.08	1.29	0.38
<b>Intensidad de Astringencia (g/l)</b>	<b>FA<sup>6</sup></b>	0.77	0.07	0.77	0.01	0.90	0.05	0.81	0.38
	<b>FML<sup>7</sup></b>	0.88 <sup>a</sup>	0.07	0.52 <sup>b</sup>	0.12	0.99 <sup>a</sup>	0.07	0.51 <sup>b</sup>	0.12
<b>Índice de gelatina (%)</b>	<b>FA<sup>6</sup></b>	46.3 <sup>a</sup>	1.7	51.1 <sup>b</sup>	0.8	51.5	4.1	56.2	2.7
	<b>FML<sup>7</sup></b>	67.7 <sup>a</sup>	0.4	39.4 <sup>b</sup>	4.4	76.3 <sup>a</sup>	0.8	40.1 <sup>b</sup>	2.1

\* Designación de los vinos: 1 y 2, elaborados con uvas de las muestras “1” y “2”; VV, elaborados con uvas de las cepas con tratamiento de vendimia en verde; T, elaborados con uvas de las cepas testigo. <sup>1</sup> Como ácido gálico. <sup>2</sup> Determinados espectrofotométricamente, como 3-monoglucósido de malvidina. <sup>3</sup> Suma de los antocianos monómeros determinados por HPLC, como 3-monoglucósido de malvidina. <sup>4</sup> Deducido a partir de los antocianos monómeros y de los antocianos totales. <sup>5</sup> Suma de todos los flavonoles individuales. <sup>6</sup> FA = tras la fermentación alcohólica. <sup>7</sup> FML = tras la fermentación maloláctica. <sup>a, b</sup> Distintos superíndices en una misma fila, para los vinos de un mismo conjunto de muestras (“1” o “2”), indican diferencias significativas según el test de la “t” de Student ( $\alpha = 0.05$ ).

Las **cantidades totales de polifenoles y de antocianos** fueron mayores en los vinos de las uvas de los tratamientos de menor carga (vendimia en verde), salvo en el caso de los elaborados con el conjunto de muestras de uvas “2” tras la fermentación alcohólica (quizás no se ha encontrado el mismo resultado que en los otros vinos debido a los altos valores de desviación estándar que presentaron las determinaciones correspondientes a estos vinos). Las mayores diferencias se encontraron en los vinos de la muestra “1”, que tuvieron un 26% más de polifenoles totales y un 30% más de antocianos totales, recién acabada la fermentación alcohólica, mientras que después de la fermentación maloláctica los porcentajes bajaron ligeramente, a un 19% y a un 24%, respectivamente. Además, el contenido en flavonoles fue muy superior en los vinos de uvas de los tratamientos de menor carga, sobre todo en los de la muestra “1”, con un 142% más tras la fermentación alcohólica, que disminuyó ligeramente al 130% tras la fermentación maloláctica; en el caso de la muestra “2”, el tratamiento de menor carga tuvo un 50% más de flavonoles tras la fermentación alcohólica, que bajó al 28% tras la fermentación maloláctica.

Estos resultados parecen estar en contradicción con los obtenidos a partir del análisis de los hollejos, pero pueden explicarse en base al concepto de madurez fenólica: aunque las uvas de ambos tratamientos apenas se diferenciaron en el contenido total de antocianos, éstos resultaron ser menos extraíbles en los casos de mayor carga (testigos), pues la madurez fenólica en ellos estaba más retrasada, como se ha dicho. Por tanto, a partir de uvas con similar contenido en antocianos, los vinos resultantes tuvieron mayor concentración de éstos cuando se elaboraron a partir de uvas de viñas vendimiadas en verde, con menor carga.

Un dato que apoyaría esta suposición sería la comparación de los porcentajes de transferencia de los antocianos desde las uvas hasta los vinos, que se pueden calcular comparando el potencial de antocianos que había en las uvas. Para ello, los mg/kg de las muestras del último día (por ejemplo, 610 mg/kg de uva para la muestra 1VV) se dividen por 0.7, ya que a partir de 1 kg de uva se obtiene aproximadamente 0.7 l de vino, obteniéndose así la concentración potencial de antocianos de las uvas en mg/l (871 mg/l para la muestra 1VV). Al comparar el contenido en antocianos totales de los vinos (473 mg/l en el vino de la muestra 1VV), con su potencial en uvas (871 mg/l), resulta el porcentaje de transferencia (el 54.3% en el vino de la muestra 1VV); para la muestra 1T el porcentaje de transferencia fue menor, del

33.6%, mientras que los tratamientos 2VV y 2T no mostraron diferencias (50.9% y 51.5%, respectivamente).

A esto podemos añadir que, aunque sólo las uvas del tratamiento 2VV tenían más **flavonoles** que las del 2T, la mayor extracción de antocianos observada en los vinos 1VV y 2VV conllevó en ambos casos una mayor concentración de flavonoles en los vinos, quizá como resultado de ser “arrastrados” por los antocianos que fueron extraídos durante la vinificación, y que formarían con ellos complejos de copigmentación muy estables. En todo caso, las cantidades de flavonoles encontradas en estos vinos Merlot (no superior a 25 mg/l, salvo para 1VV) fueron en general pequeñas, pues en los vinos tintos las cantidades oscilan 10-80 mg/l, pudiendo llegar a alcanzar los 100 mg/l (Flanzy, 2000).

Respecto a los **taninos**, habíamos visto que los tratamientos de menor carga proporcionaban uvas con menor cantidad de taninos astringentes (menor valor de la Intensidad de Astringencia), tanto en los hollejos (ver epígrafe 5.2.5) como en las pepitas (ver epígrafe 5.3). En los vinos elaborados con estas uvas no se notaron diferencias en el contenido en taninos entre tratamientos (Tabla 5.8), aunque los de menor carga (VV) presentaron valores ligeramente superiores tras la fermentación alcohólica (la diferencia sólo fue significativa en la muestra “2”). La **Intensidad de Astringencia** de estos taninos también fue igual para los dos tratamientos, y los valores de **Índice de Gelatina** se correspondieron con el margen deseable (40%-60%), en los vinos tras la fermentación alcohólica. No obstante, tras la fermentación maloláctica se produjo una ligera subida de la Intensidad de Astringencia para los vinos de los tratamientos de menor carga (1VV y 2VV, sin llegar a superar 1 g/l), mientras que en los de mayor carga (1T y 2T) se produjo una ligera disminución; esto hizo que los tratamientos fueran diferenciables en este momento, y que los valores de Índice de Gelatina superaran ligeramente el margen deseable en los vinos 1VV y 2VV, mientras que en los vinos 1T y 2T se colocaran en el límite inferior de este margen. Hay que recordar que valores del Índice de Gelatina por encima del 60% sólo están indicando que los taninos presentes son muy reactivos hacia las proteínas, y que podrían ser responsables de sensaciones de “dureza” e incluso de “astringencia”, mientras que valores por debajo del 40% indicarían una falta de cuerpo y podrían ser causa de sensaciones de “blandura” y “amargor” (Ribéreau-Gayon y col, 2000).

### 5.4.3. COMPOSICIÓN EN COMPUESTOS FENÓLICOS INDIVIDUALES

Las cantidades de **antocianos monómeros** de los vinos no mostraron diferencias según los distintos tratamientos, y fueron bastante inferiores a las cantidades de antocianos totales (Tabla 5.8). Esto último evidencia que, desde el mismo momento en que son transferidos al mosto-vino en fermentación, los antocianos monómeros (decolorables por el bisulfito) comienzan a transformarse en otros tipos de pigmentos más estables: de tipo polimérico por reacción con taninos, fundamentalmente, muchos de los cuales no son ya decolorables por el bisulfito (uniones antociano-tanino), aunque algunos aún lo continúan siendo (uniones tanino-antociano); y de tipo no polimérico, como los recientemente denominados piranoantocianos, todos ellos no decolorables por el bisulfito (Fulcrand y col., 1996 y 1998; Hayasaka y Asenstorfer, 2002; Mateus y col., 2003; Schwarz y col., 2003a y 2003b). Esta conversión continúa en el tiempo, como se demuestra por los menores contenidos en antocianos monómeros tras la fermentación maloláctica, en comparación con los que había tras la alcohólica.

**Tabla 5.9. Perfil de antocianos monómeros (porcentaje de cada antociano monómero individual, respecto del total de antocianos monómeros separados por HPLC) de los vinos elaborados con las uvas Merlot estudiadas (valor medio y desviación estándar correspondientes a todos los tratamientos).**

<i>3-Monoglucósido de</i>	<i>Derivado no acilado</i>	<i>Derivado acetilado</i>	<i>Derivado cumarílico</i>	<i>Derivado cafeoilado</i>
Delfinidina	1.73± 0.38	0.57 ± 0.19	0.53 ± 0.40	n.d.
Cianidina	0.25 ± 0.20	0.90 ± 0.09	0.24 ± 0.09	n.d.
Petunidina	3.65± 0.49	1.64 ± 0.42	0.62 ± 0.19	n.d.
Peonidina	1.65 ± 0.43	1.86 ± 0.17	0.80 ± 0.13	n.d.
Malvidina	54.40 ± 1.34	23.79 ± 1.14	6.66 ± 0.69	0.71± 0.19

n.d. = no detectado

Al igual que lo encontrado en los hollejos (Tabla 5.3), no se encontraron diferencias en los perfiles de antocianos monómeros que mostraron los vinos elaborados con uvas de los dos distintos tratamientos (Tabla 5.9), aunque sí se encontraron diferencias entre el perfil de las uvas y el de los vinos, en el mismo sentido que el puesto de manifiesto por otros autores (Revilla y col., 2001; García-Beneytez y col., 2002; Martín García, 2002; Sáez Martínez,



2002; Martín González, 2002; Hermosín Gutiérrez y García-Romero, 2004): aumentó la proporción del 3-monoglucósido de malvidina, el antociano más estable, a costa de los otros antocianos no acilados y, sobre todo, del conjunto de derivados cumarílicos de los antocianos, menos solubles en la disolución hidroalcohólica que es un vino.

No hubo diferencias apreciables entre los perfiles de **flavonoles** de los vinos elaborados con uvas de distintos tratamientos, y tampoco al comparar los vinos tras la fermentación alcohólica y tras la fermentación maloláctica. La principal diferencia que se encontró al comparar los perfiles de flavonoles de los vinos con el de las uvas empleadas para elaborarlos, fue que en los vinos se detectaron todas las flavonoles agliconas junto con sus correspondientes flavonoles glicósidos, cuando estos últimos fueron la única forma en que se detectaron en los hollejos de las uvas (Tabla 5.10). Este resultado verifica que los flavonoles estuvieron sometidos a un proceso de hidrólisis durante el proceso de vinificación, probablemente por vía enzimática a través de las levaduras.

**Tabla 5.10. Perfil de flavonoles (porcentaje molar de cada flavonol individual, respecto del total de flavonoles separados por HPLC) de los vinos y de los hollejos de las uvas Merlot estudiadas (valor medio y desviación estándar correspondientes al conjunto de todos los tratamientos).**

<b>HOLLEJOS</b>	<b>Miricetina</b>	<b>Quercetina</b>	<b>Kampferol</b>	<b>Isoramnetina</b>
<b>3-Glucósido</b>	29.67±5.10	35.87±4.85	2.09±0.85	9.86±2.42
<b>3-Ramnosilglucósido</b>		3.08±0.89		
<b>3-Glucosilxilósido</b>		19.43±3.09		
<b>Aglicona</b>	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
<b>Total</b>	<b>29.67±5.10</b>	<b>58.38±3.56</b>	<b>2.09±0.85</b>	<b>9.86<sup>a</sup>±2.42</b>
<b>VINOS</b>	<b>Miricetina</b>	<b>Quercetina</b>	<b>Kampferol</b>	<b>Isoramnetina</b>
<b>3-Glucósido</b>	24.82±3.62	18.40±4.97	1.24±0.49	14.65±1.36
<b>3-Ramnosilglucósido</b>		1.59±0.44		
<b>3-Glucosilxilósido</b>		17.60±1.68		
<b>Aglicona</b>	2.69±0.88	16.82±1.84	0.65±0.16	1.54±0.43
<b>Total</b>	<b>27.51±3.34</b>	<b>54.41±3.73</b>	<b>1.89±0.57</b>	<b>16.19<sup>b</sup>±1.54</b>

<sup>a, b</sup> Distintos superíndices en los valores “totales” de una misma columna, indican diferencias significativas según el test de la “t” de student ( $\alpha = 0.05$ ); n.d. = no detectado.

Debido a esta hidrólisis, los perfiles de flavonoles de los vinos evidentemente fueron distintos a los mostrados por los hollejos de las uvas con que se elaboraron. No obstante,

sumando las proporciones de todos los flavonoles que comparten una misma aglicona (valores “totales” de la Tabla 5.10), no se observaron apenas diferencias significativas entre los hollejos y los vinos, salvo un ligero aumento de la proporción de derivados de la isoramnetina en los vinos. Esta variación podría ser consecuencia de la mayor vulnerabilidad de los derivados de la miricetina y de la quercetina frente a la oxidación, al poseer 3 y 2 grupos hidroxilos adyacentes, respectivamente, frente a los derivados del kampferol (1 sólo grupo hidroxilo) y de la isoramnetina (1 grupo hidroxilo adyacente a 1 grupo metoxilo). De hecho, las proporciones de los derivados de la miricetina y de la quercetina disminuyeron en los vinos, aunque no de forma significativa.

Las cantidades de **derivados de los ácidos hidroxicinámicos** encontradas en los vinos (Tabla 5.11) fueron mucho mayores que las halladas en los hollejos de las uvas con que se elaboraron (Tabla 5.4), verificando que la mayor fuente de estas sustancias en las uvas de la variedad Merlot fue la pulpa, contribuyendo el hollejo de forma muy minoritaria. Como suele encontrarse en todas las variedades de *Vitis vinifera*, los derivados mayoritarios en los vinos Merlot fueron los del ácido cafeico, y no se detectaron derivados del ácido ferúlico.

El propio ácido cafeico ya se detectó en los vinos tras la fermentación alcohólica, como consecuencia de la hidrólisis de su éster tartárico, el ácido caftárico también presente en los vinos, que es la forma en que únicamente se encuentra en la uva. El ácido caftárico en los vinos Merlot sólo se detectó como isómero *trans*. Tras la fermentación maloláctica, la concentración del ácido *t*-caftárico disminuyó considerablemente, a la par que la del ácido cafeico aumentó. Las cantidades de derivados del ácido cafeico fueron superiores en los tratamientos de menor carga (vendimia en verde), aunque sólo de forma significativa en la muestra “1”. El producto de oxidación del ácido *t*-caftárico y posterior unión al tripéptido glutatión, denominado GRP, se encontró en pequeña cantidad tras la fermentación alcohólica, constatando que la elaboración de los vinos fue cuidadosa en relación a la prevención de la oxidación, si bien aumentó un poco tras la fermentación maloláctica (esta fermentación, aunque genera anhídrido carbónico, es más lenta y ofrece menor abrigo a la entrada de oxígeno en el envase de fermentación).

Los derivados del ácido *p*-cumárico se encontraron en menor cantidad que los del ácido cafeico en los vinos, con un contenido sólo ligeramente superior en los tratamientos de mayor

carga (testigos). El propio ácido *p*-cumárico ya se observó tras la fermentación alcohólica, como consecuencia de la hidrólisis del ácido cutárico, cuyos isómeros *cis* y *trans* fueron ambos detectados, siendo mayoritario el *trans*. Tras la fermentación maloláctica el ácido cutárico prácticamente se hidrolizó al completo, aumentando la cantidad de ácido *p*-cumárico.

**Tabla 5.11. Concentraciones de compuestos fenólicos individuales (mg/l) de los vinos elaborados con uvas Merlot de los distintos tratamientos\*.**

		1VV		1T		2VV		2T	
		VM	DE	VM	DE	VM	DE	VM	DE
Ácido t-caftárico <sup>1</sup>	FA	27,0 <sup>a</sup>	0,6	37,1 <sup>b</sup>	0,0	34,2	0,7	36,6	6,2
	FML	n.d.		n.d.		9,5 <sup>a</sup>	0,0	0,9 <sup>b</sup>	1,3
GRP <sup>1</sup>	FA	3,3	0,1	3,1	0,5	2,7	0,0	3,4	0,6
	FML	5,2 <sup>a</sup>	0,0	4,5 <sup>b</sup>	0,2	3,7 <sup>a</sup>	0,1	6,1 <sup>b</sup>	0,1
Ácido Cafeico	FA	9,9	0,7	10,2	0,2	9,4	0,7	9,7	0,9
	FML	30,7 <sup>a</sup>	0,7	40,4 <sup>b</sup>	1,2	33,5	0,3	40,9	5,2
Ácido c-cutárico <sup>2</sup>	FA	1,3	0,1	1,3	0,2	1,3	0,1	1,3	0,1
	FML	n.d.		n.d.		0,4	0,0	n.d.	
Ácido t-cutárico <sup>2</sup>	FA	6,6 <sup>a</sup>	0,1	7,6 <sup>b</sup>	0,2	8,2	0,0	7,8	1,1
	FML	n.d.		n.d.		3,2	0,1	n.d.	
Ácido <i>p</i> -cumárico	FA	0,7 <sup>a</sup>	0,0	1,7 <sup>b</sup>	0,0	0,8 <sup>a</sup>	0,0	0,9 <sup>b</sup>	0,0
	FML	5,2 <sup>a</sup>	0,7	8,2 <sup>b</sup>	0,0	5,6	0,0	6,8	0,6
(+) -Catequina	FA	65,0	0,4	51,5	9,2	56,0	0,3	49,7	6,5
	FML	60,0	1,4	57,0	2,8	60,0	1,3	54,5	4,9
(-) -Epicatequina	FA	49,0	0,3	48,0	7,1	51,0	0,4	45,7	2,9
	FML	52,0	1,4	53,5	4,9	62,0	2,1	54,0	4,2
Procianidina B1	FA	20,2	0,3	17,5	2,2	20,1	0,3	17,8	1,8
	FML	20,0	0,3	18,3	2,2	21,5	0,4	20,1	2,1
Procianidina B2	FA	39,3 <sup>a</sup>	0,6	27,9 <sup>b</sup>	0,1	31,4	0,3	26,7	2,9
	FML	44,1 <sup>a</sup>	0,4	30,1 <sup>b</sup>	1,8	34,6	0,4	29,5	3,1
Procianidina B3 <sup>3</sup>	FA	42,4 <sup>a</sup>	0,6	46,5 <sup>b</sup>	0,6	47,8 <sup>a</sup>	0,6	49,7 <sup>b</sup>	0,7
	FML	42,0 <sup>a</sup>	0,4	46,8 <sup>b</sup>	0,4	49,0	0,6	50,4	0,1
Ácido gálico	FA	16,2	0,3	15,7	1,1	15,3 <sup>a</sup>	0,3	19,3 <sup>b</sup>	1,4
	FML	17,0	0,3	16,9	0,3	18,9	0,8	21,0	2,1

\* Designación de los vinos: 1 y 2, elaborados con uvas de las muestras “1” y “2”; VV, elaborados con uvas de las cepas con tratamiento de vendimia en verde; T, elaborados con uvas de las cepas testigo. <sup>1</sup> Como ácido cafeico. <sup>2</sup> Como ácido *p*-cumárico. <sup>3</sup> Como procianidina B1. <sup>a, b</sup> Distintos superíndices en una misma fila, para los vinos de un mismo conjunto de muestras (“1” o “2”), indican diferencias significativas según el test de la “t” de Student ( $\alpha = 0.05$ ). n.d. = no detectado.

Las cantidades de **flavan-3-oles** encontradas en los vinos (Tabla 5.11), muy superiores a las encontradas en los hollejos de las uvas con que se elaboraron (Tabla 5.5), confirmaron

que la principal fuente de estas sustancias fueron las pepitas. Las cantidades encontradas de los dos flavan-3-oles monómeros, (+)-catequina y (-)-epicatequina, fueron muy similares, con sólo un ligero predominio de la (+)-catequina. Las cantidades de estos monómeros tendieron a aumentar, aunque no de forma significativa, tras la fermentación maloláctica. Respecto a los flavan-3-oles dímeros analizados, las procianidinas B2 (Epicatequina-Epicatequina) y B3 (Catequina-Catequina) predominaron sobre la B1 (Epicatequina-Catequina). La procianidina B3 se encontró en una ligera mayor concentración en los vinos elaborados con uvas de los tratamientos de mayor carga (1T y 2T), mientras que la procianidina B2 lo hizo en mayor cantidad en los de menor carga, aunque sólo fue significativo en la muestra “1” (1VV).

Por último, el **ácido gálico** fue encontrado en los vinos (Tabla 5.11), cuando no fue hallado en el hollejo de las uvas. Es sabido que en las uvas el ácido gálico se encuentra esterificando a los flavan-3-oles monómeros, especialmente a la (-)-epicatequina. Durante la vinificación y el posterior envejecimiento, estos ésteres se van hidrolizando, encontrándose cantidades crecientes de ácido gálico en los vinos, como se observó ligeramente al comparar los contenidos en los vinos Merlot tras la fermentación alcohólica y tras la maloláctica.

#### **5.4.4. CARACTERÍSTICAS CROMÁTICAS**

Las características cromáticas mostradas por los vinos elaborados con las uvas Merlot sometidas a distintos tratamientos de carga pudieron interpretarse en base a la composición fenólica detallada en los epígrafes anteriores, así como en base a las contribuciones que las distintas fracciones de antocianos (copigmentados y polimerizados) aportaron al color del vino (Tabla 5.12).

**Tabla 5.12. Contribución al color, a pH 3.6, de los antocianos copigmentados (%Copig) y de los polimerizados (%Polim), características cromáticas en el espacio CIELAB ( $L^*$ ,  $C^*$ ,  $h^*$ ), y parámetros de color habituales en bodega (IC, T), de los vinos elaborados con uvas Merlot de los distintos tratamientos.**

Parámetros relativos al color		1VV <sup>1</sup>		1T <sup>1</sup>		2VV <sup>1</sup>		2T <sup>1</sup>	
		VM	DE	VM	DE	VM	DE	VM	DE
%Copig	FA <sup>2</sup>	9.30	2.58	13.67	3.70	15.71	0.36	11.98	1.87
	FML <sup>2</sup>	1.39	1.96	0.10	0.17	3.15	3.95	5.54	2.00
%Polim	FA <sup>2</sup>	34.32	0.41	36.51	2.35	28.12	0.91	33.03	3.38
	FML <sup>2</sup>	52.76	0.46	54.19	1.41	47.70	0.56	46.55	3.46
$L^*$	FA <sup>2</sup>	34.30 <sup>a</sup>	0.28	42.40 <sup>b</sup>	0.28	32.55 <sup>a</sup>	0.21	36.67 <sup>b</sup>	3.31
	FML <sup>2</sup>	40.45 <sup>a</sup>	0.07	53.05 <sup>b</sup>	5.59	45.65 <sup>a</sup>	0.35	52.40 <sup>b</sup>	1.13
$C^*$	FA <sup>2</sup>	50.82 <sup>a</sup>	0.08	43.18 <sup>b</sup>	0.62	49.16	0.10	47.00	1.93
	FML <sup>2</sup>	45.75 <sup>a</sup>	0.00	37.70 <sup>b</sup>	3.19	44.47	0.06	39.51	2.89
$h^*$	FA <sup>2</sup>	16.53	0.06	19.54	1.35	18.50 <sup>a</sup>	0.02	15.95 <sup>b</sup>	0.05
	FML <sup>2</sup>	15.54	0.03	16.75	1.95	19.65	0.04	16.02	3.54
IC	FA <sup>2</sup>	18.47 <sup>a</sup>	0.33	14.36 <sup>b</sup>	0.04	18.95	0.15	19.11	2.47
	FML <sup>2</sup>	15.00 <sup>a</sup>	0.02	10.48 <sup>b</sup>	1.84	13.03 <sup>a</sup>	0.03	10.61 <sup>b</sup>	0.30
T	FA <sup>2</sup>	0.665 <sup>a</sup>	0.005	0.769 <sup>b</sup>	0.005	0.692	0.003	0.690	0.017
	FML <sup>2</sup>	0.732	0.008	0.792	0.011	0.748	0.008	0.751	0.056

<sup>1</sup> Designación de los vinos: 1 y 2, elaborados con uvas de las muestras “1” y “2”; VV, elaborados con uvas de las cepas con tratamiento de vendimia en verde; T, elaborados con uvas de las cepas testigo. <sup>2</sup> FA, tras la fermentación alcohólica; FML, tras la fermentación maloláctica. <sup>a, b</sup> Distintos superíndices en una misma fila, para los vinos de un mismo conjunto de muestras (“1” o “2”), indican diferencias significativas según el test de la “t” de Student ( $\alpha = 0.05$ ).

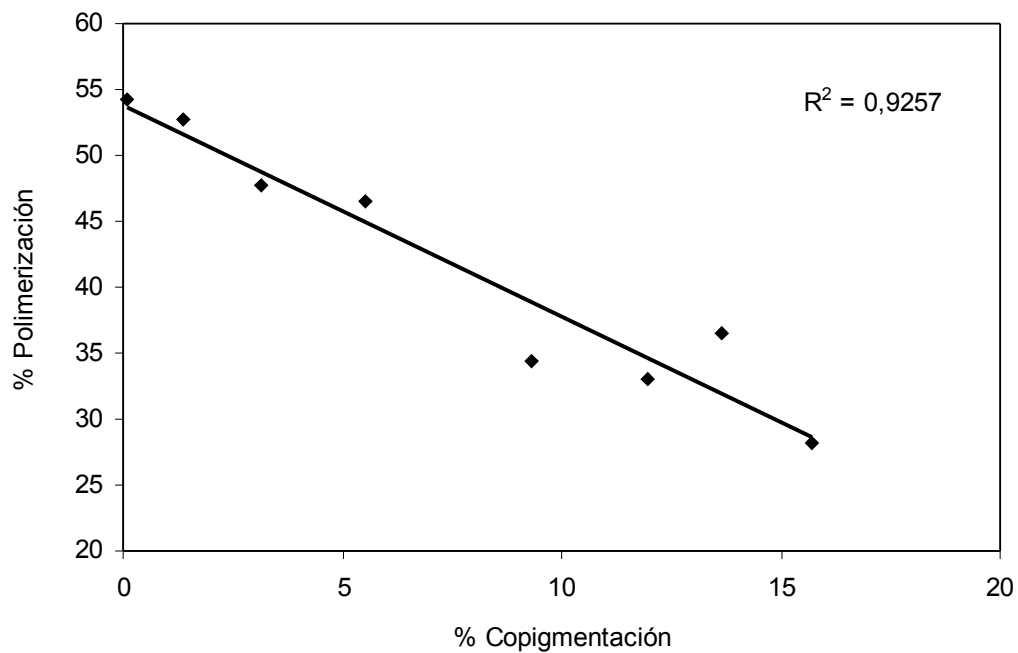
En primer lugar, hay que destacar que los vinos Merlot elaborados poseían un color bastante intenso, apreciable visualmente, como puede deducirse de los bajos valores de luminosidad ( $L^*$ ) y los altos valores de Intensidad Colorante (IC) que mostraron. La intensidad del color fue mayor en los vinos elaborados con las uvas de los tratamientos de

menor carga (1VV y 2VV), sobre todo en los de la muestra “1”. Aunque la intensidad del color disminuyó lógicamente tras la fermentación maloláctica, las diferencias entre tratamientos se mantuvieron. Estos resultados son consistentes con los encontrados para los contenidos en antocianos totales, que fueron mayores en los vinos de los tratamientos de menor carga (Tabla 5.8).

Otra característica de importancia del color de los vinos tintos es la tonalidad o el matiz del color rojo mostrado. En los vinos Merlot que se elaboraron se encontró que el matiz predominante era el rojo rubí, con escasas o ausentes tonalidades púrpuras y sin diferencias entre tratamientos, como puede deducirse de los valores del ángulo de tono ( $h^*$ ) que, aunque bajos, se aproximaban a la zona de las tonalidades rojas ( $15 < h^* < 45$ ) y no caían en la zona de los púrpuras ( $-15 < h^* < 15$ ). Muchos vinos jóvenes de otras variedades, como los de Cencibel o Syrah, suelen mostrar intensas tonalidades púrpuras, como consecuencia de que en ellos el fenómeno de la copigmentación es importante, normalmente por contener cantidades importantes de cofactores de copigmentación, especialmente de flavonoles (Sáez Martínez, 2002; Martín González, 2002; Jordán Serrano, 2003; Hermosín Gutiérrez y col., 2003; Vega Nieto, 2004). En nuestros vinos de la variedad Merlot la contribución de la copigmentación al color del vino (%Copigm) fue débil tras la fermentación alcohólica (%Copigm = 9.3-15.7%), y decayó hasta casi desaparecer tras la fermentación maloláctica (%Copigm = 0.1-5.5%). La explicación podría estar relacionada con el bajo contenido en flavonoles que se encontró en estos vinos (Tabla 5.8).

El grado de polimerización de los antocianos (%Polim), medido como la contribución al color del vino de los antocianos polímeros (realmente de los antocianos no decolorables por el bisulfito), fue similar en todos los vinos y no hubo diferencias entre tratamientos, aunque fue algo mayor en los vinos de la muestra “1”. Al finalizar la fermentación alcohólica, los antocianos polimerizados contribuyeron a cerca de un tercio del color del vino, mientras que tras la fermentación maloláctica la contribución alcanzó casi a la mitad del color. Este aumento de la proporción de antocianos polimerizados fue a costa de la de antocianos copigmentados, como puede deducirse de la buena correlación encontrada entre todos los valores de %Polim y %Copigm de los vinos estudiados ( $R^2 = 0.9257$ ; Figura 5.12). La evolución del parámetro Tonalidad (T) fue paralela a la del %Polim, y el aumento del grado

de polimerización de los antocianos tuvo su reflejo en el parámetro cromático cromaticidad ( $C^*$ ), o pureza de color, que disminuyó tras la fermentación maloláctica, como consecuencia de una mayor mezcla de distintos tipos de pigmentos, como los rojos antocianos monómeros o los anaranjados antocianos polímeros.



*Figura 5.12. Correlación entre las contribuciones al color de los antocianos polimerizados (%Polim) y de los copigmentados (%Copigm), en los vinos Merlot correspondientes a todos los tratamientos de carga y a los dos momentos de análisis elegidos, tras la fermentación alcohólica y tras la maloláctica (ver Tabla 5.12).*

#### **5.4.5. CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS**

Con el fin de comprobar las características organolépticas de los vinos realizados con las uvas de los distintos tratamientos y zonas de la plantación, se organizó una cata preliminar. En ella nos fijamos primeramente en el color, la tonalidad, la intensidad de color, la transparencia; también en los aromas, que podían ser varietales o no; y en su gusto en boca donde nos analizamos su cuerpo, astringencia, acidez y permanencia en boca principalmente.

En todas estas características encontramos diferencias derivadas tanto del tratamiento dado a la planta (aclareo de racimos), como de otros factores de cultivo que han influido sobre la calidad de la uva, y que eran de esperar a raíz del análisis de los resultados obtenidos de las pruebas efectuadas en el laboratorio.

Así, en estas opiniones preliminares apareció para la mayoría de los expertos consultados, diferencias apreciables a favor, sobre todo del 1VV con unas características de color, aromas y estructura de boca excelentes, no alcanzadas por ninguno de los otros tres vinos, cuya calidad sin embargo, también fue muy elevada.

Concretamente podemos decir que en la muestra aludida había desaparecido el gusto herbáceo propio de las viñas jóvenes o excesivamente cargadas (Stanley, 2001). Estas diferencias no se justifican sólo con la mayor cantidad de antocianos sino que la calidad, el grado de polimerización y copigmentación alcanzados (Hermosín y col., 2004) y la armonía general del vino nos invita a seguir profundizando en la fisiología de la planta (Champagnol, 1984) y en el comportamiento de los compuestos responsables del color durante la vinificación.