



Universidad
Zaragoza

Trabajo Fin de Grado

Efecto de distintas operaciones prefermentativas
en el color del vino tinto

Autor/es

Fernando Tovar Langoyo

Director/es

Purificación Hernández Orte

Facultad de Veterinaria

2014

Índice

1.- Introducción.....	2
2.- Justificación y objetivos.....	5
3.- Material y métodos.....	5
3.1.- Vinificación.....	5
3.1.1.- Operaciones prefermentativas.....	5
3.1.2.- Fermentación alcohólica, fermentación maloláctica y operaciones postfermentativas.....	7
3.2.- Análisis.....	9
4.- Resultados y discusión.....	12
4.1.- Resultados.....	12
4.1.1.- Seguimiento de la fermentación alcohólica.....	12
4.1.2.- Evolución de antocianos, taninos y polifenoles totales.....	14
4.1.2.1.- Antocianos.....	14
4.1.2.2.- Taninos.....	15
4.1.2.3.- Índice de polifenoles totales.....	16
4.1.3.- Parámetros enológicos de los vinos. Caracterización de los vinos.....	17
4.1.3.1.- Acidez total.....	17
4.1.3.2.- pH.....	18
4.1.3.3.- Acidez volátil.....	19
4.1.3.4.- Azúcares reductores y grado alcohólico.....	19
4.1.4.- Medida de los parámetros CIELAB.....	20
4.2.- Análisis estadístico.....	23

4.2.1.- Estudio 1	23
4.2.2.- Estudio 2	25
4.2.2.1.- Final de la fermentación alcohólica	25
4.2.2.2.- Final de la fermentación maloláctica	26
4.2.2.3.- Tras 2 semanas de reposo	26
5.- Conclusiones	27
6.- Identificación de las aportaciones que, en materia de aprendizaje, han supuesto la realización de esta asignatura	29
7.- Evaluación de la asignatura y sugerencias de mejora	30
8.- Bibliografía	30

RESUMEN

El color de un vino tinto es un parámetro que influye en su calidad y afecta a la percepción de otras propiedades como el flavor y el aroma. Los compuestos fenólicos son responsables del color del vino (especialmente los antocianos y taninos). En este trabajo se estudió la influencia de las operaciones pre y post fermentativas en la extracción y la estabilidad del color en el vino tinto, además de su caracterización. Para ello se emplearon distintos métodos de vinificación como la termovinificación, la maceración en frío, la maceración postfermentativa, descube a una densidad de 1030 g/l y un vino estándar de referencia. Como paso previo se caracterizó el mosto mediante análisis de densidad, pH, acidez total y nitrógeno fácilmente asimilable. Se realizaron microvinificaciones en matraces Erlenmeyer de 3 litros, por duplicado para cada uno de los tratamientos, comparándolo frente al control. Con el fin de evaluar el color del vino se realizaron análisis de antocianos totales, taninos e índice de polifenoles totales tras las etapas de fermentación alcohólica, maloláctica y 1 semana después de concluir el proceso. Además de esto se midieron los parámetros CIELAB de cada vino con el fin de hallar una relación entre el contenido de materia colorante y su percepción visual. Por otro lado, se caracterizó el vino tras la fermentación alcohólica mediante análisis de grado alcohólico, azúcares reductores, acidez total, pH y acidez volátil. El vino descubiado a 1030 g/l resultó ser el de un mayor contenido en antocianos, siendo un vino más oscuro y con unos tonos más rojos que el vino de control. Por el contrario, los vinos obtenidos por termovinificación obtuvieron los valores más bajos de taninos, antocianos e índice de polifenoles totales además de ser vinos más claros y con una mayor acidez volátil.

ABSTRACT

The color of a red wine is a parameter that influences their quality and affects the perception of other properties such as flavor and aroma. Phenolic compounds are responsible for the color of the wine (especially anthocyanins and tannins). In this work the influence of pre and post-fermentation operations in the extraction and color stability in red wine, in addition to its characterization were studied. For this, various methods of vinification as thermovinification, cold maceration, post-fermentation maceration, a wine with a final density of 1030 g / l and a standard reference wine were used. As a preliminary step the must was characterized by analysis of density, pH, total

acidity and yeast assimilable nitrogen. Microvinifications were conducted in 3 liter Erlenmeyer flasks in duplicate for each treatment and were compared with the control. In order to evaluate the color of wine, analysis of total anthocyanins, tannins and total polyphenol index were performed after completion of the stages of alcoholic and malolactic fermentations and one week after completing the process. Besides this, the CIELAB parameters were measured for every wine in order to find a relationship between the content of coloring matter and visual perception. In addition, the wine after alcoholic fermentation was characterized by analysis of alcohol content, reducing sugars, total acidity, pH and volatile acidity. The wine with a density of 1030 g / l was found to be the one with a higher content of anthocyanins, darker and redder colors than the control wine. By contrast, the wines obtained by thermovinification obtained lower values of tannins, anthocyanins and total polyphenol index in addition to being lighter wines with higher volatile acidity.

1. Introducción

El color de un vino tinto es un parámetro que influye en su calidad y afecta a la percepción de otras propiedades como el flavor y el aroma. Los compuestos fenólicos son responsables del color del vino (especialmente los antocianos y taninos), poseen propiedades antioxidantes y están relacionados con otras propiedades sensoriales como el aroma, el flavor, la astringencia o el amargor (Somers y Vérette, 1988; Scalbert, 1993; Arnous, Makris, y Kefalas, 2002). La composición fenólica de un vino depende de factores como la variedad y grado de madurez de la uva, factores ambientales (clima, suelo, estado sanitario), tecnología empleada en el proceso de vinificación, fermentación o envejecimiento (Fang et al., 2008). Dentro de este grupo de componentes se encuentran los antocianos que confieren un color inicial entre rojo y púrpura al vino y que van siendo reemplazados como principales compuestos colorantes a lo largo de su envejecimiento por otros más estables (Vivar-Quintana, Santos-Buelga, y Rivas-Gonzalo, 2002). Su contenido, al igual que el de otro tipo de flavonoides, está determinado por un factor genético en las distintas variedades de uvas (Revilla, García-Benítez, Cabello, Martín-Ortega y Ryan, 2001). Por otro lado están presentes los taninos que se dividen en dos grandes grupos: taninos hidrolizables y taninos no hidrolizables o condensados. En las uvas y en el vino predominan los no hidrolizables.

Contribuyen a la astringencia y a la estabilización del color del vino debido a procesos de unión con los antocianos o a uniones entre sí mismos, dando como resultado taninos de mayor tamaño. A lo largo del envejecimiento su concentración disminuye debido a la oxidación o a procesos de precipitación (Garrido y Borges, 2013)

Los procesos de copigmentación que hacen referencia a uniones entre las formas coloreadas de los antocianos y otros compuestos, fenólicos o no, también suponen una contribución al color de los vinos tintos jóvenes (Vivar-Quintana et al., 2002) especialmente en las etapas iniciales del proceso de vinificación (García-Marino, Escudero-Gilete, Heredia, Escribano-Bailón, Rivas-Gonzalo, 2013). Sin embargo, el contenido en flavonoles en los vinos tintos es altamente dependiente de la uva (tipo, madurez, etc.) y del proceso de vinificación y por tanto el fenómeno de copigmentación presenta una alta variación entre distintos tipos de vinos (Birse, 2007).

Durante el proceso de maceración, los compuestos fenólicos son extraídos del hollejo de la uva y pasan al mosto. En este sentido, un mayor tiempo de contacto entre los hollejos y el mosto está normalmente relacionado con un mayor contenido de antocianos y taninos en el vino. (Ivanova et al., 2011; Gómez-Plaza, Gil-Muñoz, López-Roca, Martínez-Cutillas y Fernández-Fernández, 2002). Más en concreto, algunos estudios demostraron que un mayor tiempo de contacto durante la fermentación, de 10 días en lugar de 4 o 5, da lugar a vinos con un mayor contenido en antocianos y taninos en el momento del embotellado (Gómez-Plaza et al., 2002).

Además, la extracción del color puede verse incrementada por la utilización de operaciones prefermentativas como la maceración en frío (Gómez-Míguez, González-Miret y Heredia, 2007; Heredia et al., 2010), la termovinificación (Boulton, Singleton y Bisson, 1996; Clarke, Bakker y Wiley 2004) y la maceración postfermentativa (Scudamore-Smith, P.D., Hooper, R.L. and McLaran, E.D., 1990)

En el caso de la termovinificación, el aumento de la temperatura favorece la extracción de los fenoles (principalmente antocianos) debido a que aumenta su solubilidad y su coeficiente de difusión, lo que hace que el proceso sea más eficiente y más rápido. (Cacace y Mazza, 2003). Además se desnaturaliza el enzima polifenoloxidasas, lo cual previene el pardeamiento. Los taninos no ven aumentada su extracción ya que no hay presencia de alcohol en el momento del calentamiento (Sacchi, Bisson & Adams, 2005).

Sin embargo temperaturas por encima de los 50 °C pueden producir inestabilidad en los compuestos fenólicos y su desnaturalización (Cacace y Mazza, 2003).

En cuanto a la aplicación de frío sobre las uvas, los resultados indican que los vinos obtenidos a partir de uvas refrigeradas previamente al proceso de estrujado, tuvieron unos valores de croma (C^*_{ab}) mayores y un menor brillo (vinos más oscuros) que los que no habían recibido este tratamiento. Además es esperable que la congelación de las uvas de lugar a una mayor extracción de componentes debido a la ruptura de la piel. Los vinos obtenidos mediante este proceso de enfriamiento tenían una mayor concentración de antocianos y otros compuestos fenólicos en comparación con los procesados con otros métodos de refrigeración (Heredia et al., 2010).

Respecto a la maceración postfermentativa es una técnica empleada tras la fermentación alcohólica en la que se mantienen en contacto los hollejos con el mosto generalmente durante un periodo de 4 días a 4 semanas y en un rango de temperaturas que va desde los 15 a los 35 °C. En esta etapa los compuestos solubles en alcohol pasan de las partes sólidas al mosto fermentado. Debido a esto, la extracción cobra mayor importancia con los taninos que con los antocianos. Con un tiempo de maceración postfermentativa de 3 semanas, se observa una concentración de taninos de alrededor de un 80% mayor que en las muestras de control y de 1 semana de maceración, para vinos a partir de uvas de la variedad Garnacha y Pinot Noir (Joscelyne, 2009).

Por otro lado existen otros tratamientos para mejorar la extracción de materia colorante como los pulsos eléctricos. En este aspecto se ha observado que durante el periodo de maceración, las muestras sometidas a la acción de pulsos eléctricos a 5 y 10 kV/cm tienen un color más intenso que las muestras de control a las 96 horas. En cuanto a la concentración de antocianos, es mayor a medida que se aumenta la intensidad de los pulsos eléctricos, y demuestran ser los principales responsables del color de los vinos tintos. Un efecto similar ocurre en relación al índice de polifenoles totales (López, Puértolas, Condón, Álvarez, Raso, 2008).

Para determinar el color del vino se ha empleado en estudios anteriores el espacio CIELAB (Bakker, Bridle, y Timberlake, 1986; Almela, Javaloy, Fernández-López, López-Roca, 1995; Gil-Muñoz, Gómez-Plaza, Martínez, López-Roca, 1997). Este espacio de color viene definido por L^* puede tomar valores de 0 (negro) a 100 (blanco). La coordenada a^* determina la proporción rojo-verde; valores positivos indican una

predominancia del rojo sobre el verde. La coordenada b^* determina la proporción azul-amarillo; valores positivos indican una predominancia del amarillo sobre el azul. Por su parte C^* indica la contribución de a^* y b^* al color del vino.

2. Justificación y objetivos

El aspecto más inmediato que percibimos de un vino tinto es su color. Es un atributo que influye en la calidad y que interviene en la decisión de compra del consumidor. El hecho de aumentar la extracción de materia colorante de la uva al vino durante el proceso de elaboración puede mejorar este atributo y por tanto dar lugar a vinos de mayor calidad que sacar al mercado. Esto, se puede conseguir utilizando distintas operaciones prefermentativas. Por otra parte, el color va disminuyendo durante el proceso de elaboración una vez concluida la fermentación alcohólica. Es interesante conocer en qué momentos del proceso va desapareciendo color y como conseguir vinos cuyo color sea estable a lo largo del tiempo. La finalidad de este trabajo es estudiar y comparar la influencia de distintos tipos de maceración y de las operaciones pre y post fermentativas en la extracción y estabilidad del color en el vino así como la caracterización de los mismos.

3. Material y métodos

3.1. Vinificación

3.1.1. Operaciones prefermentativas

Para elaborar el vino se empleó uva de la variedad tempranillo, de la denominación de origen Somontano, de septiembre de 2012, la cual fue congelada hasta marzo de 2013, que fue la fecha de elaboración.

Previamente al proceso de despalillado y estrujado, se preparó una solución de bisulfito potásico (Panreac, España) de concentración 30000 ppm, y se procedió a reactivar la levadura Lalvin® QA-23 (Lallemand, España). Tras descongelar, la uva se procesó en una despalilladora-estrujadora modelo *Cantinetta* (Zambelli, Camisano Vicentino, Italia). La pasta obtenida se distribuyó en 10 matraces Erlenmeyer de 5 litros a razón de

3 litros cada uno. Éstos fueron agrupados por parejas en 5 grupos correspondientes a cada uno de los distintos tratamientos a estudiar:

- Termovinificación (MC): La pasta fue calentada en un cocedero (modelo HD900, Zoppas, Italia) durante 10 minutos a 55 °C. Posteriormente se enfrió por contacto indirecto con agua fría y se añadieron 30 ppm de bisulfito y el volumen de la levadura reactivada necesario para conseguir una concentración de 20 g/hl. A continuación, se prensó usando un cazo y un colador y el mosto resultante se trasvasó a otros 2 matraces Erlenmeyer. Tras esto, se introdujeron en una cámara a 20 °C.

- Maceración en frío (MF): Se añadieron 30 ppm de bisulfito y se introdujeron los 2 matraces en una cámara a 4 °C. Tras 8 días macerando en la cámara se retiraron de ésta para aumentar su temperatura hasta la de ambiente (en torno a 20 °C) y se añadió levadura a una concentración de 20 g/hl y se llevó a una cámara a 20 °C.

- Fermentación estándar (M), fermentación hasta densidad 1030 g/l (M1030) y maceración post-fermentativa (MPF): Se añadieron a la pasta 30 ppm de bisulfito y levadura a una concentración de 20 g/hl y se introdujeron los matraces Erlenmeyer en una cámara a 20 °C.

Este proceso se muestra de forma esquemática en las figuras 1 y 2.

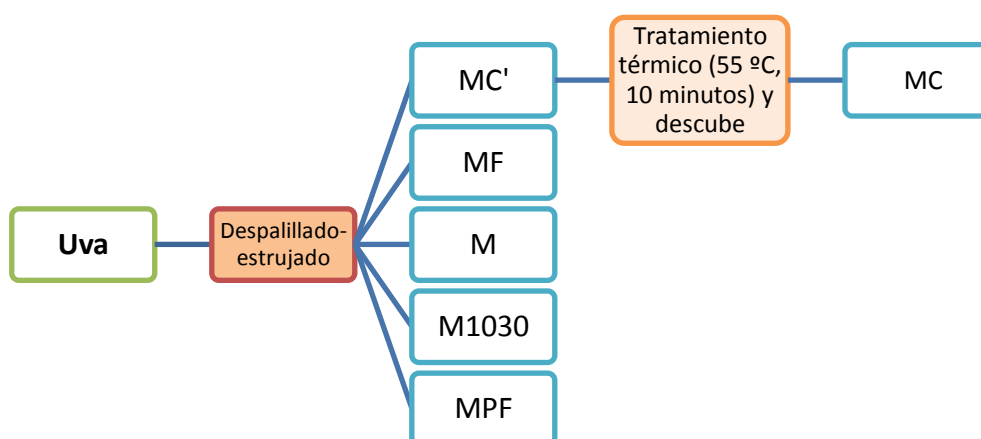


Figura 1. *Obtención de la pasta y distribución en grupos*

MC	MF	M, 1030, MPF
<ul style="list-style-type: none"> • Adición de bisulfito potásico (30 ppm) • Adición de levadura (20 g/hl) • Trasvase 	<ul style="list-style-type: none"> • Adición de bisulfito potásico (30 ppm) • Maceración en frío (4 °C, 8 días) • Adición de levadura (20 g/hl) 	<ul style="list-style-type: none"> • Adición de bisulfito potásico (30 ppm) • Adición de levadura (20 g/hl)

Figura 2. Preparación de los grupos de fermentación

3.1.2. Fermentación alcohólica, fermentación maloláctica y operaciones postfermentativas

Antes de comenzar la fermentación, se pesaron todos los matraces y para controlar el proceso, cada 24 horas se pesaban de nuevo.

En el caso del grupo MC, se añadieron 50 ml de mosto en fermentación tomado de MC2 con un contenido de 5 g de levadura a cada matraz, durante la fermentación ya que ésta transcurría más despacio de lo planeado inicialmente.

En todos los casos la temperatura de la cámara de fermentación fue de 20 °C. Sin embargo los tiempos variaron en función del grupo y de la evolución de la fermentación. Ésta se comprobó mediante la diferencia de peso entre días consecutivos y por la medida de la densidad del mosto fermentado con un densímetro (Nahita, España). Como fin de la fermentación se estableció el momento en el que no se observa diferencia de peso en dos días consecutivos. La duración de la fermentación para cada grupo fue el siguiente: M (15 días), M1030 (10 días), MC (12 días), MF (23 días), MPF (23 días).

Una vez finalizada la fermentación, se procedió al descube (excepto en el caso del grupo MC del cual se habían eliminado los hollejos previamente a la fermentación alcohólica). Para ello, el vino se trasvasó de los matraces Erlenmeyer a botellas de plástico de 1,5 l de capacidad con ayuda de un colador y un embudo y se trasladaron a

una cámara a 4 °C. En cuanto al grupo M1030, descubó antes de que la fermentación hubiera finalizado por completo, a una densidad de 1000 g/l, y se dejó fermentando hasta que este proceso finalizara. Se guardó de cada uno de los matraces aproximadamente 300 ml de vino con el fin de realizar los análisis de pH, acidez total, acidez volátil, compuestos fenólicos totales y antocianos y taninos.

Posteriormente se utilizaron bacterias ácido-lácticas de la cepa *Oenococcus oeni*, Viniflora® CH16 (Enolviz, España), que se reactivaron tomando 0,24 gramos y disolviéndolos en 25 ml de vino. Se inoculó 1 ml a cada uno de los vinos a temperatura ambiente y se llevaron a una cámara a 20 °C para comenzar la fermentación maloláctica, la cual duró una semana.

En cuanto a los vinos del grupo MPF, tras acabar la fermentación alcohólica y antes de descubrir, se dejaron macerando en una cámara a 4 °C durante 10 días, tras los cuales se procedió al descube, trasiego a botellas de plástico de 1,5 l y fermentación maloláctica.

Cuando finalizó la fermentación maloláctica se decantó el vino trasvasándolo nuevamente a botellas de plástico de 1,5 l, llenándose hasta un volumen de 0,6 l. Después de esto, se añadió bisulfito potásico para conseguir una concentración de 30 ppm de SO₂ libre y se trasladaron a una cámara a 4 °C. De cada uno de estos vinos se tomaron 100 ml para realizar los análisis de pH, acidez total, acidez volátil, compuestos fenólicos totales y antocianos y taninos.

Los vinos se dejaron en la cámara de frío durante una semana, tras la cual se reservaron 100 ml de cada una de las botellas para repetir las medidas de antocianos, taninos y compuestos fenólicos totales.

Este proceso se muestra de manera esquemática en la figura 3.

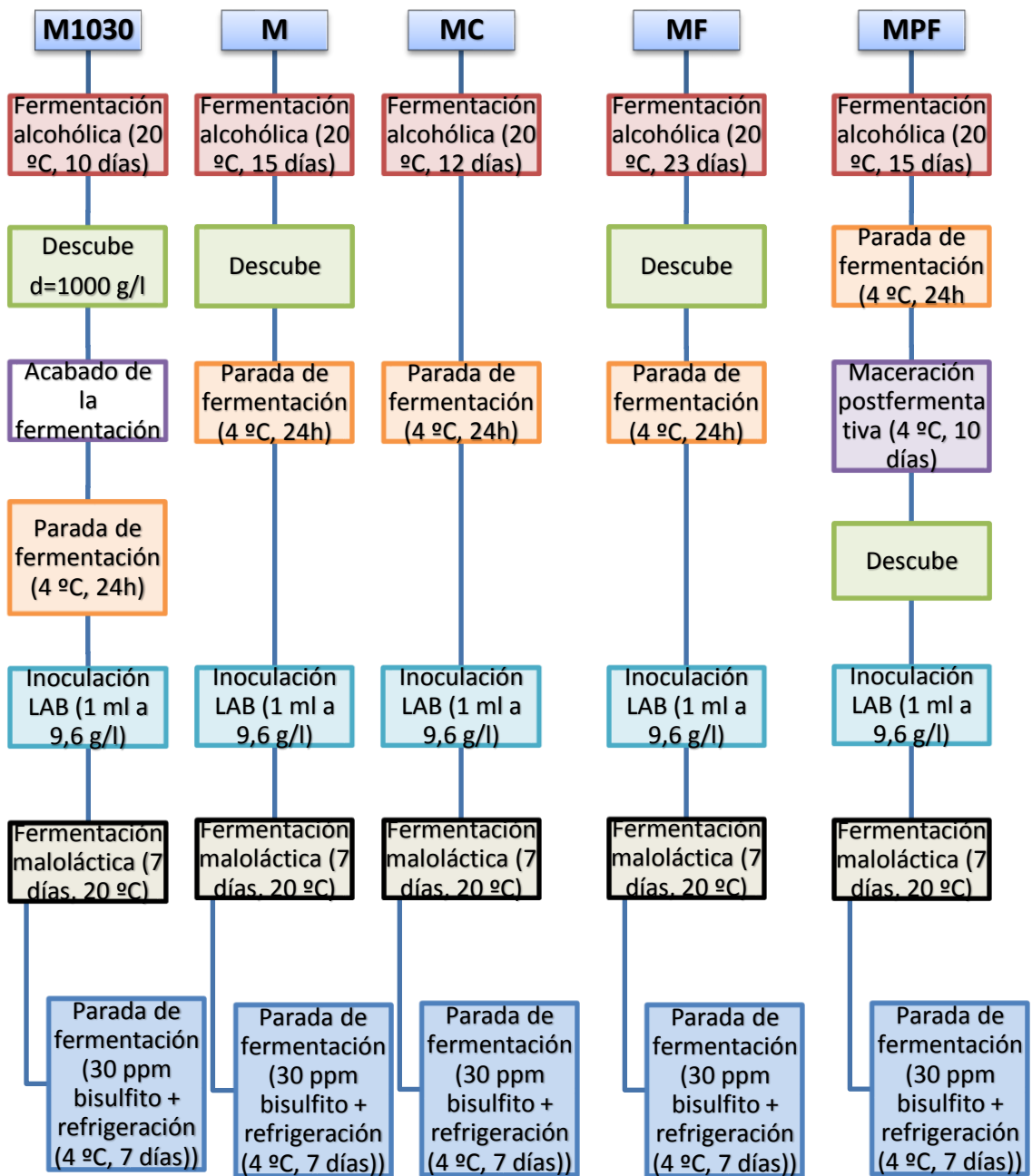


Figura 3. Fermentación alcohólica, fermentación maloláctica y operaciones postfermentativas

3.2. Análisis

- pH: El análisis de pH se realizó con un pH-metro (pH Meter Basic 20, Crison, Barcelona, España) sobre una muestra homogénea en agitación.
- Acidez total: Se tomaron 10 ml de vino o mosto a los que se añadió hidróxido sódico 0,1 N (Panreac, España) hasta alcanzar un pH de 7. Para medir este pH se utilizó un pH-metro.
- Acidez volátil: Se realizó por el método García-Tena, consistente en la separación de los ácidos volátiles de una muestra de 11 ml con arrastre de vapor de agua y rectificación de los vapores. Posteriormente estos ácidos se valoraron con NaOH 0,02 N (Panreac, España) en presencia de fenoftaleína como indicador.
- Grado alcohólico: Se tomaron 200 ml de vino que fueron neutralizados con NaOH, los cuales se pasaron al matraz de destilación junto con las aguas de lavado. El destilado se recogió en una probeta y se midió su densidad con la ayuda de un alcoholómetro.
- Nitrógeno fácilmente asimilable (FAN): Se determinó por el método de titulación con formol. Para ello se tomaron 50 ml de mosto y 20 ml de formaldehído y se ajustó el pH de ambos a 8,5 con NaOH 0,1 N. Se añadió este formaldehído a los 50 ml de mosto y utilizando una bureta se llevó la mezcla a pH 8,5 midiendo el volumen de NaOH 0,1 N utilizado.
- Azúcares reductores: Se tomaron 2 ml de vino, los cuales se pasaron por un cartucho de poligel con 5 ml de H₃PO₄ al 1% (Panreac, España) y se llevaron a un matraz Erlenmeyer que contenía 10 ml de solución de cobre y 5 ml de solución de sal de Seignette. Esta mezcla se llevó a ebullición durante 2 minutos. Posteriormente se añadieron 10 ml de solución de KI (Panreac, España), 10 ml de H₂SO₄ al 16% (Panreac, España) y 10 ml de indicador de almidón y el resultante se valoró con tiosulfato. Previamente, se realizó un blanco, y la diferencia entre ambas valoraciones fue el resultado de la cantidad de azúcares reductores

- Compuestos fenólicos totales (I280): Se realizó una dilución del vino del orden 1:100, para lo cual se tomaron 0,2 ml de vino y se llevaron a 20 ml con agua destilada. Esta disolución se trasvasó a una cubeta de cuarzo y se midió su absorbancia frente a agua destilada a una longitud de onda de 280 nm en un espectrofotómetro (U-1100, Hitachi, España).
- Antocianos: El método empleado fue el de decoloración con H_2SO_3 . Para ello se preparó una solución con 1 ml de vino, 1 ml de HCl al 1% en etanol y 2 ml de HCl al 2% en agua. En dos tubos de ensayo se trasvasó 10 ml a cada uno de esta solución y a uno de ellos se añadió 4 ml de agua destilada y al otro 4 ml de bisulfito de sodio al 15%. Tras 20 minutos se midió la diferencia de absorbancia entre los dos tubos a una longitud de onda de 520 nm en un espectrofotómetro.
- Taninos totales: Se determinaron según el método Zamora (2003). Para ello a dos tubos de 15 ml se añadieron 2 ml de vino diluido 1:50, 1 ml de agua destilada y 6 ml de ácido clorhídrico 12N (Panreac, España). Los tubos se envolvieron en papel de aluminio para protegerlos de la luz y uno de ellos se introdujo en un baño con agua a ebullición suave y el otro a temperatura ambiente durante 30 minutos. Tras este tiempo se sacó el tubo del baño y se enfrió con agua del grifo. Posteriormente a cada uno de los tubos se añadió 1 ml de etanol al 96% (Panreac, España), se mezcló y se midió la diferencia de absorbancia de ambos tubos frente al agua destilada a una longitud de onda de 550 nm en un espectrofotómetro.
- CIELAB: Se utiliza un método propuesto a la OIV para la determinación de las características cromáticas del vino. Este método se fundamenta en la medida de la transmitancia del vino a 4 longitudes de onda con un espectrofotómetro Elmer Lambda 6 de Perkin-Elmer Corp (E.E.U.U.). Después se calculan las coordenadas de color utilizando el método CIE, con el observador estándar CIE 1964 10° y el iluminante D65, de acuerdo con las recomendaciones de la OIV

4. Resultados y discusión

4.1. Resultados

Una vez que la uva fue despallada y estrujada se caracterizó el mosto, cuyos parámetros se muestran en la tabla 1

Densidad (g/l)	pH	Acidez total (g/l)	FAN (mg/l)
1085	3,74	2,89	130

Tabla 1. Análisis físico-químico del mosto

4.1.1. Seguimiento de la fermentación alcohólica

Para seguir la evolución de la fermentación se calculó la diferencia de peso en gramos de cada uno de los vinos entre un día y el anterior. Estos resultados se muestran en la tabla 2. Los vinos a los que no se sometió a ningún tratamiento térmico mostraron un desarrollo fermentativo similar, sin embargo los vinos MF y MC evolucionaron de distinta forma. En el caso de MF el inicio de la fermentación fue más rápido que en el resto mientras que por el contrario MC mostró un comienzo lento y la fermentación fue menos intensa, probablemente debido a que se retiraron los hollejos previamente al inicio de esta etapa. Debido a esto, durante este periodo se inoculó una cantidad adicional de levadura (5 g a cada

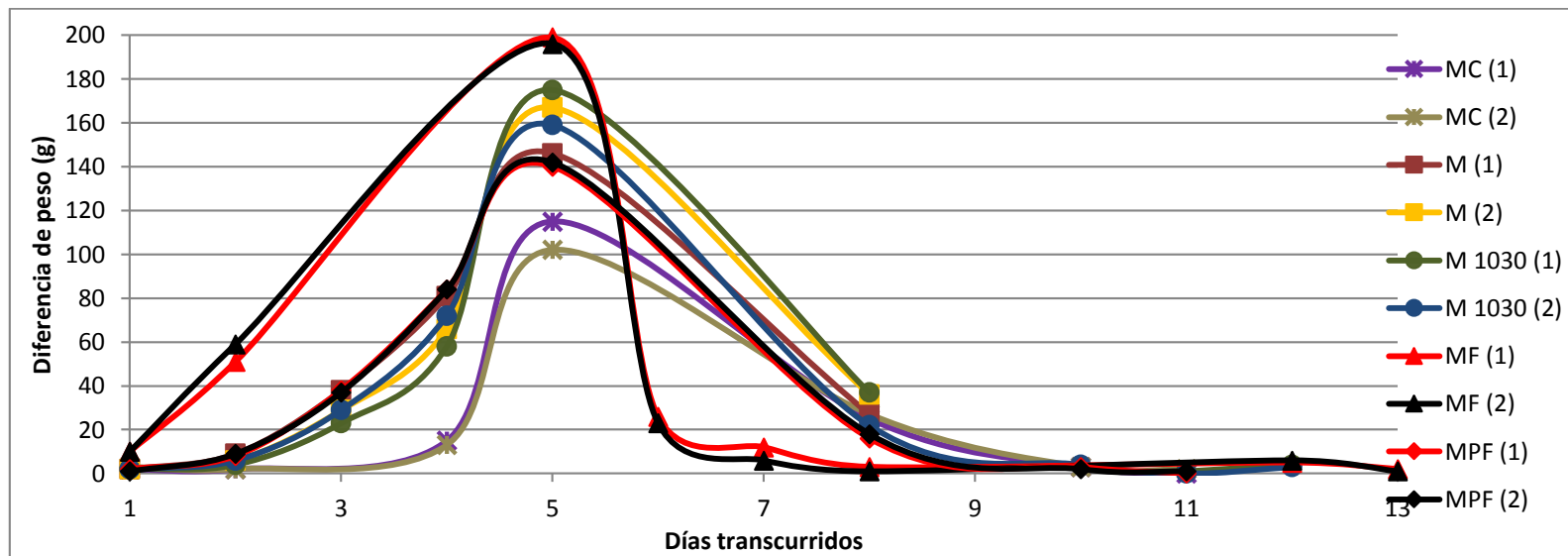


Figura 4. Evolución de la fermentación alcohólica

Erlenmeyer), por lo que el volumen y el peso de los mismos aumentó y no se pudo calcular la diferencia de pesada de un día. Tras esta adición la fermentación prosiguió con normalidad. La lentitud inicial pudo deberse a que al descubar se arrastró junto a los hollejos a parte de las levaduras presentes inicialmente en el mosto.

En cuanto a las distintas etapas de la fermentación, los vinos M, M1030 y MPF mostraron una fase inicial de latencia de un día, excepto MC en la que duro 3 días. En el MF no se apreció una fase de latencia. En los vinos M, M1030 y MPF a partir del segundo día se produjo una fase de incremento exponencial del ritmo fermentativo. A partir del quinto día se observó un descenso en la tasa de fermentación en todos los vinos

(Figura 4). En MF la velocidad de fermentación disminuyó a partir del sexto día, mientras que en los vinos M, MC y MPF, debido a las dos medidas faltantes se observó por primera vez un descenso a partir del día 8. En el caso de MC se detuvo la fermentación antes de que ésta finalizara por completo el octavo día.

4.1.2. Evolución de antocianos, taninos, polifenoles totales

Los antocianos, taninos y polifenoles totales se han determinado en todos los vinos en tres momentos distintos (al acabar la fermentación alcohólica, al acabar la maloláctica y después de añadir metabisulfito y dejar en reposo el vino durante una semana) excepto en los vinos de MC que además se determinaron en el mosto después de ser sometidos a calentamiento.

4.1.2.1. Antocianos

El contenido en antocianos de los vinos oscila desde 122,1 mg/l hasta 529,8 mg/l. En la figura 5 vemos que descendió desde el final de la fermentación alcohólica hasta el final de la fermentación maloláctica en todos los casos excepto en el de MF1 en el que se observó un aumento (de 242,3 mg/l tras la fermentación alcohólica a 267,7 mg/l después de la fermentación maloláctica). El vino, tras una semana de reposo, poseía una concentración de antocianos ligeramente superior en todos los vinos salvo en el caso de MC1. Los vinos con un mayor contenido en antocianos fueron M1030 (361,8 mg/l para M1030 1 y 382,4 para M1030 2), mientras que el más bajo correspondió a MC (132,6 mg/l para MC1 y 122,1 mg/l para MC2). Éste último vino fue el único al que se le realizó una determinación del contenido de antocianos en los mostos y se observó que en la etapa previa a comenzar la fermentación la concentración fue la más alta para este vino de todas las etapas y que fue descendiendo a lo largo del proceso de vinificación. Estos resultados se muestran en la figura 5.

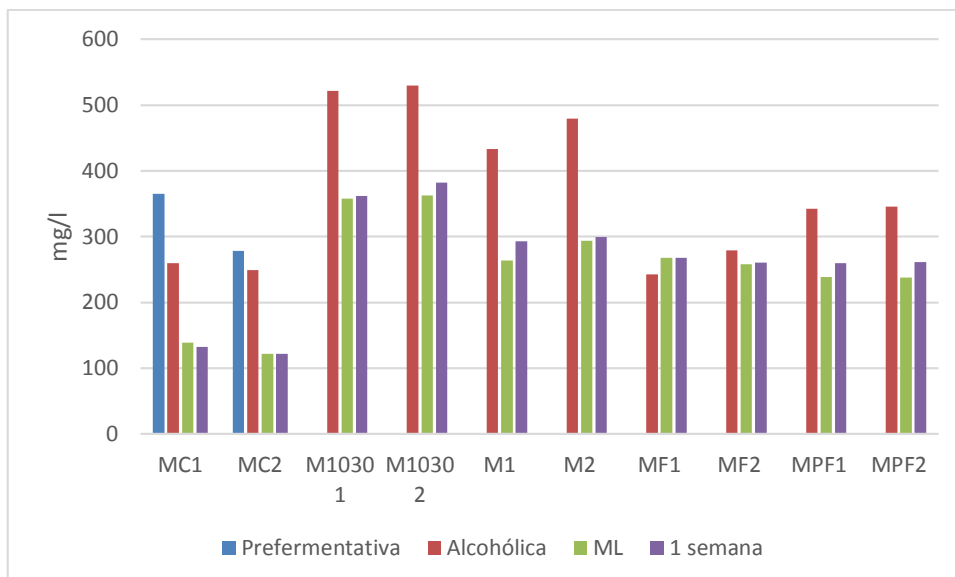


Figura 5. Evolución del contenido en antocianos.

4.1.2.2. Taninos

El contenido en taninos en los vinos está en un rango entre 0,19 g de cianidina/l y 7,07 g de cianidina/l antes de comenzar la fermentación alcohólica, valores obtenidos en los vinos MC al finalizar la fermentación alcohólica y antes de comenzar la fermentación respectivamente. La concentración en taninos fue mayor al final de la fermentación alcohólica que al final de la fermentación maloláctica y tras una semana de reposo en todos los casos salvo para MC2. MF fue el que registró un mayor contenido en taninos al finalizar la fermentación alcohólica aunque después de 1 semana tras el fin de la fermentación maloláctica las concentraciones fueron similares en todos los vinos, salvo en MC que registró unos valores inferiores (0,44 g de cianidina/l para MC1 y 0,66 g de cianidina/l para MC2). Los taninos se extraen principalmente con alcohol, por lo que en los vinos de MPF son las más elevadas. En MC aunque la temperatura es elevada no hay alcohol y los taninos se extraen peor, por eso su concentración es la menor.

Esto parece coincidir con otros estudios que relacionan un mayor tiempo de contacto entre el mosto y los hollejos con una mayor extracción de componentes de la uva (Gómez-Plaza et al., 2002; Ivanova et al., 2011). Los resultados están representados en la figura 6.

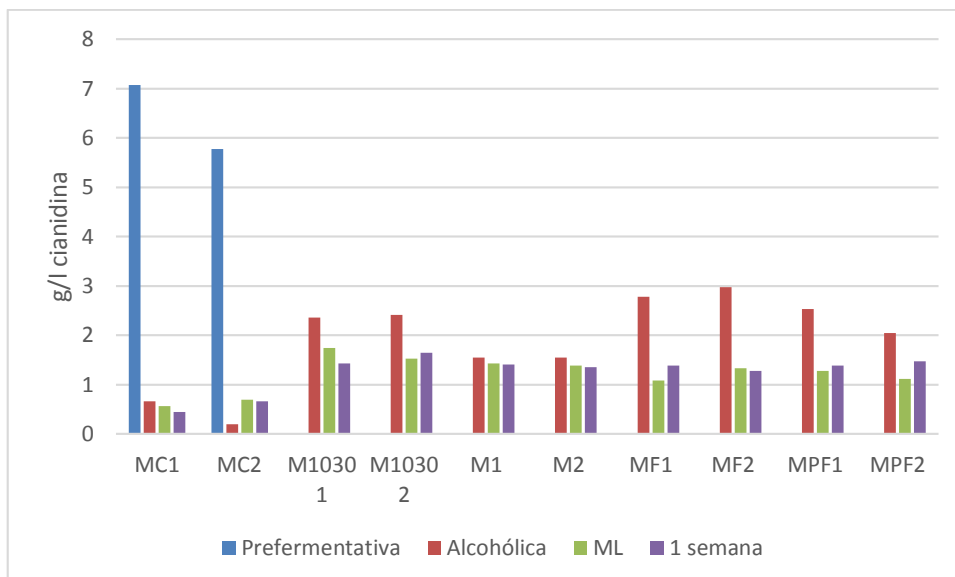


Figura 6. Evolución del contenido en taninos.

4.1.2.3. Índice de polifenoles totales

El índice de polifenoles totales oscila entre 17,0 y 51,3. Los compuestos fenólicos totales disminuyeron su concentración a lo largo de las etapas del proceso de vinificación excepto en el vino MC, cuyo contenido tras una semana de reposo fue similar o ligeramente superior al obtenido tras finalizar la fermentación maloláctica. La concentración de MC fue la menor, lo cual coincide con un menor tiempo de contacto entre los hollejos y el mosto, mientras que MPF tras la maceración posterior a la fermentación alcohólica muestra un mayor contenido (Gómez-Plaza et al., 2002; Ivanova et al., 2011). Los resultados se muestran en la figura 7.

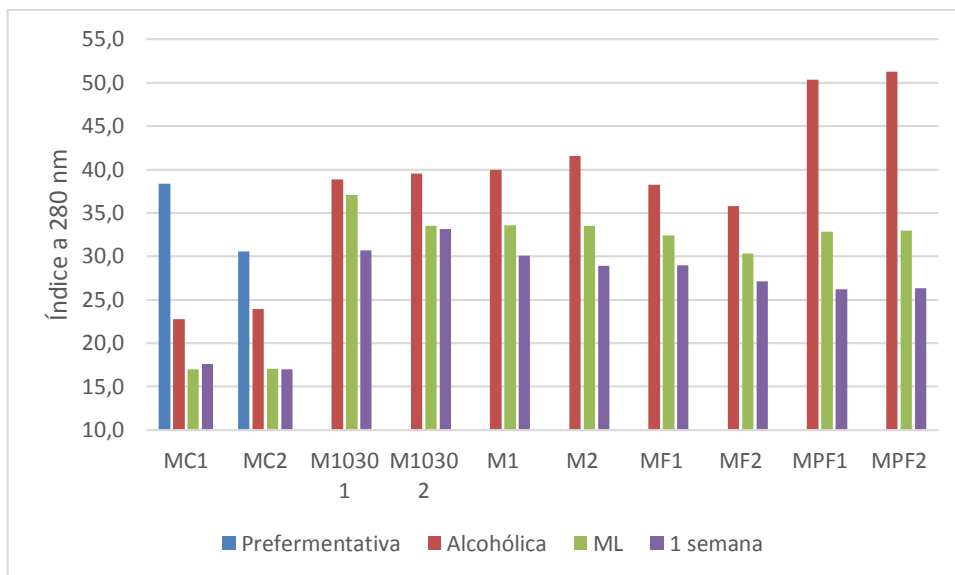


Figura 7. Evolución del contenido en compuestos fenólicos totales

4.1.3. Parámetros enológicos de los vinos. Caracterización de los vinos

4.1.3.1. Acidez total

La fermentación maloláctica produjo un descenso de acidez en todos los vinos, lo cual concuerda con la principal misión de esta etapa (Bordons, Reguant, 2013). Esta acidez final fue similar en todos los vinos aunque los valores obtenidos en el caso de MC fueron los más altos (5,92 g ácido tartárico/l para MC1 y 5,85 g ácido tartárico/l para MC2). En el caso de MC, la acidez total antes de comenzar la fermentación fue inferior a la final, lo que corresponde a lo obtenido en otros estudios (Gil-Muñoz, et al., 1997) Los resultados están representados en la figura 8.

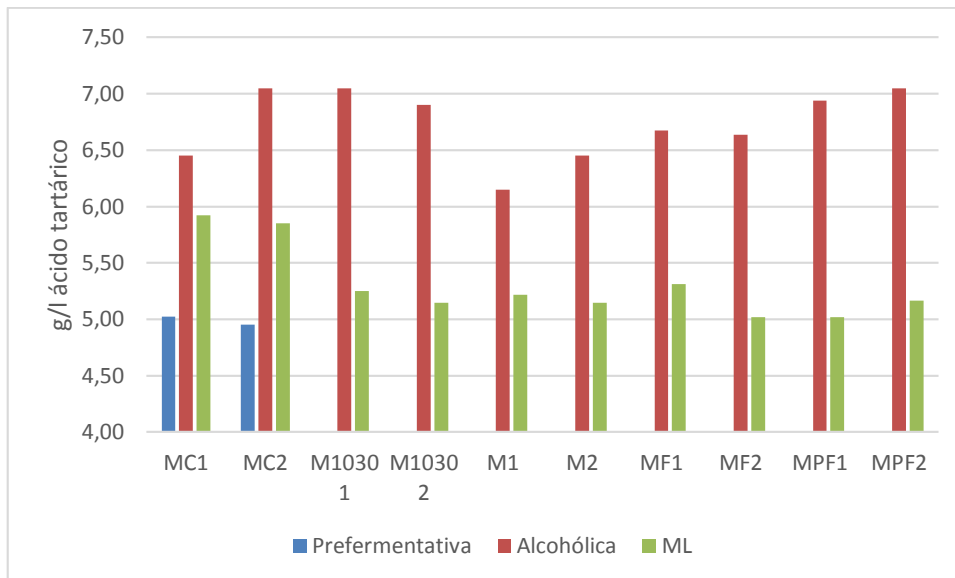


Figura 8. Evolución de la acidez total

4.1.3.2.pH

Con respecto al pH, la evolución que siguió cada vino fue distinta. MC, M y M1030 mostraron un incremento en los valores de pH tras la fermentación maloláctica, aunque en el caso de MC, hubo un descenso con respecto al pH previo a la fermentación alcohólica. En MF y MPF se produjo, en contra de lo esperado, un descenso en el pH tras la fermentación maloláctica con respecto al del final de la fermentación alcohólica. En todo caso los valores de pH finales de todos los vinos fueron inferiores al pH del mosto (3,74). En otros estudios se ha observado un descenso de pH del vino con respecto al mosto de partida a mayor grado de madurez de la uva (Bindon, Varela, Kennedy, Holt, Herderich, 2013). En la figura 9 se muestran estos resultados.

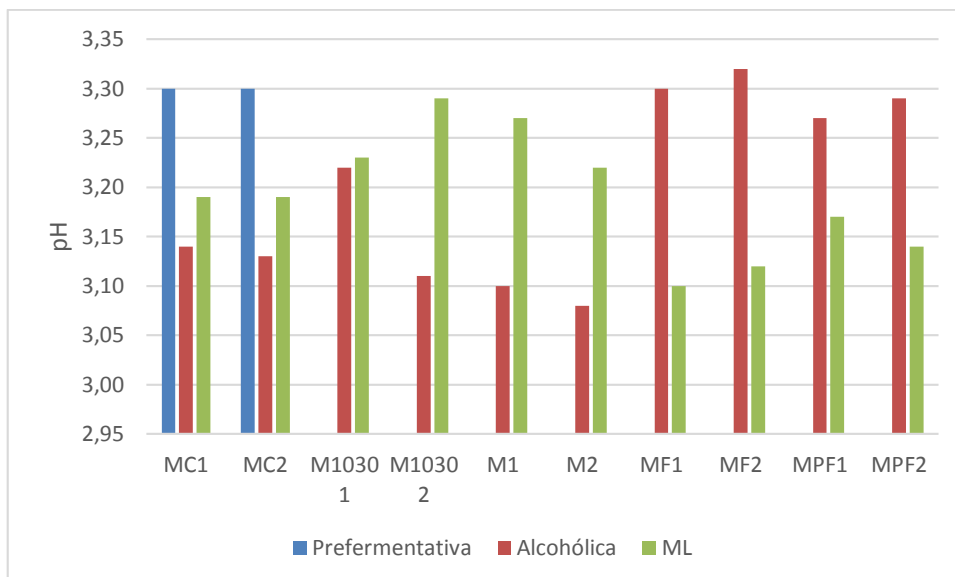


Figura 9. Evolución del pH.

4.1.3.3. Acidez volátil

La acidez volátil aumenta tras la fermentación maloláctica para todos los vinos con respecto a la alcohólica. Se observó que tras la fermentación maloláctica MC1 y MC2 parecían haberse acetificado (picado), y tras las determinaciones de acidez volátil dieron los valores más altos de todos los vinos. M y M1030 tuvieron una acidez volátil más baja al final de la fermentación alcohólica, sin embargo, al finalizar la fermentación maloláctica los valores estuvieron al mismo nivel que los de MF y MPF. Los resultados se muestran en la figura 10.

4.1.3.4. Azúcares reductores y grado alcohólico

En la figura 11 se representan los resultados obtenidos para los parámetros de azúcares reductores y grado alcohólico tras la fermentación alcohólica. Todos los vinos estuvieron en un rango de 10,9° y 11,3°. Las mayores cantidades de azúcares reductores no se correspondieron con los vinos con una graduación alcohólica menor como podría esperarse.

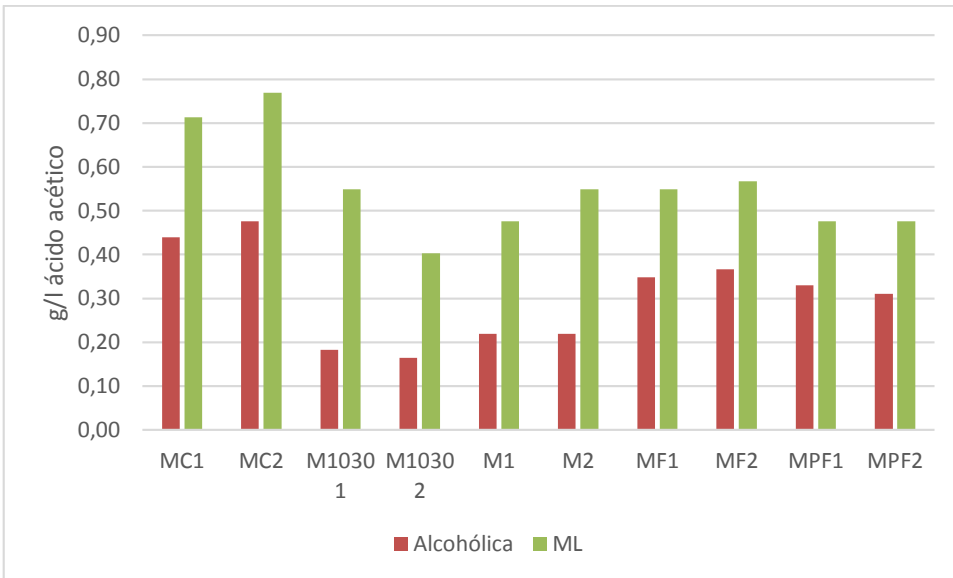


Figura 10. Evolución de la acidez volátil.

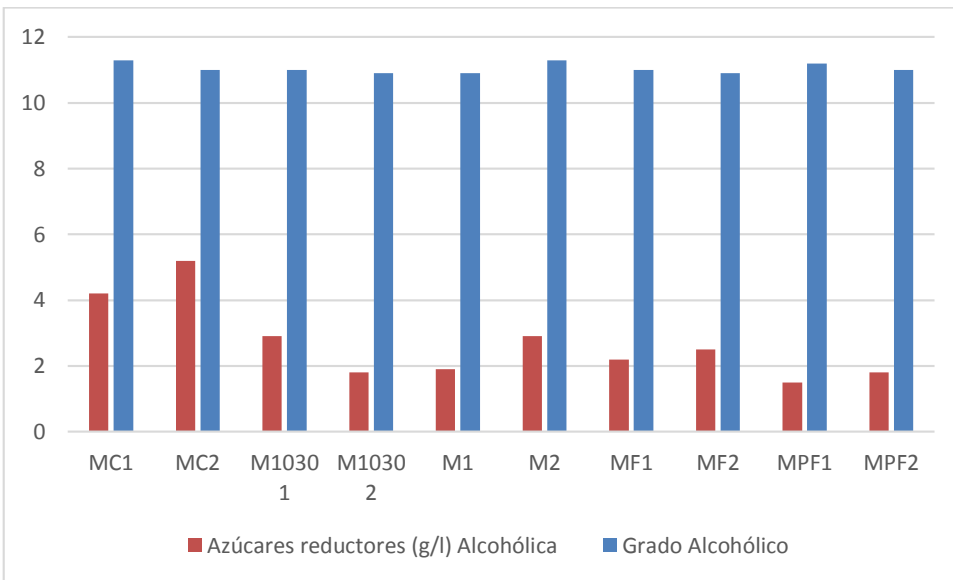


Figura 11. Contenido en azúcares reductores y grado alcohólico tras la fermentación alcohólica.

4.1.4. Medidas de los parámetros CIELAB

Se observó que los valores de L^* (claridad) fueron superiores en todo caso al finalizar el proceso de vinificación que tras terminar la fermentación alcohólica. Los vinos más claros se obtuvieron con el tratamiento de termovinificación. La evolución seguida se corresponde a lo hallado en otros estudios (Almela et al., 1995; Gil-Muñoz et al., 1997). MPF mostró el valor de L^* más bajo de todos los vinos tras la fermentación alcohólica, aunque tras las 2 semanas de reposo estos valores aumentaron hasta niveles similares a los del resto, probablemente debido a la decantación del vino. En los casos de M10302 y M1 no fue posible realizar la medida de los parámetros CIELAB por falta de muestras al final de la fermentación maloláctica y al final de la fermentación alcohólica respectivamente.

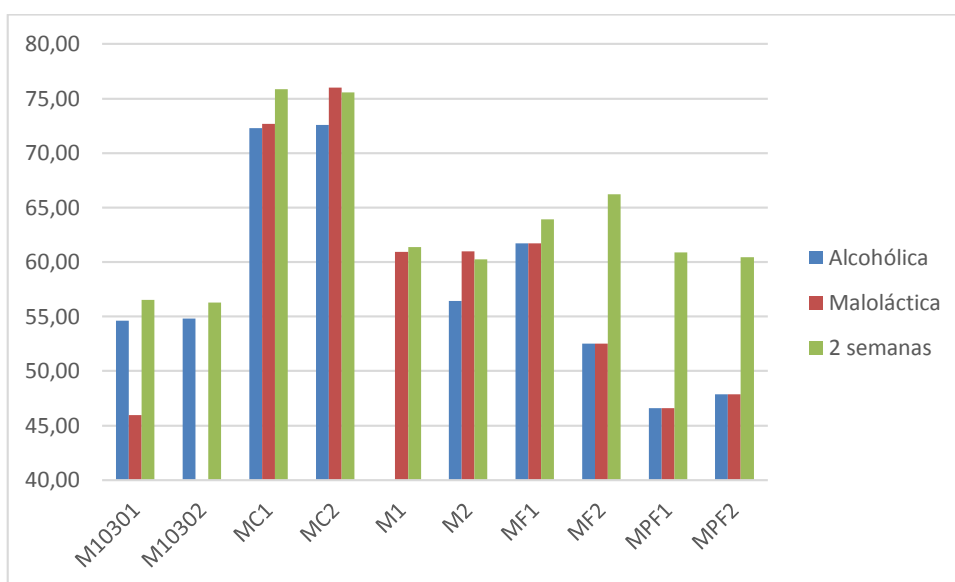


Figura 12. Evolución de L^* durante la fermentación

Los vinos con un valor más alto de a^* fueron M1030, mientras que MC fue el que obtuvo una menor cantidad de rojo después de dos semanas de reposo. Éste último vino de hecho fue el que tuvo un menor contenido en antocianos, taninos y un índice de polifenoles totales más bajo.

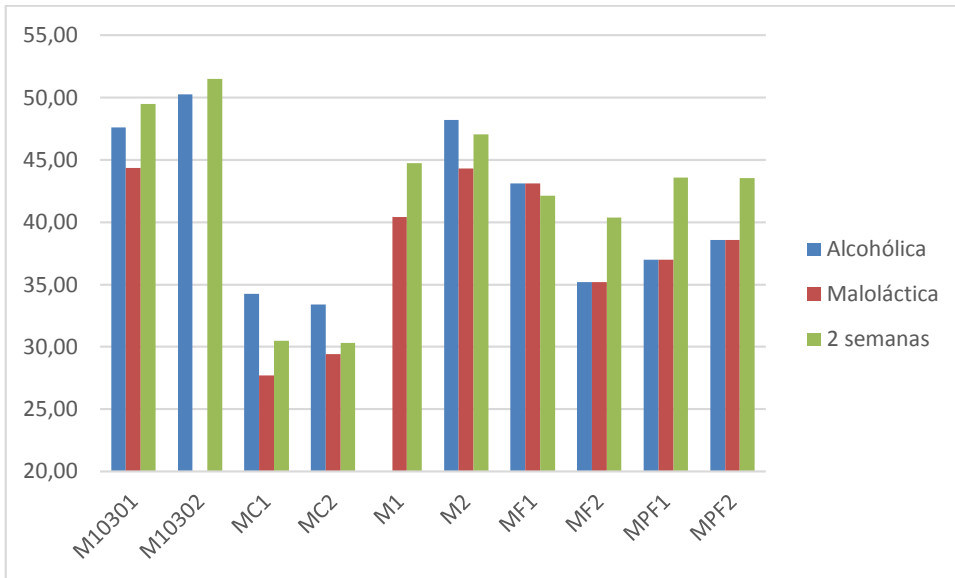


Figura 13. Evolución de a^* durante la fermentación.

Tras las 2 semanas de reposo, y aunque no hubo grandes diferencias entre ellos, los vinos MC dieron valores positivos de b^* , mientras que MF y MPF mostraron una tendencia hacia tonos más azulados.

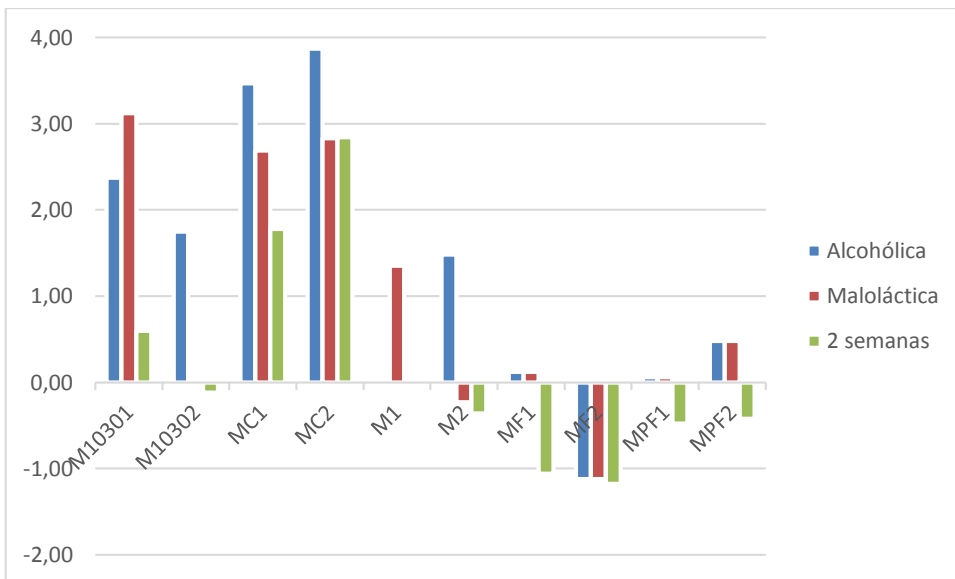


Figura 14. Evolución de b^* durante la fermentación.

Los vinos con unos valores de C^* más bajos tras las 2 semanas después de acabar la fermentación maloláctica fueron MC, lo que indica que tuvieron una menor viveza de color. Por el contrario, M1030 presentó el mayor valor en este parámetro.

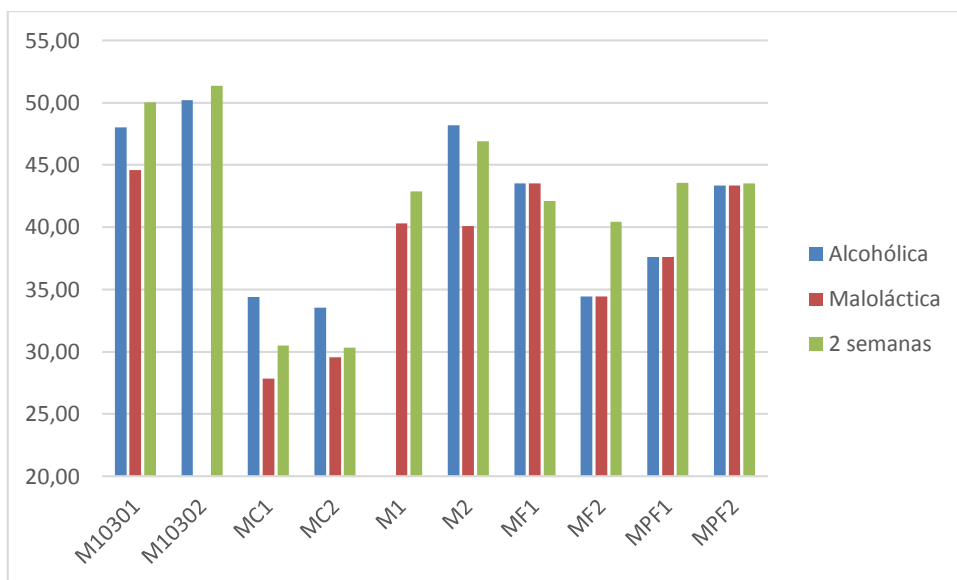


Figura 15. Evolución de C^* durante la fermentación.

4.2. Análisis estadístico

Comparación de la materia colorante en los distintos momentos de la vinificación

Se han realizado distintos estudios ANOVA para determinar si existen o no diferencias significativas entre los distintos momentos de vinificación (estudio 1) y entre tratamientos en el mismo momento de la vinificación (estudio 2)

4.2.1. Estudio 1

Se realizó un análisis estadístico de varianza (ANOVA) para determinar si existían diferencias significativas en la composición del vino en función del momento (factor) del proceso de elaboración, (al acabar la FA, al acabar la FML y tras una semana de la adición de SO₂). Las diferencias significativas se calcularon a un nivel de $p < 0,05$.

En la tabla 2 se muestran las medias de los resultados obtenidos. En ella se presentan los resultados obtenidos para los antocianos, taninos e I280 respecto al factor momento de elaboración.

La disminución de los antocianos, en los vinos M, M1030 y MC fue significativa después de la fermentación maloláctica. En los vinos de MPF se produjo el mismo efecto aunque además se observaron diferencias entre los vinos después de acabar la fermentación maloláctica y tras 2 semanas. En los vinos de MF no se produjeron diferencias significativas entre las distintas etapas de la elaboración.

En los vinos de M, M1030, MF y MPF hay diferencias significativas en el contenido de taninos entre el final de la fermentación alcohólica, momento en el que es mayor, y tras la fermentación maloláctica y después de 2 semanas. El vino MC no presenta diferencias entre las distintas etapas.

En el caso del I280 el vino M1030 fue el único en el que no se observaron diferencias significativas entre los valores al final de las distintas fases. Los vinos MC y MF tuvieron un índice mayor tras finalizar la fermentación alcohólica que disminuyeron tras la fermentación maloláctica, no encontrándose diferencias entre esta etapa y después de 2 semanas. En M y MPF además hubo diferencias significativas entre el índice al finalizar la fermentación maloláctica y tras 2 semanas.

		M1030	M	MC	MF	MPF
Antocianos	FA	525,7 ^a	456,3 ^a	254,6 ^a	260,7 ^a	243,9 ^a
	ML	360,6 ^b	279,0 ^b	130,2 ^b	262,9 ^a	238,1 ^c
	2S	372,1 ^b	296,4 ^b	127,3 ^b	264,3 ^a	260,8 ^b
Taninos	FA	2,39 ^a	1,55 ^a	0,43 ^a	2,88 ^a	2,29 ^a
	ML	1,63 ^b	1,41 ^b	0,63 ^a	1,21 ^b	1,20 ^b

	2S	1,54 ^b	1,38 ^b	0,55 ^a	1,33 ^b	1,43 ^b
I280	FA	39,2 ^a	40,8 ^a	23,4 ^a	37,0 ^a	50,8 ^a
	ML	35,3 ^{a,b}	33,6 ^b	17,0 ^b	31,4 ^b	32,9 ^b
	2S	31,9 ^b	29,5 ^c	17,3 ^b	28,1 ^b	26,3 ^c

Tabla 2. Análisis ANOVA comparando entre distintas etapas dentro de un mismo vino. Donde FA (Fermentación alcohólica), ML (Fermentación maloláctica), 2S (2 semanas después de adicionar SO). Diferentes letras para cada parámetro en cada columna implica diferencias significativas a una $p < 0,05$

4.2.2. Estudio 2.

En la tabla 3 se muestran las medias de los resultados obtenidos. En ella se pueden ver si las diferencias para un parámetro entre los distintos vinos son significativas en una fase determinada. En este caso el factor es el tratamiento aplicado a cada vino. Las variables analizadas son: antocianos, taninos, I280, acidez total, acidez volátil, pH, azúcares reductores y grado alcohólico.

4.2.2.1. Final de la fermentación alcohólica

En esta etapa no hubo una diferencia significativa en los valores de acidez total ni en los de grado alcohólico. Respecto a los antocianos el tratamiento más efectivo fue el de M1030, con un contenido superior al de los vinos control de M. Por el contrario los vinos MPF dieron valores significativamente más bajos y MF y MC todavía menores que MPF. La extracción de los taninos fue superior utilizando la maceración en frío, seguido por los tratamientos de los vinos M1030 y MPF, mientras que la termovinificación dio lugar a vinos con un contenido significativamente menor que el de M. En cuanto al I280 el mayor índice se obtuvo por el método de la maceración postfermentativa, en cambio, MF y MC mostraron valores más bajos que el vino estándar. Respecto al pH los vinos MPF y MF dieron valores significativamente mayores que M, mientras que ni MC ni M1030 mostraron diferencias con éste. M1030 fue el vino con una menor acidez volátil en esta etapa. Por el contrario, MPF, MF y MC

arrojaron valores significativamente superiores al vino de referencia, siendo MC el mayor. En cuanto al contenido en azúcares reductores, sólo MC dio lugar a un vino con un contenido significativamente mayor.

4.2.2.2.Final de la fermentación maloláctica

El contenido en antocianos continuó siendo el mayor en M1030 y MPF y MC mostraron un contenido significativamente menor que el de M. Los vinos MC fueron los que tuvieron una menor cantidad de taninos que el resto. M1030 en esta etapa dio el mayor valor, significativamente superior al resto de vinos excepto que el estándar. El I280 en el vino MC fue significativamente menor al del resto, pero no se observó un vino que tuviera un índice mayor que el de M. Respecto a la acidez total y a la acidez volátil, MC arrojó los valores más elevados, siendo significativamente superiores al resto de vinos. En cuanto al pH tanto MF como MPF tuvieron un valor más bajo que el vino de referencia.

4.2.2.3.Tras 2 semanas de reposo

M1030 tuvo un contenido final en antocianos significativamente más alto que el de M, siendo en el resto de vinos más bajo que en éste último. La concentración final de taninos fue significativamente inferior en MC con respecto al resto de vinos. Por último no hubo ningún vino con un mayor I280 que M, aunque MPF y MC tuvieron valores más bajos.

		M1030	M	MC	MF	MPF
Antocianos	FA	525,7 ^a	456,3 ^b	254,6 ^d	260,7 ^d	343,9 ^c
	ML	360,6 ^a	279,0 ^b	130,2 ^d	262,9 ^{b,c}	238,1 ^c
	2S	372,1 ^a	296,4 ^b	127,3 ^d	264,3 ^c	260,8 ^c
Taninos	FA	2,39 ^{a,b}	1,55 ^c	0,43 ^d	2,88 ^a	2,29 ^b
	ML	1,63 ^a	1,41 ^{a,b}	0,63 ^c	1,21 ^b	1,20 ^b
	2S	1,54 ^a	1,38 ^a	0,55 ^b	1,33 ^a	1,43 ^a
I280	FA	39,2 ^{b,c}	40,8 ^b	23,4 ^d	37,0 ^c	50,8 ^a

	ML	35,3 ^a	33,6 ^{a,b}	17,0 ^c	31,4 ^b	32,9 ^{a,b}
	2S	31,9 ^a	29,5 ^{a,b}	17,3 ^d	28,1 ^{b,c}	26,3 ^c
Acidez total	FA	6,98 ^a	6,30 ^b	6,75 ^{a,b}	6,66 ^{a,b}	6,99 ^a
	ML	5,20 ^b	5,18 ^b	5,89 ^a	5,17 ^b	5,09 ^b
	2S	\	\	\	\	\
pH	FA	3,17 ^b	3,09 ^b	3,14 ^b	3,31 ^a	3,28 ^a
	ML	3,26 ^a	3,25 ^a	3,19 ^{a,b}	3,11 ^c	3,16 ^{b,c}
	2S	\	\	\	\	\
Acidez volátil	FA	0,17 ^d	0,22 ^c	0,46 ^a	0,36 ^b	0,32 ^b
	ML	0,48 ^b	0,51 ^b	0,74 ^a	0,56 ^b	0,48 ^b
	2S	\	\	\	\	\
Azúcares reductores	FA	2,35 ^b	2,40 ^b	4,70 ^a	2,35 ^b	1,65 ^b
	ML	\	\	\	\	\
	2S	\	\	\	\	\
Grado alcohólico	FA	11,0 ^a	11,1 ^a	11,2 ^a	11,0 ^a	11,1 ^a
	ML	\	\	\	\	\
	2S	\	\	\	\	\

Tabla 3. Análisis ANOVA comparando entre distintos vinos para una misma etapa. Diferentes letras para cada momento de la vinificación en cada fila implica diferencias significativas a una $p < 0,05$

5. Conclusiones

El proceso de termovinificación fue el menos efectivo de todos los estudiados en cuanto a la extracción y estabilidad del color. Los vinos obtenidos por este método tuvieron los valores más bajos de antocianos, taninos e índice de polifenoles totales. Esto se correspondió tras el análisis CIELAB con vinos más claros, con menor viveza de color y tonos menos rojos que el resto. Además presentaron otros aspectos negativos como una mayor acidez volátil y fueron vinos con mayor acidez total, por lo cual, este método no es útil para mejorar las características relacionadas con el color en un vino.

La parada de la fermentación alcohólica previa a la finalización de la misma, a una densidad de 1030 g/l, fue la que consiguió un mayor contenido de antocianos en el vino final, siendo más eficaz que el proceso estándar. En el análisis CIELAB se comprobó

que estos vinos fueron más oscuros, con tonos más rojos y más vivos, lo cual podría estar relacionado con su mayor contenido en antocianos. En cuanto a los taninos y el I280 este tratamiento no demostró ser más efectivo que el de control.

Por otra parte, excepto en el caso de los antocianos en los vinos obtenidos por el proceso de termovinificación, se obtuvieron valores más altos de antocianos, taninos e I280 al final de la fermentación alcohólica que en el punto final de la elaboración del vino, lo cual hace pensar que las operaciones posteriores a la fermentación alcohólica producen una pérdida de color en el vino. Una de estas operaciones puede ser la adición de metabisulfito que provoca un efecto de decoloración por su acción sobre los antocianos (Vivar-Quintana et al., 2002).

La maceración en frío y la maceración postfermentativa no tuvieron un efecto positivo en cuanto al contenido final de materia colorante, ya que presentaron valores de antocianos inferiores a los del vino de referencia y un contenido en taninos similar. Tampoco fueron vinos con un mayor índice de polifenoles totales y su acidez volátil fue mayor que la del vino estándar.

Ninguno de los tratamientos tuvo un efecto significativo en el grado alcohólico, ya que todos estuvieron en torno a los 11°. Sin embargo en los vinos obtenidos por termovinificación el contenido en azúcares reductores fue mayor que para el resto de vinos. Debido a esto, los vinos producidos por este método podrían tener un potencial alcohólico mayor al del resto de vinos.

Conclusions

Thermovinification process was the least effective of all studied for color extraction and its stability. The wines obtained by this method had the lowest values for anthocyanins, tannins and total polyphenol index. This corresponded after CIELAB analysis with lighter wines, less vivid color and less red than other ones. Also had other negative aspects such as increased volatile acidity and higher total acidity, therefore, this method is not useful for improving the characteristics associated with the color in the wine.

Stopping fermentation prior to the completion thereof, at a density of 1030 g / l, was related to a higher content of anthocyanins in the final wine, being more effective than

the standard process. The CIELAB analysis found that these wines were darker, had more red and vivid colors, which could be related to their higher content of anthocyanins. Regarding I280 and tannins this treatment showed not to be more effective than the control. Moreover, except in the case of anthocyanins in wines made by the thermovinification process, higher values of anthocyanins, tannins and I280 were obtained at the end of alcoholic fermentation in the endpoint of winemaking, which suggests that subsequent alcoholic fermentation operations produce a loss of color in the wine. One of these operations may be adding metabisulfite caused a bleaching effect by its action on the anthocyanins (Vivar-Quintana et al., 2002).

Cold maceration and post-fermentation maceration did not have a positive effect on the final content of coloring matter, as presented similar tannins content and lower anthocyanins values than the reference wine. Nor were wines with a higher index of total polyphenols and volatile acidity was higher than the standard wine.

None of the treatments had a significant effect on the alcoholic strength since they were all around 11 °. However, in the wines obtained by thermovinification the reducing sugar content was higher than for the other wines. Because of this, the wines produced by this method may have a higher potential alcoholic content than the other wines.

6. Identificación de las aportaciones que, en materia de aprendizaje, han supuesto la realización de esta asignatura

- Conocer bases de datos sobre ciencia y tecnología de alimentos y realizar búsquedas en ellas.
- Seleccionar y sintetizar la información relevante encontrada en las revisiones bibliográficas.
- Mejora en la redacción de informes y conocimiento en mayor profundidad de la estructura y el contenido de artículos científicos.
- Aprendizaje de vocabulario técnico relacionado con el campo de la ciencia y tecnología de alimentos, en concreto en el del vino, tanto en español como en inglés.

- Conocimiento de procedimientos analíticos del vino.
- Autonomía tanto en el proceso de trabajo de laboratorio como en la redacción del informe.
- Aprendizaje de análisis de datos, métodos de análisis estadísticos, elaboración de conclusiones a partir de los resultados obtenidos
- Aprendizaje de métodos de citación de referencias bibliográficas.

7. Evaluación de la asignatura y sugerencias de mejora

En general la asignatura ha estado bien planteada. Los trabajos ofrecidos abarcaban distintos campos y había posibilidad de elegir el que más le interesara a cada uno. Los recursos proporcionados en cuanto a información de la evaluación, apoyo del profesorado y equipo y material necesario para el desarrollo del trabajo fueron adecuados. Como sugerencias de mejora, cabría destacar que se dejara claro la diferencia entre el trabajo de fin de grado y el prácticum y su complementariedad, así como que es una asignatura de 6 créditos. En cuanto a lo último, creo que el número de horas dedicadas a la realización de esta asignatura es mayor al que correspondería a una asignatura de 6 créditos o al menos superior a otras asignaturas de la titulación de esta duración. Por otro lado aunque la oferta de trabajos es amplia y variada en mi opinión no hay una línea común entre muchos de los trabajos, y por lo tanto la evaluación de todos ellos mediante un mismo sistema con los mismos requisitos puede no ajustarse bien determinados trabajos.

8. Bibliografía

Almela, L., Javaloy, S., Fernández-López, J., & López-Roca, J. (1995). Comparison between the tristimulus measurements Y_{xy} and $L^*a^*b^*$ to evaluate the colour of young red wines. *Food Chemistry*, 53(3), 321-327. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/0308-8146\(95\)93940-S](http://dx.doi.org/10.1016/0308-8146(95)93940-S)

- Arnous, A., Makris, D. P., & Kefalas, P. (2002). Correlation of Pigment and Flavanol Content with Antioxidant Properties in Selected Aged Regional Wines from Greece. *Journal of Food Composition and Analysis*, 15(6), 655-665. doi: <http://dx.doi.org/10.1006/jfca.2002.1070>
- Bakker, J., Bridle, P., y Timberlake, C. F. (1986). Tristimulus measurements (CIELAB 76) of port wine color. *Vitis* 25, 67-78
- Bindon, K., Varela, C., Kennedy, J., Holt, H., & Herderich, M. (2013). Relationships between harvest time and wine composition in *Vitis vinifera* L. cv. Cabernet Sauvignon 1. Grape and wine chemistry. *Food Chemistry*, 138(2–3), 1696-1705. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.09.146>
- Birse, M. J., (2007). *The color of red wine*. University of Adelaide, Adelaide, 2007
- Bordons, A., Reguant, C. (2013) Bioquímica de las bacterias lácticas del vino y la fermentación maloláctica. *SEBBM* (Sociedad Española de Bioquímica y Biología Molecular), 176, junio 2013, 14-17
- Boulton, R. B., Singleton, V. L., Bisson, L. F & Kunkee, R. E. (1996). *Principles and practices of winemaking*. Chapman & Hall, New York
- Cacace, J. E. & Mazza, G. (2003). Mass transfer process during extraction of phenolic compounds from milled berries. *Journal of Food Engineering* 59: 379–389.
- Clarke, R. J., Bakker, J., & Wiley (2004). *Wine flavour chemistry*. Oxford, UK: Blackwell Pub.
- Fang, F., Li, J.-M., Zhang, P., Tang, K., Wang, W., Pan, Q.-H., & Huang, W.-D. (2008). Effects of grape variety, harvest date, fermentation vessel and wine ageing on flavonoid concentration in red wines. *Food Research International*, 41(1), 53-60. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2007.09.004>
- García-Marino, M., Escudero-Gilete, M. L., Heredia, F. J., Escribano-Bailón, M. T., & Rivas-Gonzalo, J. C. (2013). Color-copigmentation study by tristimulus colorimetry (CIELAB) in red wines obtained from Tempranillo and Graciano varieties. *Food Research International*, 51(1), 123-131. doi: 10.1016/j.foodres.2012.11.035

- Garrido, J., & Borges, F. (2013). Wine and grape polyphenols — A chemical perspective. *Food Research International*. doi: 10.1016/j.foodres.2013.08.002
- Gil-Muñoz, R., Gómez-Plaza, E., Martínez, A., & López-Roca, J. M. (1997). Evolution of the CIELAB and other spectrophotometric parameters during wine fermentation. Influence of some pre and postfermentative factors. *Food Research International*, 30(9), 699-705. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0963-9969\(98\)00029-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0963-9969(98)00029-5)
- Gómez-Míguez, M., González-Miret, M. L., & Heredia, F. J. (2007). Evolution of colour and anthocyanin composition of Syrah wines elaborated with pre-fermentative cold maceration. *Journal of Food Engineering*, 79(1), 271-278. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2006.01.054
- Gómez-Plaza, E., Gil-Muñoz, R., López-Roca, J. M., Martínez-Cutillas, A., & Fernández-Fernández, J. I. (2002). Maintenance of Colour Composition of a Red Wine During Storage. Influence of Prefermentative Practices, Maceration Time and Storage. *LWT - Food Science and Technology*, 35(1), 46-53. doi: 10.1006/fstl.2001.0809
- Heredia, F. J., Escudero-Gilete, M. L., Hernanz, D., Gordillo, B., Meléndez-Martínez, A. J., Vicario, I. M., & González-Miret, M. L. (2010). Influence of the refrigeration technique on the colour and phenolic composition of Syrah red wines obtained by pre-fermentative cold maceration. *Food Chemistry*, 118(2), 377-383. doi: 10.1016/j.foodchem.2009.04.132
- Ivanova, V., Dörnyei, Á, Márk, L., Vojnoski, B., Stafilov, T., Stefova, M., & Kilár, F. (2011). Polyphenolic content of Vranec wines produced by different vinification conditions. *Food Chemistry*, 124(1), 316-325. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.06.039>
- Joscelyne, V. (2009) Consequences of extended maceration on red wine colour and phenolics. Faculty of Sciences, School of Agriculture and Wine, Discipline of Wine and Horticulture.
- López, N., Puértolas, E., Condón, S., Álvarez, I., & Raso, J. (2008). Effects of pulsed electric fields on the extraction of phenolic compounds during the fermentation of

- must of Tempranillo grapes. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 9(4), 477-482. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ifset.2007.11.001>
- Revilla, E., García-Beneytez, E., Cabello, F., Martín-Ortega, G., & Ryan, J.-M. a. (2001). Value of high-performance liquid chromatographic analysis of anthocyanins in the differentiation of red grape cultivars and red wines made from them. *Journal of Chromatography A*, 915(1–2), 53-60. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0021-9673\(01\)00635-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0021-9673(01)00635-5)
- Sacchi, K. L., Bisson, L. F., & Adams, D. O. (2005). A Review of the Effect of Winemaking Techniques on Phenolic Extraction in Red Wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 56(3), 197-206.
- Scalbert, A. (1993). Phenolics in fruits and fruit products: Progress and prospects, polyphenolic phenomena. Paris: INRA Editions.
- Scudamore-Smith, P.D.; Hooper, R.L. & McLaren, E.D. (1990): Colour and phenolic changes of Cabernet Sauvignon wine made by simultaneous yeast/bacterial fermentation and extended pomace contact. *Am. J. Enol. Vitic.* 41: 57-67
- Somers, T. C., & Vérette, E. (1988). Phenolic Composition of Natural Wine Types. In H.-F. Linskens & J. Jackson (Eds.), *Wine Analysis* (Vol. 6, pp. 219-257): Springer Berlin Heidelberg.
- Vivar-Quintana, A. M., Santos-Buelga, C., & Rivas-Gonzalo, J. C. (2002). Anthocyanin-derived pigments and colour of red wines. *Analytica Chimica Acta*, 458(1), 147-155. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0003-2670\(01\)01619-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0003-2670(01)01619-1)