

FACULTAD DE VETERINARIA, UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA

Influencia de la adición de taninos enológicos en el color del vino

Teresa Serrano Armand

DATOS PERSONALES:

- Serrano Armand, Teresa
- D.N.I.: 17763608H
- Dirección: C/ Brazal Zapateros nº6, 50016, Zaragoza
- Correo electrónico: serranoarmand@gmail.com

ÍNDICE

1. RESUMEN / ABSTRACT.....	1
2. INTRODUCCIÓN.....	3
2.1. TANINOS.....	3
2.2. ESTADO DEL ARTE.....	6
3. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS.....	7
4. METODOLOGÍA.....	9
4.1. IDENTIFICACIÓN Y DESCRIPCIÓN DE LAS PRINCIPALES ACTIVIDADES TÉCNICAS.....	9
4.1.1. ELABORACIÓN DE VINO TINTO.....	10
4.1.2. ANÁLISIS DE COLOR Y DE LOS COMPUESTOS FENÓLICOS.....	15
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	17
5.1. ELABORACIÓN DE VINO TINTO.....	17
5.2. ANÁLISIS DE COLOR Y DE LOS COMPUESTOS FENÓLICOS.....	22
6. CONCLUSIONES / CONCLUSIONS.....	29
7. IDENTIFICACIÓN DE LAS APORTACIONES QUE EN MATERIA DE APRENDIZAJE, HAN SUPUESTO LA REALIZACIÓN DE ESTA ASIGNATURA.....	33
8. EVALUACIÓN DE LA ASIGNATURA Y SUGERENCIAS DE MEJORA.....	33
9. BIBLIOGRAFÍA.....	34
10. ANEXO.....	37

1. RESUMEN

Los taninos son importantes componentes de la calidad del vino, ya que contribuyen tanto a la percepción en boca como a la estabilización del color con el tiempo. A su vez, el color es sin lugar a dudas uno de los aspectos organolépticos más importantes de un vino. Es por ello que la adición de taninos enológicos para mejorar las características de los vinos tintos es una práctica muy extendida en bodegas durante la elaboración de vinos tintos. Sin embargo, son muy pocos los estudios realizados en este campo y así mismo existe controversia en las opiniones de diferentes autores en cuanto a si esta adición es efectiva o no. El objetivo de este proyecto es determinar la influencia de la adición de taninos enológicos de Quebracho y de uva en el color del vino tinto. Para ello se elaboraron vinos a partir de uvas de las variedades tempranillo y garnacha procedentes de la D.O. Rioja. De cada vino se prepararon dos controles, dos muestras con tanino de Quebracho añadido en la fase pre-fermentativa y dos muestras con tanino de Quebracho y tanino de uva añadidos en la fase pre-fermentativa y post-fermentativa respectivamente. Se realizaron análisis de color y de compuestos fenólicos: intensidad de color, índice de polifenoles totales y concentración de taninos y antocianos totales en distintas etapas de la vinificación: al finalizar la fermentación alcohólica, al finalizar la fermentación maloláctica y tras la adición de SO₂. Los datos fueron estudiados mediante análisis de varianza (ANOVA). Los resultados indican que la adición combinada de tanino de Quebracho y tanino de uva afecta positivamente a la intensidad del color. No obstante la adición única de tanino de Quebracho en las cantidades recomendadas por el fabricante no contribuye a la mejora de la intensidad de color. Esto sugiere que adición de taninos enológicos puede estar en muchos casos injustificada.

ABSTRACT

Tannins are an important component of wine quality since they not only contribute to the mouth's perception, but also to the long-term color stability. At the same time, the color is undoubtedly one of the most important sensory aspects of wine. That is why the addition of enological tannins to improve the characteristics of red wines is a widespread practice in wineries during the winemaking. However, there are few studies in this field and also there is controversy of opinions between authors of the field regarding whether this addition is effective or not. The purpose of this project is to determine the influence of the addition of enological tannins of Quebracho and grape on red wine color. This wine is produced from grapes of the variety Tempranillo and Garnacha from the D.O. Rioja (Spain). From each wine, two controls, two samples with quebracho tannin added in the pre-fermentation stage and two samples with quebracho tannin and grape tannin added in the pre-fermentation and post-fermentation respectively, were prepared. Analyzes of color and phenolic compounds were performed: color intensity, total phenolic compounds index and concentration of total tannins and anthocyanins at different stages of winemaking: firstly, once the alcoholic fermentation has been finished, secondly, once the malolactic fermentation has been completed, and finally, after adding SO₂. The obtained results were studied in depth using an analysis of variance and concludes that the combined addition of quebracho tannin and grape tannin positively affect the wine color intensity. Nonetheless, only adding quebracho tannin (in the amounts recommended by the manufacturer) does not contribute to the improvement of color intensity. This could mean that the addition process of oenological tannins may be sometimes unwarranted.

2. INTRODUCCIÓN

2.1. TANINOS

Los taninos del vino son un importante componente de la calidad del mismo, ya que contribuyen tanto a la percepción en boca como a la estabilización del color en el tiempo (Malien-Aubert, Dangles & Amiot, 2002; Singleton, 1988; Somers, 2003; Vidal *et al.*, 2004). Los taninos del vino proceden principalmente de las semillas y los hollejos de la uva transferidos al vino durante su elaboración. Por ello, aquellos vinos cuyo mosto apenas está en contacto con dichas partes de la uva, como los blancos y rosados, tienen bajas concentraciones de taninos, mientras que los tintos elaborados en contacto con los hollejos, periodo que varía desde días a semanas, tienen concentraciones variables de taninos. Los taninos de las semillas y de los hollejos son comúnmente llamados “taninos condensados” (Haslam, 1998).

Los monómeros más abundantes son la catequina, epicatequina, galocatequina y epigalocatequina y podrían considerarse como los precursores de los taninos. La condensación de los monómeros es condición indispensable para que estos compuestos presentes las características químicas y organolépticas de los taninos (deben tener un peso molecular superior a 500 Dalton, lo que corresponde a la condensación de al menos dos monómeros), puesto que los monómeros y los polímeros de más de 10 monómeros no tienen características tánicas. Durante la maduración de la uva, la disminución de la astringencia es debida al aumento de la polimerización.

Sus propiedades tánicas dependen de los grupos sustituidos en los monómeros; los principales son los procianidoles, derivados de la catequina y epicatequina, y los prodelfinidoles, constituidos de galocatequina y epigalocatequina; estos últimos se localizan exclusivamente en los taninos del hollejo (Usseglio-Tomasset, 1998).

Las principales propiedades de los taninos son:

- Son compuestos sólidos, de sabor áspero y astringente.
- Se disuelven bien en alcohol, en agua y en líquidos alcohólicos, y por lo tanto en mosto y vino.

- En los mostos y vinos se encuentran en estado coloidal, y sus micelas poseen de forma natural cargas eléctricas negativas.
- Con las sales de hierro dan compuestos de color negro-azulado. En los vinos producen la quiebra azul.
- Forman con la gelatina un flóculo o grumo insoluble en el agua, alcohol y en los mostos y vinos, que tiende a caer con las lías, debido a la diferencia de carga que tienen.
- Protegen de la oxidación, ya que, como precipitan proteínas, afectan también a su carga enzimática, dado que los taninos se combinan con la apoenzima (que siempre es una proteína) e inhiben la actividad enzimática.
- Se combinan también con polímeros de tipo celulosa y pectina.
- Las moléculas elementales de los taninos son incoloras o de color amarillo pálido, y con la condensación evolucionan hacia la tonalidad amarillo-marrón, que incluso llega al ocre (Usseglio-Tomasset, 1998).

La concentración de taninos en los hollejos de la uva varía considerablemente con el clima, el suelo, así como por el tipo de variedad de la uva y prácticas vitivinícolas (Downey, Dokoozlian & Kistic, 2006).

Aunque las diferentes variedades de uva tengan cierta concentración de taninos en el hollejo, se ha observado que el vino producido no siempre tiene un nivel similar de taninos (Adams & Scholz, 2007; Hanlin & Downey, 2009; Harbertson *et al.*, 2009). Para compensar esto, se añaden frecuentemente taninos exógenos durante el proceso de elaboración del vino tinto tanto en forma de semillas como de extractos liofilizados (Kovac, Alonso, Bourzeix & Revilla, 1992; Kovac, Alonso & Revilla, 1995; Main and Morris, 2007; Parker *et al.*, 2007).

Los taninos comerciales están disponibles en un gran número de formas, los más comunes son los conocidos como “oenotaninos” o “taninos enológicos” y generalmente se encuentran en forma de extracto liofilizado. Sin embargo, la adición de taninos también puede realizarse mediante chips o virutas de roble y mediante el envejecimiento en barriles de roble. Los taninos derivados de barriles, chips y virutas no son taninos condensados como los que se encuentran en las semillas y hollejos, sino más bien taninos hidrolizables (Haslam, 1998; Mayer, Gabler, Riester & Korger, 1967).

Los preparados comerciales de taninos hidrolizables se obtienen a partir de una amplia variedad de materiales vegetales incluyendo la corteza de árbol de Quebracho de América del Sur (*Schinopsis balansae* y *Schinopsis lorentzii*), la Acacia Australina (*Acacia mearnsii*) y las bellotas del género *Quercus* (Rautio, Bergvall, Karonen & Salminen, 2007). Numerosas especies como *Acer*, *Acacia* y *Quercus* contienen tanto taninos hidrolizables como condensados (Bate-Smith, 1977; Ishimaru, Nonaka & Nishioka, 1987; Mueller-Harvey, Hartley & Reed, 1987). Algunos taninos enológicos extraídos de una sola especie son relativamente puros, mientras que otros son mezclas de un gran número de especies y pueden incluir tanto taninos hidrolizables como condensados (Obreque-Slíer, Peña-Neira, López-Solís, Ramírez-Escudero & Zamora-Marín, 2009).

Es pues necesario, distinguir entre los diferentes taninos en función de su origen botánico, ya que este condiciona su composición química y por lo tanto su utilidad. En la tabla 1 se muestra la composición de diferentes taninos enológicos en función de su origen (Zamora, 2003).

	Procianidinas	Tanino Gálico	Tanino Elágico	Tipo de tanino
Roble	1	2	680	Elágico
Castaño	2	2	230	Elágico
Agallas	Trazas	780	0	Gálico
Hollejos de uva	230	0	0	Condensado
Semillas de uva	630	0	0	Condensado
Quebracho	45	0	14	Condensado/Elágico
Mirobálogo	3	148	85	Gálico/Elágico

TABLA 1. COMPOSICIÓN DE LOS TANINOS ENOLÓGICOS EN FUNCIÓN DE SU ORIGEN. (ADAPTADO DE RIBÉREAUR-GAYON ET AL., 1999)

El interés de su aplicación en vinos tintos es fundamentalmente debido a la posibilidad de incrementar el cuerpo del vino y preservar su color. El efecto del color depende del tanino utilizado. Así cuando se trate de taninos condensados, al ser estos de similar naturaleza que las procianidinas naturales de la uva y del vino, pueden participar facilitando las combinaciones antociano-tanino y por tanto contribuir a la estabilización del color. Por otra parte, los taninos gálicos y taninos elágicos protegen a los antocianos de la oxidación, ya que ellos mismos pueden actuar regulando los fenómenos de oxidorreducción.

La adición de tanino al mosto antes o durante la fermentación del vino tinto es una práctica bastante extendida. La adición directa de tanino se hace disolviendo en agua caliente el tanino enológico (ácidos gálico y pirocatéquico), en una concentración de 10 a 30 g/hL, y agregándolo directamente al mosto con remontados (es aconsejable ir adicionándolo poco a poco, a razón de 3-5 g/hL en cada remontado) (Aleixandre, y Álvarez, 2003).

2.2. ESTADO DEL ARTE

Hasta la fecha, los taninos enológicos no han recibido mucha atención por parte de los investigadores, a pesar de su amplio uso en la industria. Existen muy pocas publicaciones sobre la eficacia de la adición de taninos al vino y sobre la efectividad de los productos disponibles. Generalmente, los estudios han sido enfocados en la adición pre- y post- fermentación (Bautista-Ortín, Fernandez-Fernandez, López-Roca, & Gómez-Plaza, 2007; Main & Morris, 2007; Parker *et al.* 2007).

En un estudio realizado por Parker *et al.* en 2007, se añadieron taninos enológicos al vino, tanto antes como después de la fermentación alcohólica y después estudiaron el impacto causado en la composición de fenoles, color y propiedades sensoriales. Los autores añadieron 200 mg/L de oenotaninos (taninos condensados) en diferentes muestras de Shiraz. Tras las determinaciones analíticas los resultados demostraron que no hubo ningún efecto significativo en el color (A420+ A520 y CIElab) y que el único efecto de la adición de taninos fue el incremento de la astringencia (Parker *et al.* 2007).

En otro experimento, 200 mg/L de taninos procedentes de semillas de uva blanca, fueron añadidos post fermentación a un vino Cynthiana y se encontró que no hubo ningún incremento significativo de fenoles totales. Sí que hubo una pequeña variación de color, pero según el autor con poco impacto para usos comerciales (Main & Morris, 2007).

En otro estudio (Harbertson, Parpinello, Heymann & Downey, 2011), los taninos exógenos fueron añadidos en cantidades diferentes durante la crianza en barrica de vinos elaborados a partir de uvas de las variedades Merlot y Cabernet Sauvignon cosechadas en el valle de Columbia, Washington, USA. En un primer experimento, añadieron tanino al vino Merlot en las concentraciones recomendadas por el fabricante. El experimento demostró que la cantidad recomendada por el fabricante no era

suficiente para obtener un impacto mesurable. Esto significa que en la mayoría de los casos la adición será insuficiente para obtener un impacto significativo a menos que la concentración sea superior a la recomendada. En el segundo experimento, añadieron al vino de Cabernet Sauvignon, el rango superior de tanino recomendado por el fabricante y una tasa que excede la recomendación superior, por varias veces, para asegurar que hubiera una diferencia medible. Este experimento demostró que en el momento en el que hay un impacto medible en los compuestos fenólicos hay también un impacto negativo en las características sensoriales del vino. Las recomendaciones del fabricante, generalmente no tienen un impacto medible en las características cromáticas del vino pero tampoco tienen efectos perjudiciales en la calidad sensorial.

Los estudios anteriormente citados indican que los taninos no tienen un impacto significativo en el color del vino. Sin embargo, existen diversas publicaciones que defienden la acción positiva de los taninos enológicos sobre el color. Estas lagunas en el conocimiento sobre la efectividad de los taninos comerciales y las opiniones y resultados confrontados, animan a los investigadores a continuar recopilando información y a elaborar distintos experimentos para llegar a una conclusión final. (Harbertson *et al.*, 2011)

3. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS.

El color es sin lugar a dudas uno de los aspectos organolépticos más importantes de un vino, no sólo por ser su primera e inmediata imagen, sino también porque es un indicador de otros aspectos relacionados con su aroma y con su sabor.

El primer aspecto que observamos de un vino, es obviamente su color, lo que sin duda condicionará su degustación. Su importancia es por tanto capital en la apreciación de la calidad. En la ilustración 1 se muestra el espectro de absorción del color de tres vinos tintos.

En ella se puede ver que el vino joven presenta un máximo a 520 nm, correspondiente al rojo, y unas componentes amarilla (420 nm) y azul (620 nm) relativamente importantes. Por esta razón el vino presentará un color rojo intenso con tonalidades azuladas. El

color del vino tinto, están en gran medida relacionadas con su composición en compuestos fenólicos (Zamora F., 2003).

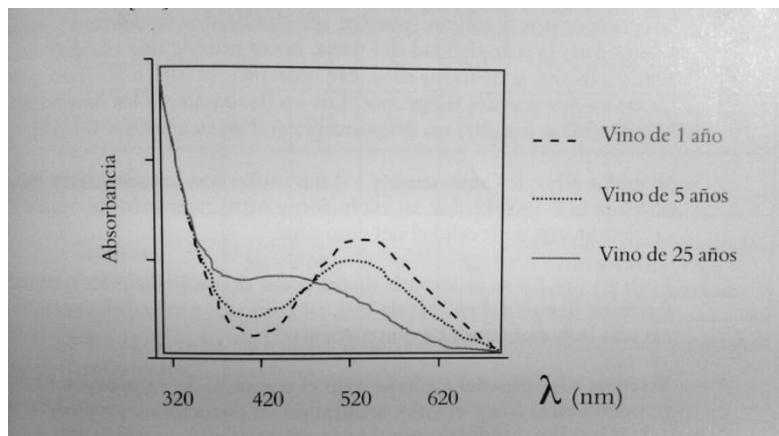


ILUSTRACIÓN 1. ESPECTRO DE ABSORCIÓN DEL VINO (ZAMORA, 2003).

Los taninos son una parte importante en lo que a calidad del vino se refiere y frecuentemente son añadidos durante la elaboración del vino. Sin embargo, dicha adición y su impacto en el vino está escasamente documentada.

Los taninos se añaden a los vinos por varias razones y representa un coste importante para la empresa, (Harbertson *et al.*, 2011) por lo que resulta fundamental realizar estudios que justifiquen las ventajas obtenidas al llevar a cabo esta práctica.

Los taninos exógenos pueden ser añadidos por diferentes razones, en momentos diferentes y en diferentes formas. En una revista sobre prácticas industriales en Australia en 2007, Hill and Kaine (Hill & Kaine, 2007), se identificaron seis segmentos de la industria basados en la utilización de taninos exógenos. Dichos segmentos, varían entre aquellos productores que no añaden taninos ya que consideran que su uva ya contiene suficiente y aquellos que añaden taninos exógenos con el objetivo de aumentar el valor añadido de su producto. Otros segmentos de la industria incluyen a aquellos que añaden taninos para estabilizar el color, para enmascarar caracteres verdes u otras faltas, o para diferenciar sus vinos de otros similares o en una combinación de estas motivaciones. Las estrategias varían entre bodegas y enólogos. En algunos casos, la adición de taninos se realiza en concordancia con las recomendaciones del fabricante o la dosis es escogida a partir de pruebas y posterior análisis sensorial realizado por los enólogos en los laboratorios. En otros casos, los taninos se añaden a varios productos de

acuerdo con una receta, precedente histórico o en base a los conocimientos del enólogo, una práctica que algunos han catalogado como “el oscuro arte del tanizado” (Hill & Kaine, 2007).

El objetivo general del presente proyecto es determinar la influencia de la adición de taninos enológicos de Quebracho y de uva en el color del vino tinto.

Para conseguirlo se deberán alcanzar los dos objetivos principales del proyecto:

- Elaboración de vino tinto donde se añadirán, en diferentes muestras, taninos enológicos de Quebracho en la etapa pre-fermentativa y taninos enológicos de Quebracho y uva en la etapa pre-fermentativa y post- fermentativa, respectivamente.
- Determinar la influencia de dichas adiciones en el color del vino mediante análisis del color y de los compuestos fenólicos y su evaluación mediante análisis de varianza.

4. METODOLOGÍA

4.1. IDENTIFICACIÓN Y DESCRIPCIÓN DE LAS PRINCIPALES ACTIVIDADES TÉCNICAS

El presente proyecto se estructura en dos actividades:

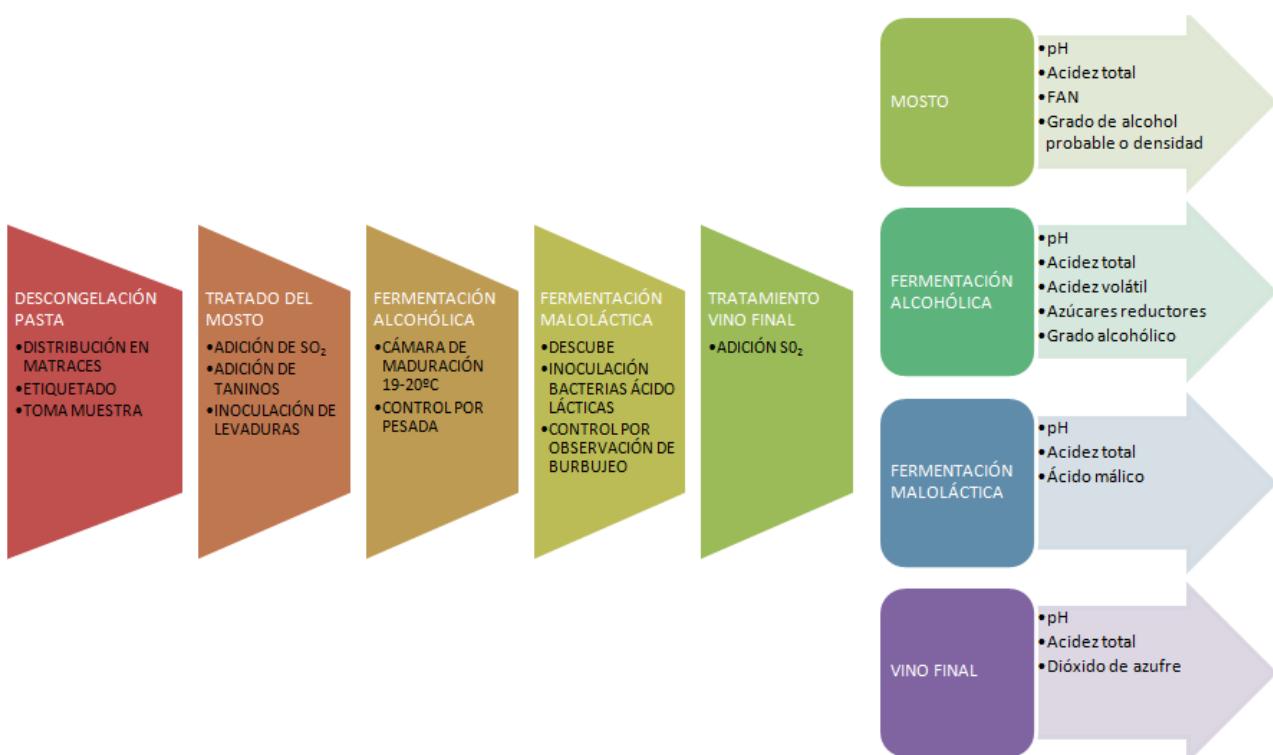
- **A1: Elaboración de vino tinto:** En esta primera actividad se elaboraron tres tipos de vino a partir de dos variedades de uva tempranillo y garnacha recogidas en distintas zonas de la D.O. Rioja: Tempranillo de Corugo, Tempranillo de Igea y una mezcla de Tempranillo y Garnacha. A lo largo del proceso de elaboración se añadieron los distintos taninos enológicos y se realizaron los análisis de: acidez total, grado alcohólico, azúcares y sulfuroso, para conocer las características de los vinos en todas las etapas de elaboración.
- **A2: Análisis del color y de los compuestos fenólicos:** Se realizaron los siguientes análisis: Color (I420+I520+I620), compuestos fenólicos totales

(I280) y determinación de antocianos y taninos totales. Dichos análisis se realizaron en el vino tras la fermentación alcohólica, fermentación maloláctica y tras la adición de SO₂. En el mosto se analizaron los compuestos fenólicos totales (I280) para conocer el momento 0 y así estudiar la evolución de dichos compuestos durante el proceso.

Los datos obtenidos se analizaron mediante el análisis de varianza (ANOVA), originalmente desarrollado por Fisher. (McCulloch C. E. y Searle S. R., 2001). Este método nos permite determinar si los cambios entre los factores de estudio en los ensayos realizados tuvieron un efecto estadísticamente significativo.

4.1.1. ELABORACIÓN DE VINO TINTO

A continuación se muestra de manera esquematizada las tareas que se llevaron a cabo en el marco de esta actividad:

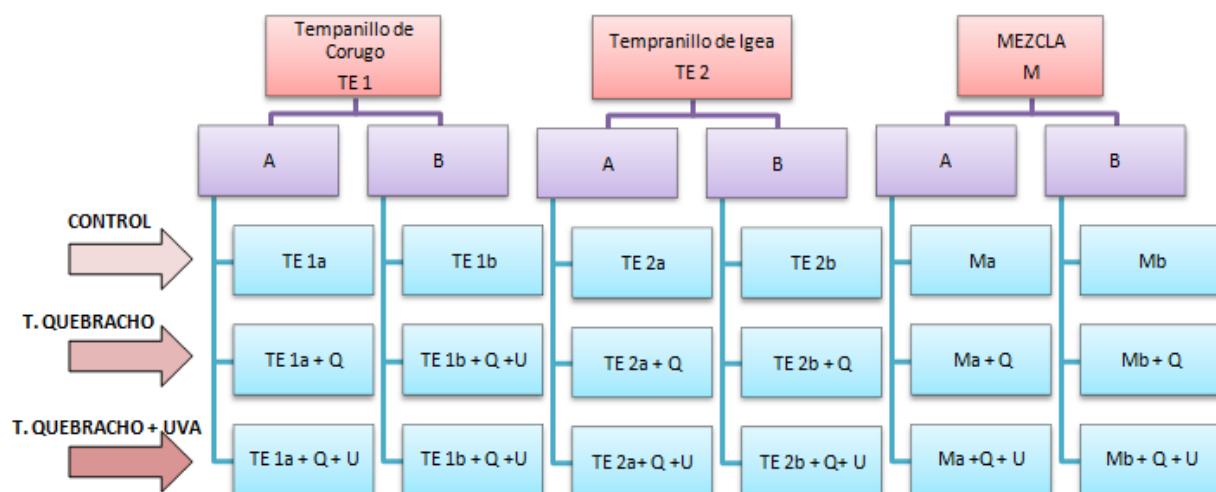


T1: Preparación de las muestras:

T1.1. Preparación del mosto:

Para la realización del experimento se partió de la pasta obtenida en una bodega de la D.O. Rioja a partir de uvas de las variedades Tempranillo y Garnacha. La pasta se enfrió en la bodega a 0°C y fue transportada a la Planta Piloto de la Facultad de Veterinaria de Zaragoza, donde se congeló durante una semana.

El día anterior al inicio del experimento, se procedió a sacar del congelador las muestras de pasta de Tempranillo de Corugo (TE1), Tempranillo de Igea (TE2) y de la Mezcla de Garnacha y Tempranillo (M). La pasta descongelada se distribuyó en enlenmeyers de 5 litros debidamente etiquetados. De cada pasta (TE1, TE2 y M) se hicieron 2 controles (a y b), 2 muestras con tanino de quebracho (a+Q y b+Q) y 2 muestras con tanino de quebracho al que posteriormente se añadirá tanino de uva (a+Q+U y b+Q+U). Se llenaron hasta una cantidad aproximada de 3,5 litros (excepto la muestra Mb Q +U que se depositó en un enlenmeyer de 3 litros). Se tomaron muestras de los distintos mostos



que se llevaron a analizar al laboratorio.

A continuación se adicionó a cada muestra 3,5 ml de sulfuroso con una concentración de 30mg/L.

Después se adicionó tanino de quebracho a todas las muestras menos a los controles, los cálculos fueron los siguientes:

Se han de añadir 15 g/HL = 0,15 g/L, para ello se realizó una disolución concentrada para poder distribuirlo mejor: 50 g/L

$$50 \text{ g/L} * X = 3500 \text{ mL} * 0,15 \text{ g/L}; X = 10,5 \text{ mL}$$

Para realizar la disolución se pesaron 7,5 g de tanino que se llevaron a 150ml de agua caliente.

Se añadió 10,5 mL de dicha disolución en las muestras indicadas.

Finalmente se inocularon las levaduras secas activas VITILEVURE KD (*Saccharomyces cerevisiae bayanus killer*). Generalmente, se inoculan 20 g/HL = 0,2 g/L de levaduras, pero al ser unas levaduras un poco viejas, que probablemente hayan disminuido su actividad en un 40-50 %, se añadieron 0,5 g/L. Se pesaron 35 gramos de levaduras secas activas que se disolvieron en 200 mL de agua a 35-37°C durante 30 minutos agitando periódicamente. Se adicionó 15 ml de esta disolución en cada enlenmeyer, se pesaron los enlenmeyer y se llevaron a la cámara de maduración a 19-20 °C para dar comienzo a la fermentación alcohólica.

T1.2. seguimiento de la fermentación alcohólica:

Durante el periodo de fermentación, todos los días se agitaron y pesaron las muestras. Así mismo, se fue midiendo la densidad de alguna de ellas mediante un densímetro.

Una vez que el peso de las muestras se estabilizó, lo que indica una parada de la fermentación, se añadió a las muestras correspondientes el tanino de uva (Q+U). Dicha operación se realizó en dos fases, en un intervalo de tiempo de 4 días. Ambas adiciones fueron de concentración 10 g/HL.

Tras la fermentación alcohólica se realizó el descube, pasando el vino a botellas debidamente identificadas.

T1.3. Preparación del vino en la fermentación maloláctica:

Una vez finalizada la fermentación alcohólica, el vino ha de ser sometido a la fermentación maloláctica.

Para desencadenar la fermentación maloláctica, se inocularon bacterias malolácticas heterofermentativas, Viniflora® CH16, un cultivo de *Oenococcus oeno* liofilizado. Se pesaron 0,24 gramos del cultivo granulado, y se disolvió en 25 ml de vino (se tomó el vino control TE 2). A continuación se inoculó 1 ml de esta mezcla en cada muestra.

El control de la fermentación maloláctica se lleva a cabo mediante la técnica de cromatografía de papel o con determinaciones espectrofotométricas de ácido málico antes y después de la fermentación maloláctica. En nuestro caso, se hizo un seguimiento de la fermentación maloláctica por observación de burbujeo y se hizo la confirmación en laboratorio. Se requirió de colaboración externa para realizar dicho análisis.

T1.4. Preparacion del vino final:

Una vez terminada la fermentación maloláctica, se adicionó sulfuroso a todas las muestras.

La aplicación de este producto, no es sólo por su acción antiséptica, sino también por su alto poder reductor. Algunas levaduras son muy sensibles al SO₂, otras pueden resistirlo. Las bacterias del vino, no lo toleran y son eliminadas totalmente. En vinos tintos, la presencia de 80 mg de SO₂ por litro, son suficientes para inhibir el crecimiento de las bacterias malolácticas (García-Barceló, J., 1990).

Se adicionó 1 ml de sulfuroso con una concentración de 30mg/L por cada litro de muestra.

T2: Análisis químicos:

Se realizaron diversas técnicas analíticas para conocer la evolución de los vinos en las distintas etapas de su elaboración:

➤ pH:

La concentración de iones hidrógeno se expresa como pH. Se mide utilizando un pH-metro y un electrodo de vidrio. El pH-metro se calibra con soluciones tampón estándar y los valores de pH de la muestra se determinan introduciendo el electrodo en el vino sin diluir (Zoecklein *et al.*, 2001)

➤ Acidez total:

10 mL de vino se valoran con la solución de NaOH (0,1 N) utilizando el pHmetro para localizar el punto final de la valoración a pH 7.

➤ **Acidez volátil:**

La acidez se determina experimentalmente según el método García-Tena. Se toman 11 mL de vino, se vierten en un matraz y este se ajusta en un aparato de destilación. La determinación se efectúa mediante la separación de los ácidos volátiles con arrastre de vapor de agua y rectificación de los vapores. Posteriormente estos ácidos son valorados con NaOH (0,02M) en presencia de fenolftaleína como indicador.

➤ **Nitrógeno fácilmente asimilable (FAN):**

Se toman 50 ml de mosto o vino que se ajustan a pH 8,5 con NaOH (1N). Se añade una solución de formaldehido ajustada a pH 8,5 y se lleva a la mezcla a pH 8,5 con NaOH (0,1 N), usando una bureta para medir el volumen gastado. La concentración de nitrógeno fermentable se calcula con la siguiente fórmula:

N fermentable (mg/L)=(mL de NaOH 0,1N gastados) x 28. (Zoecklein *et al.*, 2001).

➤ **Grado de alcohol probable:**

El “grado alcohólico volumétrico en potencia” o más comúnmente “grado probable” se define como el número de volúmenes de alcohol puro, a la temperatura de 20°C, que puede obtenerse por la fermentación total de los azúcares contenidos en 100 volúmenes del producto considerado a dicha temperatura (Reglamento CE nº 1493/99). La determinación del grado probable se lleva a cabo a partir de las determinaciones físicas de la riqueza en azúcares del mosto. Para ello se emplean medidas areométricas y refractométricas, debido a que los azúcares aumentan tanto la densidad como el índice de refracción de las soluciones, de forma proporcional a su concentración.

➤ **Grado alcohólico:**

Se determina por destilación simple del vino previamente neutralizado con sosa hasta pH cercano a 7. Se mide la densidad del destilado por aerometría.

➤ **Azúcares reductores:**

Se pone en un erlenmeyer 10 mL de solución de cobre y se añaden 5 mL de solución de Seignette. Se pasan 2 mL de la muestra a través de un cartucho de poligel. Se hace hervir 2 minutos y se enfriá. A continuación se añade: 10 mL de solución KI, 10 mL de solución de sulfúrico y 10 mL de indicador de almidón. Se valora con tiosulfato. La diferencia en mL del gasto de tiosulfato de la muestra y del blanco representa directamente el contenido en azúcares reductores expresado en g/L.

➤ **Ácido málico:**

Se realiza por cromatografía de papel. En un papel cromatográfico, se impregna la línea base con ácido málico (patrón) y las muestras de vino. Se sumerge el papel en un recipiente con el solvente cromatográfico por la línea base. Cuando el solvente ha ascendido hasta cerca del borde superior, se saca el cromatograma y se deja secar. Una vez seco, se interpretan los resultados observando las manchas amarillas (ácidos) sobre el fondo azul. La identificación del ácido se hace por comparación con el ácido patrón (Zoecklein *et al.*, 2001).

➤ **Dióxido de azufre:**

La cantidad de anhídrido sulfuroso se mide utilizando el aparato Rankine. Se introducen en un matraz 10 mL de muestra y 5mL de ácido fosfórico. En el matraz corazón se ponen 2 mL de agua oxigenada y dos gotas de indicador. Neutralizar con NaOH hasta conseguir un color verde oliva. Conectar el vacío durante 15 minutos. Retirar y valorar con NaOH 0,01M.

$$V_{\text{NaOH}} \times N_{\text{NaOH}} = \text{meq SO}_2$$

De la misma forma, pero calentando, se analiza el anhídrido sulfuroso combinado (García-Barceló, 1990).

4.1.2. ANÁLISIS DEL COLOR Y DE LOS COMPUESTOS FENÓLICOS

El esquema de las tareas elaboradas en esta etapa, es el siguiente:



➤ Color o intensidad colorante:

En una cubeta de 1mm de camino óptico, se miden las absorbancias a 420 nm, 520 nm y 620 nm. El resultado se multiplica por 10 para referirlo a la cubeta estándar de 10 mm de camino óptico (Glories, 1984). La intensidad colorante, que nos dará una idea de cuánto color posee el vino, será la suma de cada uno de los componentes:

$$\text{IC: } \mathbf{A_{420} + A_{520} + A_{620}}$$

➤ Compuestos fenólicos totales:

El índice de polifenoles totales (IPT) da una idea general de la concentración global de un vino en estos compuestos.

Para el vino tinto se diluye previamente por un factor 100 con agua destilada. Se determina la absorbancia a 280 nm en una cubeta de cuarzo de 10 mm de camino óptico y el resultado se multiplica por el factor de dilución. (Ribéreau-Gayon, J., 1970).

➤ Antocianos:

La técnica utilizada para su determinación es el método por decoloración con ácido sulfuroso (Ribéreau-Gayon, 1965).

Se prepara la siguiente disolución: 1 mL de vino, 1 mL de HCL concentrado al 1% de etanol y 20 mL de disolución al 2% de HCL concentrado en agua.

En dos tubos de ensayo se vierten 10 mL de la disolución anterior. A uno de los tubos se le añaden 4 ml de agua destilada y al otro se le añaden 4 mL de disolución de bisulfito de sodio al 15%.

Se tapan cuidadosamente los tubos, se agitan y al cabo de 20 minutos se miden las absorbancias a 520 nm en la cubeta de 10 mm.

Antocianos totales (mg/L) = (A1-A2)x875

➤ **Taninos:**

Se determinan por la técnica descrita por Ribéreau-Gayon, J. en 1966.

Se preparan dos tubos de vidrio a los que se le añade: 2 mL de vino diluido 1:50, 1mL de agua destilada y 6 mL de HCL 12 N. Los tubos se protegen de la luz y uno de ellos se mete a baño María durante 30 minutos. El otro se mantiene a temperatura ambiente. Pasado este tiempo se sacan del baño y se enfrian. Posteriormente se añade 1 ml de etanol a ambos tubos, se agita y se lee la absorbancia a 550 nm en cubeta de 1cm.

Taninos totales (g/L) = (A1-A2)x19,33

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. ELABORACIÓN DE VINO TINTO

Como se indicó anteriormente, en esta fase del proyecto, se realizaron análisis para conocer la evolución de los vinos en las distintas etapas de su elaboración.

A continuación se muestran los resultados de dichos análisis.

➤ **Mosto:**

TABLA 2. MEDIAS DE LOS RESULTADOS DE LAS ANALÍTICAS REALIZADAS A LOS MOSTOS.

	TE1	TE2	M
pH	4,00 ± 0,01	4,31 ± 0,01	3,53 ± 0,05
Acidez total (g/L)	3,76 ± 0,19	2,66 ± 0,27	4,65 ± 0,11

FAN (mg/L)	154,00	352,80	95,20*
Densidad (g/L)	1095,00	1104,00	1102,00

Te 1, Tempranillo de Corugo; Te 2, Tempranillo de Igea; M, mezcla de Tempranillo y Garnacha. * Sólo disponible 46 ml de mosto para realizar la determinación.

➤ Vinos al acabar la fermentación alcohólica:

TABLA 3. MEDIAS DE LOS RESULTADOS DE LOS ANÁLISIS REALIZADOS TRAS LA FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA.

	pH	Acidez total (g/L)		Acidez volátil (g/L)		Azúcares reductores (g/L)		Grado alcohólico		
Te 1	3,77 ± 0,04	9,52	± 0,21	3,68	± 0,13	1,80	± 0,14	8,00	± 1,70	
Te 1+Q	3,86 ± 0,01	6,90	± 0,32	2,36	± 0,08	1,75	± 0,21	6,80	± 2,26	
Te 1+Q+U	3,93 ± 0,02	5,10	± 0,42	0,22	± 0,00	1,80	± 1,27	10,70	± 1,70	
Te 2	4,10 ± 0,04	3,56	± 0,16	0,42	± 0,03	2,05	± 0,07	11,20	± 0,28	
Te 2+Q	4,16 ± 0,02	3,64	± 0,37	0,40	± 0,00	2,15	± 0,35	13,75	± 1,06	
Te 2+Q+U	4,13 ± 0,02	3,34	± 0,05	0,46	± 0,03	1,05	± 0,21	12,80	± 0,99	
M	3,34 ± 0,01	6,24	± 0,13	0,35	± 0,03	2,25	± 0,07	11,70	± 0,28	
M+Q	3,31 ± 0,03	6,86	± 0,27	0,46	± 0,08	2,00	± 0,28	12,80	± 0,14	
M+Q+u	3,32 ± 0,01	6,60	± 0,21	0,46	± 0,03	1,35	± 1,20	12,70	± 0,28	

Te 1, Tempranillo de Corugo; Te1+Q, Tempranillo de Corugo + tanino de Quebracho; Te1+Q+U, Tempranillo de Corugo + tanino de Quebracho+ tanino de uva. Te 2, Tempranillo de Igea; Te 2+Q, Tempranillo de Igea+ tanino de Quebracho; Te 2+Q+U, Tempranillo de Igea+ tanino de Quebracho+ tanino de uva. M, mezcla de Tempranillo y Garnacha; M+Q , mezcla de Tempranillo y Garnacha+ tanino de Quebracho; M+Q+U , mezcla de Tempranillo y Garnacha+ tanino de Quebracho+ tanino de uva.

La medición del pH en vino o mosto, tiene un marcado interés, pues este dato es importante por su efecto sobre: microorganismos, matiz de color, sabor, potencial redox, relación entre el dióxido de azufre libre y combinado, quiebras debidas al fosfato y al hierro, etc.

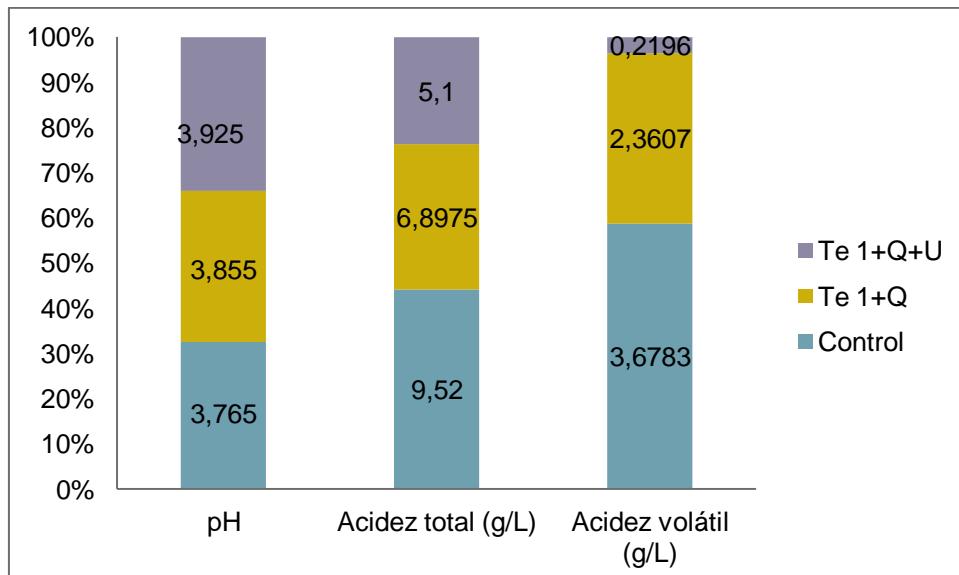
El valor de pH de los mostos destinados a los vinos de mesa, oscila entre 2,7 y 3,8, dependiente principalmente del grado de madurez de la uva de que preceden.

A su vez, la medición de la acidez total es también interesante, ya que en el vino se hallan los ácidos procedentes del mosto, además de muchos más, formados durante el proceso de fermentación, como son: acético, propiónico, láctico, succínico, pirúvico, glicólico, galacturónico, fumárico y otros.

Por otra parte, la determinación precisa de la acidez volátil en los vinos es de gran importancia en la industria enológica. Si los valores de la acidez volátil son elevados, indica que el vino ha sufrido la acción de microorganismos, principalmente bacterias del género *Acetobacter*. Cantidadas de 0,3-0,8 g/L, expresados en ácido acético, pueden considerarse normales.

Como podemos observar en las tablas, las muestras de vino obtenidas a partir del Tempranillo de Corugo (Te 1) se han picado; ya que muestran unos valores de acidez total muy elevados, llegando incluso a 9 g/L de ácido tartárico y un valor de acidez volátil, por encima de 2 g/L, indicando así una clara contaminación por bacterias acéticas. Esta alteración se confirmó también por el aroma de acetato de etilo claramente percibido en la nariz al catar estas muestras. En la gráfica 1 se muestra dicha información de una forma más visual.

GRÁFICA 1. ACIDEZ EN MUESTRAS DE VINO DE TEMPRANILLO DE CORUGO (TE 1) TRAS FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA.



Es interesante destacar que en esta etapa del proceso, la única muestra que no presenta signos de contaminación, es aquella a la que se añadieron los dos tipos de taninos utilizados en este estudio (Te1+Q+U). Esto confirma la acción antiséptica de los taninos: las glucoproteínas de las membranas de las bacterias son sensibles a la acción del tanino (Alexandre, J.L. y Álvarez, I., 2003). En nuestro caso parece actuar

retrasando el crecimiento bacteriano, ya que en las etapas posteriores todas las muestras presentan signos de picado.

➤ Fermentación maloláctica:

La fermentación maloláctica constituye una verdadera desacidificación biológica del vino. Cuanto más rico es el vino en ácido málico, y por lo tanto más ácido, más fuerte es la desacidificación y más marcado es el suavizamiento del vino.

Por efecto de la fermentación maloláctica los vinos tintos se hacen más suaves, armoniosos y maduros, ya que los taninos que contienen no ligan gustativamente con una acidez elevada.

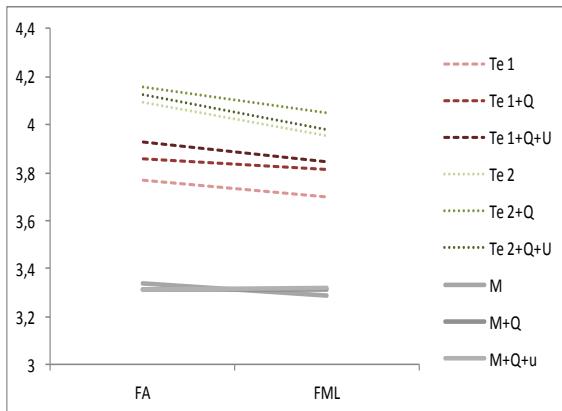
TABLA 2. MEDIAS DE LOS RESULTADOS DE LOS ANÁLISIS REALIZADOS TRAS LA FERMENTACIÓN MALOLÁCTICA.

	pH		Acidez total (g/L)		
Te 1	3,70	±	0,07	11,38	± 3,10
Te 1+Q	3,82	±	0,05	7,26	± 1,41
Te 1+Q+U	3,85	±	0,15	8,72	± 6,07
Te 2	3,96	±	0,04	4,56	± 0,61
Te 2+Q	4,05	±	0,03	3,62	± 0,08
Te 2+Q+U	3,98	±	0,01	3,77	± 0,03
M	3,29	±	0,06	6,28	± 0,08
M+Q	3,31	±	0,01	6,41	± 0,05
M+Q+u	3,32	±	0,03	6,36	± 0,08

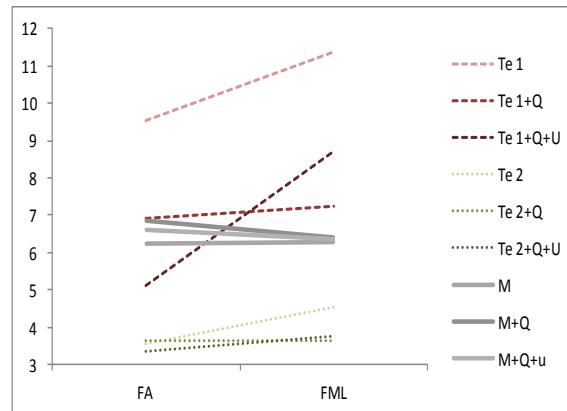
Te 1, Tempranillo de Corugo; Te1+Q, Tempranillo de Corugo + tanino de Quebracho; Te1+Q+U, Tempranillo de Corugo + tanino de Quebracho+ tanino de uva. Te 2, Tempranillo de Igea; Te 2+Q, Tempranillo de Igea+ tanino de Quebracho; Te 2+Q+U, Tempranillo de Igea+ tanino de Quebracho+ tanino de uva. M, mezcla de Tempranillo y Garnacha; M+Q , mezcla de Tempranillo y Garnacha+ tanino de Quebracho; M+Q+U , mezcla de Tempranillo y Garnacha+ tanino de Quebracho+ tanino de uva.

Sin embargo, en este caso podemos observar que no hay grandes cambios ni en el pH ni en la acidez total, exceptuando los vinos picados. En las gráficas 2 y 3 se muestra la evolución del pH y la acidez total de las muestras desde el final de la fermentación alcohólica hasta el final de la fermentación maloláctica.

GRÁFICA 2. EVOLUCIÓN PH.



GRÁFICA 3. EVOLUCIÓN ACIDEZ TOTAL.



Se ve claramente que el pH disminuye ligeramente o permanece prácticamente constante en todas las muestras. En cuanto a la acidez total, se aprecia un gran incremento en las muestras picadas, aquellas procedentes de Tempranillo de Corugo (Te 1). También se observa un aumento de la acidez total en la muestra control del Tempranillo de Igea (Te 2), que indica un inicio de la producción de acético, confirmado también por el aroma que desprende. En el resto de muestras, la acidez total apenas varía o disminuye ligeramente. Esto nos indica, que la fermentación maloláctica apenas ha tenido lugar en esta fase.

Con los análisis de ácido málico realizados, expuestos en la tabla 5, podemos afirmar con casi toda seguridad, que la fermentación maloláctica tuvo lugar de forma simultánea con la fermentación alcohólica.

TABLA 3. DETERMINACIÓN DE ÁCIDO MÁLICO

	Antes FML	Después FML
TE 1a	0,058	0,059
TE 2b	0,067	0,014
Ma + Q	0,974	0,045

Te 1a, Tempranillo de Corugo, réplica a; Te 2b, Tempranillo de Igea, réplica b; Ma +Q, mezcla de Tempranillo y Garnacha + tanino de quebracho, réplica a.

➤ Vino final:

Como quedó expuesto en el apartado de metodología, una vez transcurrida la fermentación maloláctica, se procedió al embotellado final y se añadió sulfuroso, dando lugar así al vino final. Tras las determinaciones pertinentes se verificó que el contenido de sulfuroso total en los vinos, estaba dentro de los límites establecidos, 160 mg/L (Flanzy, C., 2003).

TABLA 4.MEDIAS DE LOS RESULTADOS DE LOS ANÁLISIS REALIZADOS AL VINO FINAL.

	pH	Acidez total (g/L)			Sulfuroso (mg/L)			Total
		Libre		Combinado				
Te 1	3,67 ± 0,04	14,63 ± 1,59	6,40 ± 9,05	115,20 ± 31,68	121,60 ± 40,73			
Te 1+Q	3,89 ± 0,20	9,11 ± 7,37	17,60 ± 6,79	94,40 ± 70,14	112,00 ± 76,93			
Te 1+Q+U	3,64 ± 0,05	17,33 ± 1,59	28,80 ± 9,05	124,80 ± 36,20	153,60 ± 45,25			
Te 2	3,94 ± 0,11	7,16 ± 0,27	6,40 ± 0,00	6,40 ± 2,26	12,80 ± 2,26			
Te 2+Q	4,14 ± 0,05	3,64 ± 0,05	8,00 ± 2,26	4,80 ± 2,26	12,80 ± 0,00			
Te 2+Q+U	4,06 ± 0,01	3,75 ± 0,11	12,80 ± 9,05	5,60 ± 3,39	18,40 ± 5,66			
M	3,38 ± 0,01	5,93 ± 0,00	5,60 ± 5,66	16,00 ± 9,05	21,60 ± 14,71			
M+Q	3,36 ± 0,01	6,15 ± 0,00	3,20 ± 0,00	9,60 ± 9,05	12,80 ± 9,05			
M+Q+u	3,39 ± 0,00	6,08 ± 0,11	12,80 ± 9,05	17,60 ± 11,31	30,40 ± 20,36			

Te 1, Tempranillo de Corugo; Te1+Q, Tempranillo de Corugo + tanino de Quebracho; Te1+Q+U, Tempranillo de Corugo + tanino de Quebracho+ tanino de uva. Te 2, Tempranillo de Igea; Te 2+Q, Tempranillo de Igea+ tanino de Quebracho; Te 2+Q+U, Tempranillo de Igea+ tanino de Quebracho+ tanino de uva. M, mezcla de Tempranillo y Garnacha; M+Q , mezcla de Tempranillo y Garnacha+ tanino de Quebracho; M+Q+U , mezcla de Tempranillo y Garnacha+ tanino de Quebracho+ tanino de uva.

5.2. ANÁLISIS DEL COLOR Y DE LOS COMPUESTOS FENÓLICOS

Un aspecto que presenta una importancia capital para la elaboración de vinos de calidad es el grado de maduración de la uva. En este sentido es necesario señalar que el proceso de maduración influye no solo sobre la concentración de azúcares y de ácidos en las bayas, sino que también ejerce un gran efecto sobre las moléculas responsables del color y sobre otros muchos aspectos que condicionan en definitiva, la calidad del vino (Zamora, 2003).

Así pues, la determinación del Índice de polifenoles totales, tabla 7, nos da una idea aproximada de la maduración fenólica de la uva y de las características cromáticas del vino que van a producir.

TABLA 5. ÍNDICE DE POLIFENOLES TOTALES DE LOS MOSTOS.

128		
Te 1	32,20	± 0,00
Te 2	32,2	± 0,00
M	44,25	± 0,00

Te 1, Tempranillo de Corugo; Te 2, Tempranillo de Igea; M, mezcla de Tempranillo y Garnacha.

La vinificación en tinto, es un proceso verdaderamente complejo en el que tienen lugar de forma simultánea dos fenómenos: la fermentación alcohólica y la maceración. Es precisamente la superposición de estos dos fenómenos la que condiciona el desarrollo de la cinética de solubilización de las moléculas responsables del color.

Uno de los factores que se ha analizado en diversos estudios, es la influencia de la cepa de levadura sobre el color final del vino. En este sentido parece ser que las levaduras pueden actuar eliminando antocianos, absorbiendo antocianos sobre la pared y también hidrolizando los heterósidos de antociano, gracias a la actividad de β -glucosidasa (Zamora, 2003). En nuestro caso, hemos empleado la misma levadura durante todo el proceso de elaboración, eliminando así dicha variación en los resultados.

Por otro lado, es conocido que la fermentación maloláctica provoca una importante pérdida de color, ya que toda pérdida de acidez lleva aparejada una pérdida de color y brillo. Además, al finalizar esta, los vinos se sulfitan lo que comporta también una disminución del color ya que el bisulfito se combina con el catión flavilio produciendo su decoloración. Este efecto decolorante del SO₂, es evidentemente reversible, y no representa un valor lo suficientemente importante como para justificar la disminución de color (Zamora, 2003).

En la tabla 8 se muestran la evolución de los compuestos fenólicos durante todo el proceso de elaboración.

TABLA 6. EVOLUCIÓN DE LOS COMPUESTOS FENÓLICOS.

I280										Taninos (g/L)								
	FA			FML			FINAL			FA			FML			FINAL		
Te 1	42,65	±	1,91	55,55	±	1,06	42,00	±	2,97	1,86	±	0,85	2,00	±	0,04	2,12	±	0,15
Te 1+Q	47,70	±	5,37	45,05	±	2,47	45,75	±	2,19	1,49	±	0,11	2,09	±	0,14	2,40	±	0,36
Te 1+Q+U	55,25	±	10,68	69,70	±	4,24	64,70	±	11,31	1,65	±	0,23	2,93	±	0,34	3,99	±	1,71
Te 2	36,70	±	0,28	33,35	±	0,21	34,85	±	1,20	0,82	±	0,18	0,98	±	0,04	1,31	±	0,11
Te 2+Q	29,05	±	3,18	29,25	±	1,06	29,85	±	1,06	0,67	±	0,18	0,72	±	0,04	1,04	±	0,11
Te 2+Q+U	30,00	±	0,14	29,30	±	0,28	27,60	±	1,13	0,84	±	0,26	0,80	±	0,04	1,06	±	0,22
M	47,40	±	3,39	50,55	±	0,35	47,80	±	0,14	1,68	±	0,63	1,98	±	0,01	2,20	±	0,08
M+Q	47,10	±	1,70	48,75	±	1,06	45,55	±	0,64	0,83	±	0,22	2,00	±	0,23	1,92	±	0,12
M+Q+u	57,05	±	11,38	58,70	±	8,06	53,50	±	4,67	1,33	±	0,05	2,60	±	0,23	2,29	±	0,34
Antocianos (mg/L)															Color (420+520+620)			
	FA			FML			FINAL			FA			FML			FINAL		
Te 1	612,50	±	9,90	511,44	±	35,27	426,56	±	25,37	8,49	±	0,62	12,04	±	0,47	13,23	±	0,25
Te 1+Q	584,06	±	78,58	500,94	±	5,57	465,50	±	34,65	8,46	±	0,09	12,23	±	1,34	13,56	±	2,04
Te 1+Q+U	721,88	±	73,01	640,94	±	83,53	608,13	±	28,46	9,41	±	2,88	17,14	±	0,32	19,51	±	2,23
Te 2	474,69	±	52,59	352,19	±	3,09	415,63	±	32,17	5,99	±	0,02	9,03	±	0,42	4,87	±	0,73
Te 2+Q	367,06	±	3,09	297,94	±	9,28	343,00	±	12,37	5,09	±	1,29	6,03	±	0,25	3,02	±	0,28
Te 2+Q+U	356,56	±	42,69	337,31	±	12,99	375,81	±	20,42	4,81	±	0,34	6,71	±	0,07	5,48	±	0,16
M	547,75	±	23,51	453,25	±	4,95	511,44	±	15,47	12,21	±	0,37	15,74	±	0,08	6,92	±	1,37
M+Q	613,38	±	24,75	493,06	±	46,40	485,63	±	32,17	13,29	±	0,41	15,84	±	0,02	13,32	±	0,15
M+Q+u	702,63	±	133,64	544,25	±	33,41	534,63	±	28,46	15,64	±	2,00	18,03	±	2,33	13,63	±	2,00

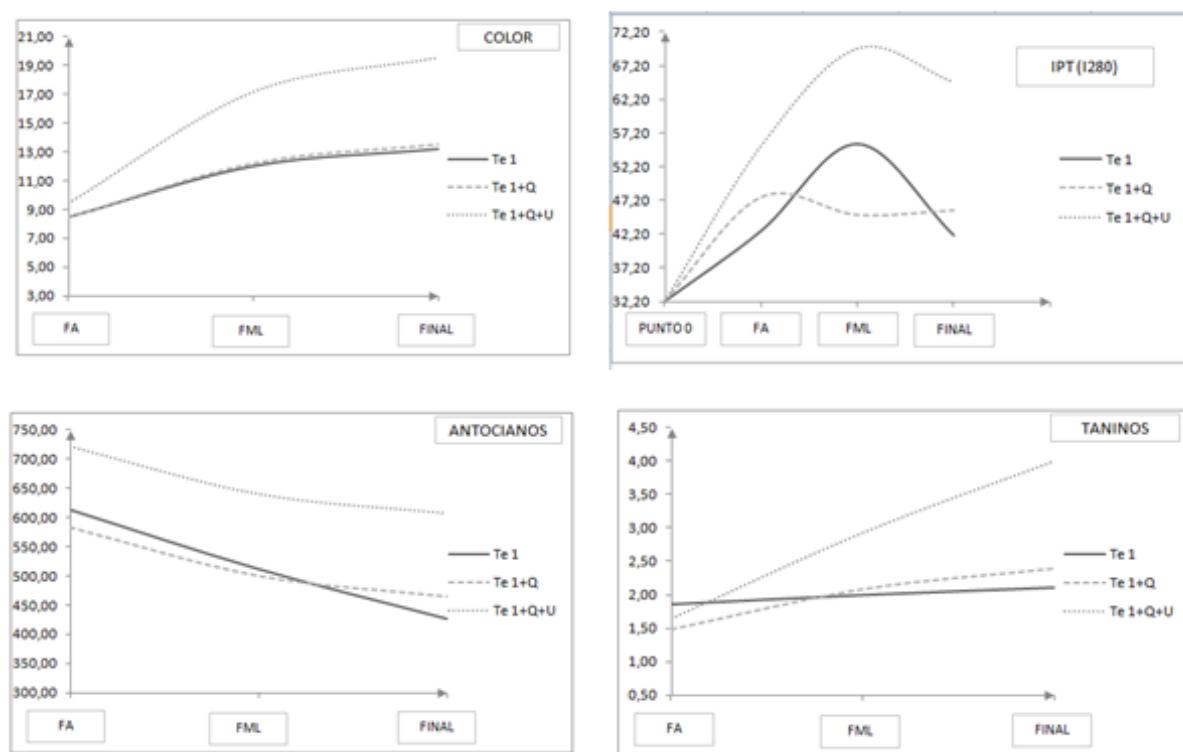
FA, tras Fermentación alcohólica, FML, tras fermentación maloláctica.

Te 1, Tempranillo de Corugo; Te1+Q, Tempranillo de Corugo + tanino de Quebracho; Te1+Q+U, Tempranillo de Corugo + tanino de Quebracho+ tanino de uva. Te 2, Tempranillo de Igea; Te 2+Q, Tempranillo de Igea+ tanino de Quebracho; Te 2+Q+U, Tempranillo de Igea+ tanino de Quebracho+ tanino de uva. M, mezcla de Tempranillo y Garnacha; M+Q , mezcla de Tempranillo y Garnacha+ tanino de Quebracho; M+Q+U , mezcla de Tempranillo y Garnacha+ tanino de Quebracho+ tanino de uva.

Como se ha citado con anterioridad, tanto el color como la estabilidad de un vino se fundamentan sobre su composición en compuestos fenólicos. En un vino joven, el color depende principalmente de su composición en antocianos libres. Posteriormente, a medida que el vino envejezca, los antocianos libres irán desapareciendo del vino debido a su degradación, su combinación directa o mediada por el etanal con flavanoles, o su transformación en nuevos pigmentos. El primer fenómeno entraña la pérdida irreparable del color del vino, mientras que los otros dos comportan una cierta estabilización del mismo (Zamora, 2003).

A continuación se presentan las gráficas donde se comparan las variaciones de color, IPT, antocianos y taninos de los tres tipos de vinos con sus correspondientes variaciones.

GRÁFICA 4. EVOLUCIÓN COMPUESTOS FENÓLICOS TEMPRANILLO DE CORUGO (TE 1).



PUNTO 0, medida en mosto; FA, tras Fermentación alcohólica; FML, tras fermentación maloláctica.
 Te 1, Tempranillo de Corugo; Te1+Q, Tempranillo de Corugo + tanino de Quebracho; Te1+Q+U, Tempranillo de Corugo + tanino de Quebracho+ tanino de uva.

En la gráfica 4, podemos observar que tanto la medida del color, como la del índice de polifenoles totales (IPT) y antocianos es superior en todas las etapas del proceso, en la muestra en la que se añadió taninos de quebracho y de uva (Te 1 +Q+U). La concentración de taninos, sin embargo, es mayor tras la fermentación maloláctica y en el vino final, pero no tras la fermentación alcohólica.

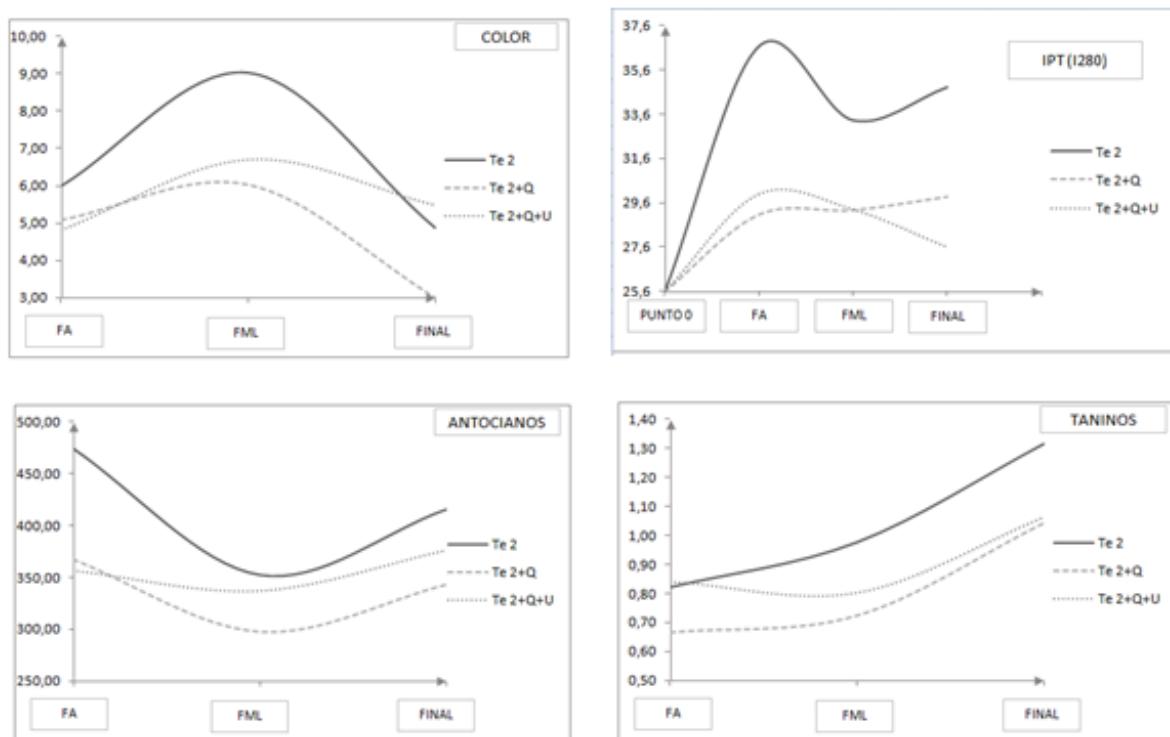
Las muestras Te 1 (control) y Te 1+Q (con tanino de Quebracho) parecen seguir el mismo patrón en cuanto a color, antocianos y taninos se refiere con pequeñas variaciones. No obstante, se aprecia una clara diferencia en el índice de polifenoles totales, donde Te 1+Q es superior a Te 1 al terminar la fermentación alcohólica (FA) pero al finalizar la fermentación maloláctica (FML) este disminuye ligeramente permaneciendo prácticamente constante durante todo el proceso. Te 1 aumenta considerablemente tras la FML pero disminuye bruscamente en el vino final tras la adición de SO₂.

A su vez, se realizaron ANOVAs de un factor comparando, para cada uno de los vinos producidos a partir de las uvas de diferentes zonas geográficas, la influencia de la adición de los distintos taninos comparándolo con el control. Este estudio se ha realizado en los tres momentos de vinificación: fermentación alcohólica, fermentación maloláctica y vino final.

Tras el análisis de los datos obtenidos mediante el estudio ANOVA (ver Anexo I, tabla 1), podemos concluir que: La adición de taninos exógenos en el vino si fue significativa en el aumento del color y del índice de polifenoles y en el aumento de la concentración de taninos en el vino tras la fermentación maloláctica.

Sin embargo, en el vino final, sólo es significativa dicha adición en el aumento de la concentración de antocianos.

GRÁFICA 5. EVOLUCIÓN COMPUESTOS FENÓLICOS TEMPRANILLO DE IGEA (TE 2).

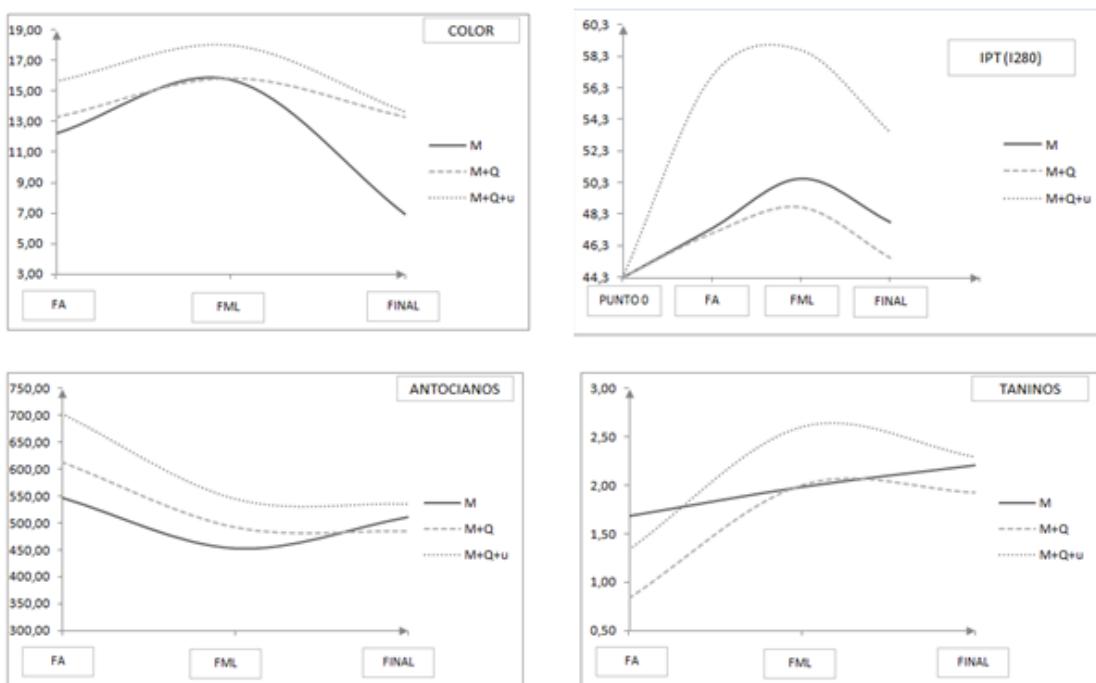


PUNTO 0, medida en mosto; FA, tras Fermentación alcohólica; FML, tras fermentación maloláctica
 Te 2, Tempranillo de Igea; Te 2+Q, Tempranillo de Igea+ tanino de Quebracho; Te 2+Q+U, Tempranillo de Igea+ tanino de Quebracho+ tanino de uva.

En el caso del vino procedente del Tempranillo de Igea, vemos en la gráfica 5, que no sólo no mejoran las características cromáticas del vino con la adición de taninos, sino que el vino con mayor índice de polifenoles totales y mayor concentración de antocianos y taninos en todo el proceso de elaboración es la muestra control. Sólo en el caso de la intensidad colorante, se observa que en la última etapa, la muestra con tanino de Quebracho y tanino de uva, está por encima de las otras dos, diferencia que es significativa (ver Anexo I, tabla 2).

A continuación se muestran las graficas obtenidas (gráfica 6) de los análisis de las características colorimétricas y compuestos fenólicos realizados al vino obtenido a partir de la mezcla de garnacha y tempranillos (M).

GRÁFICA 6. EVOLUCIÓN COMPUESTOS FENÓLICOS MEZCLA (M).



PUNTO 0, medida en mosto; FA, tras Fermentación alcohólica; FML, tras fermentación maloláctica; M, mezcla de Tempranillo y Garnacha; M+Q, mezcla de Tempranillo y Garnacha+ tanino de Quebracho; M+Q+U , mezcla de Tempranillo y Garnacha+ tanino de Quebracho+ támido de uva.

La muestra M+Q+U muestra más intensidad de color, mayor índice de polifenoles totales y mayor concentración de antocianos en todas las etapas. En cuanto a la concentración de taninos, se muestra superior tras la FML y la fase final, pero no tras la FA.

Aparentemente todas las características cromáticas se ven mejoradas con la adición de ambos taninos, sin embargo, solo el color es una diferencia significativa (ver Anexo I, tabla 3).

La muestra M+Q aparece con mayor intensidad de color que la muestra control en todos las etapas y por el contrario, el índice de polifenoles totales es inferior al control en todos los casos. La concentración de antocianos en M+Q es superior al control, salvo tras la adición de SO₂, donde el control es ligeramente superior. Por último, la muestra control (M) tiene una concentración superior en taninos en todas las etapas, siendo dicha concentración muy similar a la de M+Q+U.

6. CONCLUSIONES

El color del vino es uno de los aspectos más importantes del vino, ya que condiciona al consumidor sobre la calidad de este. Consiguientemente el aumento del color produce un aumento en la calidad, pero también puede dar lugar a un aumento en los beneficios de la empresa.

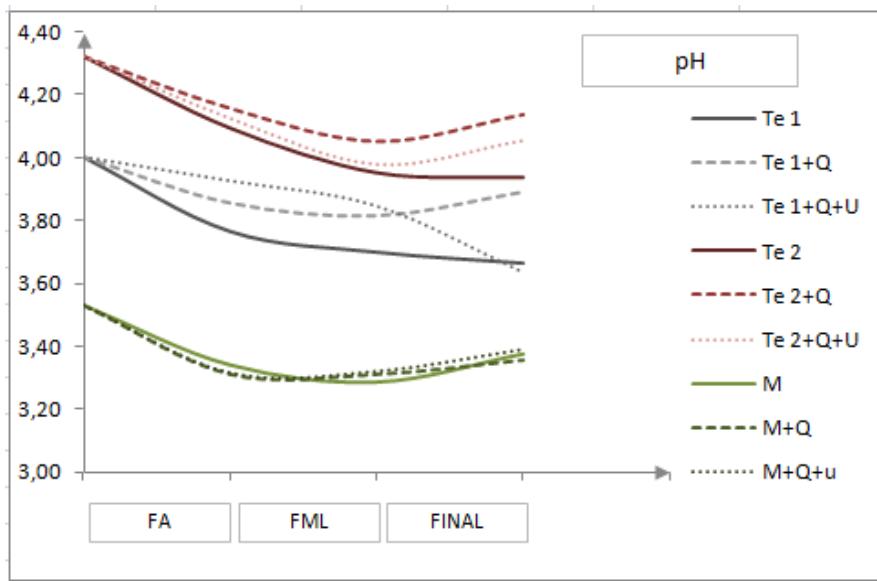
Los resultados obtenidos en el presente estudio nos conducen a afirmar que sólo la adición de taninos de Quebracho en combinación con tanino de uva, tienen un efecto positivo en el color del vino, aumentando la intensidad de éste frente al control y frente a la muestra con tanino de Quebracho, sin embargo, no se apreciaron ninguna diferencias significativas en el índice de polifenoles totales o la concentración de taninos y antocianos. Esto podría ser interesante, ya que la adición no modifica la composición de compuestos fenólicos pero sí proporciona una estabilidad en el color. Cabe destacar que las adiciones se llevaron a cabo en las concentraciones recomendadas por el fabricante, pero no se tuvieron en cuenta los posibles cambios organolépticos producidos como fruto de dicha combinación, tales como el aumento de la dureza y astringencia del vino.

Por otro lado, también podemos concluir, que la adición única de tanino de Quebracho en las concentraciones recomendadas por el fabricante, no tiene ningún efecto significativo en el color del vino. Por lo que la práctica, tan extendida, de añadir tanino exógeno sin un estudio previo con el objeto de mejorar las características del vino, es inútil y con un coste económico elevado para la empresa.

En el ensayo realizado en el vino procedente del Tempranillo de Corugo (Te 1), no se observó ninguna diferencia significativa en la intensidad de color en la fase final de la elaboración del vino (una vez añadido SO₂), sin embargo si se produjo una diferencia significativa en la concentración de antocianos en esta etapa. No obstante, si se produjeron diferencias significativas tras la fermentación maloláctica en intensidad de color, índice de polifenoles totales y concentración de taninos. Este diferencia de resultados en ambas etapas, puede deberse al cambio desigual de pH debido al picado del vino. Hemos de tener en cuenta que los antocianos presentan un equilibrio en función del pH entre formas químicas diferentes, lo que condiciona enormemente su color. Como podemos observar en la gráfica 7, el resto de las muestras siguen una

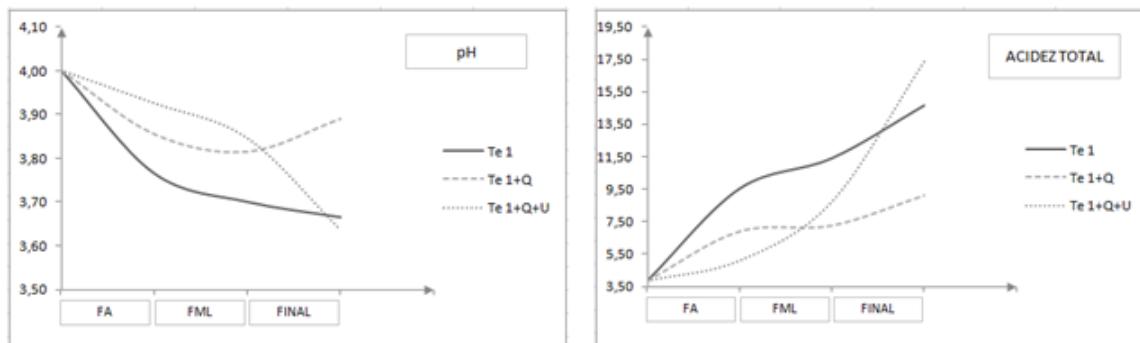
evolución más o menos similar respecto a las otras muestras de la misma naturaleza. Por ello, podría decirse que este ensayo no es concluyente, ya que al estropearse el vino por la acción de bacterias acéticas, existen variaciones que están fuera de nuestro alcance, y por lo tanto no comparables.

GRÁFICA 7. EVOLUCIÓN DEL pH



Al mismo tiempo, cabe recordar que los taninos tienen un efecto antiséptico. En nuestro caso, queda reflejado en la gráfica 1 que parece haber un retraso del crecimiento bacteriano en la muestra en la que se adicionó tanino de Quebracho y tanino de uva. Por otra parte, parece que la acción antiséptica más estable a lo largo del proceso fue la adición únicamente de tanino de quebracho (gráfica 8). Por consiguiente, sería interesante abrir una nueva vía de investigación para corroborar la capacidad antiséptica de estos taninos.

GRÁFICA 8. EVOLUCIÓN pH Y ACIDEZ TOTAL.



Como conclusión final, queda demostrado el aumento de la intensidad del color en vino tinto, adicionando de forma combinada tanino de Quebracho y tanino de uva en la fase pre-fermentativa y en la fase post-fermentativa, respectivamente.

CONCLUSIONS

The wine color is one of the most important aspects of wine, because it affects the consumer about its quality. Accordingly color enhancing produces an increase in the quality, but also can result in an increase in profits of the company.

The results obtained in the present study lead us to say that only Quebracho tannin addition in combination with grape tannins have a positive effect on the color of wine, increasing its intensity versus the control and the sample with only quebracho tannin. However, no significant differences were observed in the total polyphenol index or in the concentration of total tannins and anthocyanins. This might be interesting, since the addition does not modify the phenolic composition but provides color stability. Note that the additions were carried out at concentrations recommended by the manufacturer, but any possible sensory changes produced, such as increased hardness and wine astringency were not taken into account.

On the other hand, we can also conclude that the unique addition of quebracho tannin in concentrations recommended by the manufacturer does not have any significant effect on wine color. So widespread practice of adding exogenous tannin without a prior study in order to improve the characteristics of the wine is useless and has a high economic cost to the company.

In the trial conducted in the wine from the Tempranillo Corugo (Te 1), no significant difference in the intensity of color in the final phase of wine making (once added SO₂) was showed. However there was a significant difference in anthocyanin concentration at this stage. Nevertheless, there were significant differences after malolactic fermentation in color intensity, total polyphenol index and concentration of total tannins. This

difference results in both stages may be caused by the unequal pH change due the wine turned sour. Just keep in mind that anthocyanins have a pH-dependent equilibrium between different chemical forms which greatly affects its color (Zamora, 2003). As seen in Graph 7, the rest of the samples follow a roughly similar evolution compared to the other samples of the same nature. So it could be said that this test is not conclusive because of the damage in the wine by the action of acetic acid bacteria, there are variations that are beyond our control, and therefore not comparable.

At the same time remember that tannins have an antiseptic effect. In our case, is reflected in Figure 1 that appears to be a delay of bacterial growth in the sample that was added quebracho tannin and grape tannin. Moreover, it seems that the more stable antiseptic action along the process was the addition of only quebracho tannin (Graph 8). Therefore it would be interesting to open a new research pathway to corroborate these tannins antiseptic ability.

As a final conclusion it is demonstrated an increase of color intensity in red wine adding both tannin in combination: quebracho tannin and grape tannin in the pre - fermentation and post -fermentation phase, respectively.

7. IDENTIFICACIÓN DE LAS APORTACIONES QUE EN MATERIA DE APRENDIZAJE, HAN SUPUESTO LA REALIZACIÓN DE ESTA ASIGNATURA

1. Capacidad de autogestión del tiempo de trabajo: debido a mi situación personal (participación en el programa Erasmus en el segundo cuatrimestre) he tenido que gestionar y sacar el máximo partido al tiempo disponible para la realización de la parte técnica de este proyecto, puesto que tenía que compatibilizar las horas de laboratorio con clase, trabajos, exámenes, etc.
2. Capacidad de trabajo en un laboratorio: las horas empleadas en el laboratorio me han ayudado a trabajar con seguridad y soltura.
3. Aprendizaje en cuanto a búsqueda de documentos científico-técnicos y capacidad de síntesis se refiere: Como en cualquier trabajo de investigación, he tenido que recurrir a bibliotecas y a numerosas bases de datos, leyendo, comprendiendo y extrayendo lo relevante para este trabajo. Con ello, mi comprensión de textos científicos ha mejorado notablemente.
4. Mejora en la estructuración, desarrollo y expresión en textos escritos. Un trabajo de este calibre, requiere una buena estructuración. Con la ayuda de mi tutora he aprendido la importancia de una buena estructura y de escribir únicamente la información relevante a la hora de elaborar un proyecto. Considero además, que mi expresión escrita al elaborar textos científicos también se ha visto mejorada.
5. Aumento de mi seguridad personal como futura científica y tecnóloga de alimentos: ahora sé con total certeza, que si en el futuro tengo que realizar un trabajo de investigación ya sea en la universidad o en una empresa, podré afrontarlo sin problemas.

8. EVALUACIÓN DE LA ASIGNATURA Y SUGERENCIAS DE MEJORA

Considero esta asignatura necesaria y sobre todo muy positiva para el alumno. Como he expuesto en el apartado anterior, la realización de este trabajo me ha aportado seguridad en mi misma como profesional y a la vez, me ha hecho una persona más competente.

Sin embargo, sugiero un aumento de los ECTS de esta asignatura, ya que no se corresponden con las horas reales de trabajo.

9. BIBLIOGRAFÍA

1. Adams, D.O., & Scholz, R.C., 2007. Tannins – the problem of extraction. In *13th Australian Wine industry technical conference* (pp. 160-164). Adelaide: the Australian Wine industry technical conference Inc.
2. Aleixandre, J. L., Álvarez. I., 2003. Tecnología enológica. Ed. Síntesis.
3. Bate-Smith, E.C., 1977. Astringent tannins of Acer species. *Phytochemistry*, 16 (9), 1421-1426.
4. Bautista-Ortín, A. B., Fernandez-Fernandez, J.I., López-Roca, J.M., & Gómez-Plaza, E., 2007. The effects of enological practices in anthocyanins, phenolic compounds and wine colour and their dependence on grape characteristics. *Journal of Food Composition and Analysis*, 20(7), 546-552.
5. Downey, M. O., Dokoozlian, N. K., & Kistic, M.P., 2006. Cultural practice and environmental impacts on the flavonoid composition of grapes and wine: A review of recent research. *American Journal of Enology and Viticulture*, 57 (3), 257-268.
6. Flanzy, C., 2003. Enología: Fundamentos científicos y tecnológicos. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid.
7. García-Barceló, J., 1990. Técnicas analíticas para vinos. Editorial GAB.
8. Glories, Y., 1984. La couleur des vins rouges. *Conn. Vigne Vin*, 18.
9. Hanlin R. L., & Downey, M.O., 2009. Condensed tannin accumulation and composition in skin of Shiraz and Cabernet Sauvignon grapes during berry development. *American Journal of Enology and Viticulture*, 60 (1), 13-23.
10. Harbertson, J.F., Giuseppina P. Parpinello, Hildegarde Heymann, Mark O. Downey, 2011. Impact of exogenous tannin additions on wine chemistry and wine sensory character. *Journal of Food Chemistry* 131 (2012) 999-1008
11. Harbertson, J.F., Mireles, M.S., Harwood, E.D., Wellwe, K.M., & Ross, C.F., 2009. Chemical and sensory effects of Saignée, water addition and extended maceration on high Brix must. *Journal of Enology and Viticulture*, 60 (4), 450-460.
12. Haslam, E., 1998. *Practical polyphenolics: from structure to molecular recognition and physiological action* (1 st ed.). Cambridge: Cambridge University Press.
13. Hill, M., & Kaine, G., 2007. The market potential of tannin related innovations in the wine industry. Tatura: Victorian Department of Primary Industries, pp. 41.
14. Ishimaru, K., Nonaka, G.I., & Nishioka, I., 1987. Tannins and related compounds. Isolation and characterization of Acutissimins A and B, novel tannins from *Quercus* and *Castanea* species. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 35(2), 602-610.
15. Kovac, V., Alonso, E., & Revilla, E., 1995. The effect of adding supplementary quantities of seeds during fermentation on the phenolic composition of wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 46 (3), 363-367.

16. Kovac, V., Alonso, E., Bourzeix, M., & Revilla, E., 1992. Effect of several enological practices on the content of catechins and proanthocyanidins of red wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40, 1953-1957.
17. Parker, M., Smith, P., Birse, M., Francis, I., Kwiatkowski, M., Lattey, K., Liebich, B. and Herderich, M., 2007. The effects of pre- and post-ferment additions of grape derived tannin on Shiraz wine sensory properties and phenolic composition. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 13:30-37
18. Main, G. L. and Morris, J.R., 2007. Effect of macerating enzymes and post-fermentation grape seeds tannin on the color of Cynthiana wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 46 (3), 363-367.
19. Malien-Aubert, C., Dangles, O., & Amiot, M.J., 2002. Influence of procyanidins on the colour stability of oenin solutions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50 , 3299-3305.
20. Mayer, W., Gabler, W., Riester, A., & Korger, H., 1967. Die isolierung von castalagin, vescalagin, castalin abd vescalin. *Liebigs Annalen der Chemie*, 751, 177-181.
21. McCulloch, Charles E. y Searle, Shayle R., 2001. Generalized, linear and mixed models. John Wiley & Sons, INC.
22. Mueller-Harvey, I., Hartley, R.D., & Reed, J.D., 1987. Characterization of phenolic compounds, including flavonoids and tannins, of ten ethiopian browse species by high performance liquid chromatography. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 39(1), 1-14.
23. Obreque-Slíer, E., Peña-Neira, A., López-Solís, R., Ramírez-Escudero, C., & Zamora-Marín, F., 2009. Phenolic characterization of comercial enological tannins. *European Food Research and Technology*, 229,859-866.
24. Ribéreau-Gayon, P. y Stonestreet, E. 1965. Le dosage des anthocyanes dans le vin rouge. *Bull. Soc. Chim.*, 9, 2649-2652.
25. Ribéreau-Gayon, P. y Stonestreet, E. 1966. Dosage des tanins du vin rouge et determination de leur structure. *Chim. Anal.*, 48, 188-196.
26. Ribéreau-Gayon, P., 1970. Le dosage des composés phénoliques totaux dans les vines rouges. *Chim. Anal.*, 52,627-631.
27. Ribéreau-Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A. y Dubourdieu (1999). Clarification and stabilization treatments: fining wine. En “Handbrook of Enology, Vol 2 The chemistry of wine, stabilization and treatments”. Jhon Wiley & sons, Ltd, Chichester, pp 271-279.
28. Ribéreau-Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A., Dubourdieu, D., 2006. Handbook of Enology. Vol 2. Chemistry of wine, Stabilaztion and Treatments. John wiley & Sons Ltd, Chichester. Pp 141.
29. Singleton, V.L., 1988. Wine phenols. In H.-F. Linskens & J.F. Jackson (Eds). *Wine analysis* (Vol. 6, pp. 173-218). Berlin: Springer-Verlag.
30. Somers, C., 2003. Red wines: Pigment phenomena in vinification and maduration. *Wine Industry Journal*, 18 (2), 30-37.
31. Usseglio-Tomasset, L. Química enológica. Ediciones Mundi-prensa 1998 capitulo V. pag. 73.

32. Vidal, S., Courcoux, P., Francis, L., Kwiatkowski, M., GAwel, R., Williams, P., 2004. Use of an experimental design approach for evaluation of key wine components of mouth-feel perception. *Food Quality and Preference*, 15, 209-217.
33. Zamora Marín, F., 2003. Elaboración y crianza del vino tinto: Aspectos científicos y prácticos. Ediciones Mundi-Prensa.
34. Zoecklein, B.W., Fugelsang, K.C., Gump, B.H., Nury, F.S., 2001. Análisis y producción de vino. Editorial Acribia, S.A., Zaragoza, España.

10. ANEXO I

Tabla 7. ANOVA Tempranillo de Corugo (Te 1)

Muestra	Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	gl	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Az FA	Entre grupos	0,003	2	0,002	0,003	0,997	9,552
	Dentro de los grupos	1,685	3	0,562			
	Total	1,688	5				
pH FA	Entre grupos	0,026	2	0,013	22,057	0,016	9,552
	Dentro de los grupos	0,002	3	0,001			
	Total	0,027	5				
At FA	Entre grupos	19,763	2	9,882	90,240	0,002	9,552
	Dentro de los grupos	0,329	3	0,110			
	Total	20,092	5				
Av FA	Entre grupos	12,189	2	6,094	802,853	0,000	9,552
	Dentro de los grupos	0,023	3	0,008			
	Total	12,211	5				
Alc FA	Entre grupos	15,960	2	7,980	2,200	0,258	9,552
	Dentro de los grupos	10,880	3	3,627			
	Total	26,840	5				
Tan FA	Entre grupos	0,135	2	0,068	0,259	0,787	9,552
	Dentro de los grupos	0,784	3	0,261			
	Total	0,919	5				
Ant FA	Entre grupos	21175,911	2	10587,956	2,738	0,211	9,552
	Dentro de los grupos	11602,664	3	3867,555			
	Total	32778,576	5				
IPT FA	Entre grupos	160,843	2	80,422	1,647	0,329	9,552

Muestra	Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	gl	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
	Dentro de los grupos	146,530	3	48,843			
	Total	307,373	5				
Col FA	Entre grupos	1,173	2	0,586	0,202	0,827	9,552
	Dentro de los grupos	8,693	3	2,898			
	Total	9,866	5				
pH FML	Entre grupos	0,023	2	0,012	1,192	0,416	9,552
	Dentro de los grupos	0,030	3	0,010			
	Total	0,053	5				
At FML	Entre grupos	17,496	2	8,748	0,541	0,630	9,552
	Dentro de los grupos	48,473	3	16,158			
	Total	65,968	5				
Tan FML	Entre grupos	1,050	2	0,525	11,489	0,039	9,552
	Dentro de los grupos	0,137	3	0,046			
	Total	1,187	5				
Ant FML	Entre grupos	24320,333	2	12160,167	4,421	0,128	9,552
	Dentro de los grupos	8251,523	3	2750,508			
	Total	32571,857	5				
IPT FML	Entre grupos	612,063	2	306,032	36,360	0,008	9,552
	Dentro de los grupos	25,250	3	8,417			
	Total	637,313	5				
Col FML	Entre grupos	33,405	2	16,702	23,517	0,015	9,552
	Dentro de los grupos	2,131	3	0,710			
	Total	35,535	5				
pH FINAL	Entre grupos	0,078	2	0,039	2,717	0,212	9,552
	Dentro de los grupos	0,043	3	0,014			
	Total	0,121	5				

Muestra	Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	gl	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
At FINAL	Entre grupos	70,082	2	35,041	1,770	0,311	9,552
	Dentro de los grupos	59,403	3	19,801			
	Total	129,485	5				
Tan FINAL	Entre grupos	4,092	2	2,046	2,000	0,281	9,552
	Dentro de los grupos	3,068	3	1,023			
	Total	7,160	5				
Ant FINAL	Entre grupos	36548,641	2	18274,320	20,656	0,018	9,552
	Dentro de los grupos	2654,039	3	884,680			
	Total	39202,680	5				
IPT FINAL	Entre grupos	592,303	2	296,152	6,273	0,085	9,552
	Dentro de los grupos	141,625	3	47,208			
	Total	733,928	5				
Col FINAL	Entre grupos	49,923	2	24,961	8,138	0,061	9,552
	Dentro de los grupos	9,202	3	3,067			
	Total	59,125	5				
SO ₂ L FINAL	Entre grupos	501,760	2	250,880	3,585	0,160	9,552
	Dentro de los grupos	209,920	3	69,973			
	Total	711,680	5				
SO ₂ C FINAL	Entre grupos	965,973	2	482,987	0,200	0,829	9,552
	Dentro de los grupos	7234,560	3	2411,520			
	Total	8200,533	5				
SO ₂ T FINAL	Entre grupos	1897,813	2	948,907	0,296	0,763	9,552
	Dentro de los grupos	9625,600	3	3208,533			
	Total	11523,413	5				

FA, Fermentación alcohólica; FML, Fermentación maloláctica. Az, azúcares reductores; At, Acidez total; Av, acidez volátil; Alc, grado alcohólico; Tan, taninos; Ant, antocianos; IPT, índice de polifenoles totales; Col, color; SO₂ L, SO₂ libre; SO₂ C, SO₂ combinado; SO₂ T, SO₂ total.

Tabla 8. ANOVA Tempranillo de Igea (Te 2)

Muestra	Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	gl	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Az FA	Entre grupos	1,480	2	0,740	12,686	0,034	9,552
	Dentro de los grupos	0,175	3	0,058			
	Total	1,655	5				
pH FA	Entre grupos	0,004	2	0,002	2,512	0,229	9,552
	Dentro de los grupos	0,002	3	0,001			
	Total	0,006	5				
At FA	Entre grupos	0,098	2	0,049	0,875	0,502	9,552
	Dentro de los grupos	0,167	3	0,056			
	Total	0,265	5				
Av FA	Entre grupos	0,003	2	0,002	3,500	0,164	9,552
	Dentro de los grupos	0,001	3	0,000			
	Total	0,004	5				
Alc FA	Entre grupos	6,643	2	3,322	4,561	0,123	9,552
	Dentro de los grupos	2,185	3	0,728			
	Total	8,828	5				
Tan FA	Entre grupos	0,036	2	0,018	0,418	0,692	9,552
	Dentro de los grupos	0,131	3	0,044			
	Total	0,167	5				
Ant FA	Entre grupos	17097,938	2	8548,969	5,578	0,098	9,552

Muestra	Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	gl	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
	Dentro de los grupos	4597,961	3	1532,654			
	Total	21695,898	5				
IPT FA	Entre grupos	69,543	2	34,772	10,202	0,046	9,552
	Dentro de los grupos	10,225	3	3,408			
	Total	79,768	5				
Col FA	Entre grupos	1,511	2	0,755	1,274	0,398	9,552
	Dentro de los grupos	1,778	3	0,593			
	Total	3,289	5				
pH FML	Entre grupos	0,010	2	0,005	6,467	0,082	9,552
	Dentro de los grupos	0,002	3	0,001			
	Total	0,012	5				
At FML	Entre grupos	1,014	2	0,507	4,015	0,142	9,552
	Dentro de los grupos	0,379	3	0,126			
	Total	1,393	5				
Tan FML	Entre grupos	0,066	2	0,033	19,704	0,019	9,552
	Dentro de los grupos	0,005	3	0,002			
	Total	0,071	5				
Ant FML	Entre grupos	3143,146	2	1571,573	17,823	0,022	9,552
	Dentro de los grupos	264,523	3	88,174			

Muestra	Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	gl	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
	Total	3407,669	5				
IPT FML	Entre grupos	22,143	2	11,072	26,572	0,012	9,552
	Dentro de los grupos	1,250	3	0,417			
	Total	23,393	5				
Col FML	Entre grupos	9,886	2	4,943	61,708	0,004	9,552
	Dentro de los grupos	0,240	3	0,080			
	Total	10,126	5				
pH FINAL	Entre grupos	0,038	2	0,019	3,768	0,152	9,552
	Dentro de los grupos	0,015	3	0,005			
	Total	0,054	5				
At FINAL	Entre grupos	16,056	2	8,028	285,433	0,000	9,552
	Dentro de los grupos	0,084	3	0,028			
	Total	16,140	5				
Tan FINAL	Entre grupos	0,091	2	0,046	1,906	0,292	9,552
	Dentro de los grupos	0,072	3	0,024			
	Total	0,163	5				
Ant FINAL	Entre grupos	5290,724	2	2645,362	4,944	0,112	9,552
	Dentro de los grupos	1605,133	3	535,044			
	Total	6895,857	5				
IPT FINAL	Entre grupos	55,083	2	27,542	21,461	0,017	9,552

Muestra	Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	gl	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
	Dentro de los grupos	3,850	3	1,283			
	Total	58,933	5				
Col FINAL	Entre grupos	6,585	2	3,292	15,660	0,026	9,552
	Dentro de los grupos	0,631	3	0,210			
	Total	7,215	5				
SO ₂ L FINAL	Entre grupos	44,373	2	22,187	0,765	0,539	9,552
	Dentro de los grupos	87,040	3	29,013			
	Total	131,413	5				
SO ₂ C FINAL	Entre grupos	2,560	2	1,280	0,176	0,846	9,552
	Dentro de los grupos	21,760	3	7,253			
	Total	24,320	5				
SO ₂ T FINAL	Entre grupos	41,813	2	20,907	1,690	0,322	9,552
	Dentro de los grupos	37,120	3	12,373			
	Total	78,933	5				

FA, Fermentación alcohólica; FML, Fermentación maloláctica. Az, azúcares reductores; At, Acidez total; Av, acidez volátil; Alc, grado alcohólico; Tan, taninos; Ant, antocianos; IPT, índice de polifenoles totales; Col, color; SO₂ L, SO₂ libre; SO₂ C, SO₂ combinado; SO₂ T, SO₂ total.

Tabla 9. ANOVA Mezcla (M)

Muestra	Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	gl	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Az FA	Entre grupos	0,863	2		0,432	0,846	
	Dentro de los grupos	1,530	3		0,510		
	Total	2,393	5				
pH FA	Entre grupos	0,001	2		0,001	1,476	
	Dentro de los grupos	0,001	3		0,000		
	Total	0,002	5				
At FA	Entre grupos	0,388	2		0,194	4,360	
	Dentro de los grupos	0,133	3		0,044		
	Total	0,521	5				
Av FA	Entre grupos	0,003	2		0,002	3,500	
	Dentro de los grupos	0,001	3		0,000		
	Total	0,004	5				
Alc FA	Entre grupos	1,480	2		0,740	12,333	
	Dentro de los grupos	0,180	3		0,060		
	Total	1,660	5				
Tan FA	Entre grupos	0,036	2		0,018	0,418	
	Dentro de los grupos	0,131	3		0,044		
	Total	0,167	5				
Ant FA	Entre grupos	24172,313	2	12086,156	1,906	0,292	9,552

<i>Muestra</i>	<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>gl</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
	Dentro de los grupos	19025,781	3	6341,927			
	Total	43198,094	5				
IPT FA	Entre grupos	128,143	2	64,072	1,335	0,385	9,552
	Dentro de los grupos	144,005	3	48,002			
	Total	272,148	5				
Col FA	Entre grupos	12,273	2	6,136	4,288	0,132	9,552
	Dentro de los grupos	4,293	3	1,431			
	Total	16,566	5				
pH FML	Entre grupos	0,001	2	0,001	0,386	0,709	9,552
	Dentro de los grupos	0,005	3	0,002			
	Total	0,006	5				
At FML	Entre grupos	0,017	2	0,009	1,682	0,324	9,552
	Dentro de los grupos	0,015	3	0,005			
	Total	0,033	5				
Tan FML	Entre grupos	0,495	2	0,247	6,860	0,076	9,552
	Dentro de los grupos	0,108	3	0,036			
	Total	0,603	5				
Ant FML	Entre grupos	8324,130	2	4162,065	3,790	0,151	9,552
	Dentro de los grupos	3294,102	3	1098,034			

<i>Muestra</i>	<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>gl</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
	Total	11618,232	5				
IPT FML	Entre grupos	112,443	2	56,222	2,547	0,226	9,552
	Dentro de los grupos	66,230	3	22,077			
	Total	178,673	5				
Col FML	Entre grupos	6,714	2	3,357	1,847	0,300	9,552
	Dentro de los grupos	5,453	3	1,818			
	Total	12,167	5				
pH FINAL	Entre grupos	0,001	2	0,001	18,500	0,021	9,552
	Dentro de los grupos	0,000	3	0,000			
	Total	0,001	5				
At FINAL	Entre grupos	0,052	2	0,026	7,000	0,074	9,552
	Dentro de los grupos	0,011	3	0,004			
	Total	0,064	5				
Tan FINAL	Entre grupos	0,147	2	0,074	1,594	0,338	9,552
	Dentro de los grupos	0,139	3	0,046			
	Total	0,286	5				
Ant FINAL	Entre grupos	2403,297	2	1201,648	1,729	0,317	9,552
	Dentro de los grupos	2084,414	3	694,805			
	Total	4487,711	5				
IPT FINAL	Entre grupos	67,170	2	33,585	4,537	0,124	9,552

<i>Muestra</i>	<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>gl</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
	Dentro de los grupos	22,205	3	7,402			
	Total	89,375	5				
Col FINAL	Entre grupos	57,299	2	28,650	14,547	0,029	9,552
	Dentro de los grupos	5,908	3	1,969			
	Total	63,208	5				
SO₂ L FINAL	Entre grupos	99,840	2	49,920	1,315	0,389	9,552
	Dentro de los grupos	113,920	3	37,973			
	Total	213,760	5				
SO₂ C FINAL	Entre grupos	71,680	2	35,840	0,368	0,719	9,552
	Dentro de los grupos	291,840	3	97,280			
	Total	363,520	5				
SO₂ T FINAL	Entre grupos	309,760	2	154,880	0,652	0,582	9,552
	Dentro de los grupos	712,960	3	237,653			
	Total	1022,720	5				

FA, Fermentación alcohólica; FML, Fermentación maloláctica. Az, azúcares reductores; At, Acidez total; Av, acidez volátil; Alc, grado alcohólico; Tan, taninos; Ant, antocianos; IPT, índice de polifenoles totales; Col, color; SO₂ L, SO₂ libre; SO₂ C, SO₂ combinado; SO₂ T, SO₂ total

