



Departamento de Química Agrícola y Edafología  
FACULTAD DE CIENCIAS  
UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA

**ESTUDIO DEL SECADO  
EN CONDICIONES CONTROLADAS  
Y PROCESO DE VINIFICACIÓN  
DE UVAS TINTAS  
DESTINADAS A LA OBTENCIÓN  
DE VINOS DULCES ANDALUCES  
DE CALIDAD**

ANA MÁRQUEZ VALLE  
CÓRDOBA SEPTIEMBRE 2012

TITULO: *ESTUDIO DEL SECADO EN CONDICIONES CONTROLADAS Y  
PROCESO DE VINIFICACION DE UVAS TINTAS DESTINADAS A LA  
OBTENCION DE VINOS DULCES ANDALUCES DE CALIDAD.*

AUTOR: *ANA MÁRQUEZ VALLE*

---

© Edita: Servicio de Publicaciones de la Universidad de Córdoba.  
Campus de Rabanales  
Ctra. Nacional IV, Km. 396 A  
14071 Córdoba

[www.uco.es/publicaciones](http://www.uco.es/publicaciones)  
[publicaciones@uco.es](mailto:publicaciones@uco.es)

---



**ESTUDIO DEL SECADO EN CONDICIONES CONTROLADAS Y  
PROCESO DE VINIFICACIÓN DE UVAS TINTAS DESTINADAS A LA  
OBTENCIÓN DE VINOS DULCES ANDALUCES DE CALIDAD**

MEMORIA PRESENTADA PARA OPTAR AL  
GRADO DE DOCTOR INTERNACIONAL EN QUÍMICA

CÓRDOBA, SEPTIEMBRE DE 2012

Fdo.: Ana Márquez Valle

LAS DIRECTORAS

FDO. JULIETA MÉRIDA GARCÍA  
CATEDRÁTICA DE UNIVERSIDAD

FDO. M<sup>a</sup> AZAHARA LÓPEZ TOLEDANO  
PROF<sup>a</sup>. CONTRATADA DOCTORA





**TÍTULO DE LA TESIS: ESTUDIO DEL SECADO EN CONDICIONES CONTROLADAS Y PROCESO DE VINIFICACIÓN DE UVAS TINTAS DESTINADAS A LA OBTENCIÓN DE VINOS DULCES ANDALUCES DE CALIDAD**

**DOCTORANDO/A: Ana Márquez Valle**

JULIETA MÉRIDA GARCÍA Y M<sup>a</sup> AZAHARA LÓPEZ TOLEDANO,

INFORMAN que la citada Memoria de Tesis Doctoral se ha realizado utilizando la metodología adecuada y haciendo uso de las técnicas idóneas para culminar los objetivos previstos. Asimismo, la licenciada Márquez Valle ha mostrado en todo momento una alta dedicación e interés por el tema de trabajo, superando con creces los niveles de calidad científica exigibles para la obtención del Grado de Doctor. Como consecuencia de los trabajos realizados, se han publicado varios artículos en revistas internacionales indexadas en el Journal Citation Report (JCR) y se han presentado numerosas comunicaciones en congresos, tanto nacionales como internacionales, algunas de ellas con capítulos de libros publicados.

Por todo ello, se autoriza la presentación de la tesis doctoral.

Córdoba, 5 de Julio de 2012

Firma del/de los director/es

Fdo.: Julieta Mérida García

Fdo.: M<sup>a</sup> Azahara López Toledano



*Una vez acabada la presente memoria, quisiera expresar mi agradecimiento a todas las personas que han contribuido a que este trabajo haya sido posible.*

*En primer lugar, mi más sincero agradecimiento a mis directoras de tesis. A D<sup>a</sup> Julieta Mérida García, por su inagotable paciencia, esfuerzo y dedicación durante estos años, por ser un ejemplo de trabajo y superación para todos nosotros. A D<sup>a</sup> Azahara López Toledano, por haber confiado en mí desde el primer momento y haberme animado a superarme cada día.*

*Quisiera dar las gracias de una manera especial a D. Manuel Medina, que tanto participó en el inicio de este proyecto, por tantos años al frente del grupo, y por prohibirnos hablar de trabajo durante los cafés. También, a D. Luis Zea y D<sup>a</sup> Lourdes Moyano, por estar siempre dispuestos a prestarme cualquier ayuda que he necesitado, y por el buen humor que demuestran en todo momento.*

*A todas las compañeras que han pasado por el despacho de becarios durante estos años, por todos los buenos ratos entre estas cuatro paredes. Muy especialmente, a María, por todo lo que me ha enseñado en este tiempo, y por descubrirme este maravilloso mundo de la Enología. A M<sup>a</sup> José, por todos los momentos compartidos en tierras bordelesas y por una ayuda que nunca podré devolverle lo suficiente.*

*Al resto del Grupo de Investigación de Viticultura y Enología, y a todos los miembros del Departamento de Química Agrícola y Edafología de la Universidad de Córdoba, por estar disponibles para cualquier consulta.*

*Quisiera mostrar también mi agradecimiento al Grupo de Investigación de Polifenoles de la Universidad de Salamanca, en especial a D. Celestino Santos Buelga y D<sup>a</sup> Montse Dueñas, por haberme hecho sentir parte del grupo durante el tiempo que tuve la suerte de compartir con ellos. A D. Pierre Louis Teissedre y a todo su Grupo de Investigación Cenopro de la Universidad Victor Segalen de Burdeos, por acogerme y permitirme realizar una estancia en uno de los centros de referencia mundial en el sector vitivinícola.*

*Al IFAPA de Cabra, en especial a D<sup>a</sup> Isabel López y D<sup>a</sup> Pilar Ramírez, por facilitar la materia prima necesaria para este trabajo. A Bodegas Alvear y a su enólogo D. Bernardo Lucena, y a Bodegas Barbadillo y D<sup>a</sup> Montse Molina, por su asesoramiento en el análisis sensorial.*

*A mi padre, por enseñarme que, pase lo que pase, siempre es posible seguir luchando, y a mi madre, por ser el espejo en el que siempre intentaré mirarme. A mis hermanos, cada uno a su manera son responsables de lo que hoy soy. A los más pequeños de la casa, por devolverme la sonrisa, incluso en los malos momentos.*

*Por último, a Antonio, por el tiempo que me ha dedicado y todo el que yo no le pude dedicar durante la realización de este trabajo.*





*Hay una fuerza motriz  
más poderosa que el vapor,  
la electricidad y la energía atómica:  
la voluntad*  
(Albert Einstein)

*A mi familia y a ti*



## *Índice*

---



<b>RESUMEN/ABSTRACT/RÉSUMÉ</b> -----	1
<b>OBJETIVOS/OBJECTIFS</b> -----	9
<b>CAPÍTULO 1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</b> -----	13
CLASIFICACIÓN DE LOS COMPUESTOS FENÓLICOS -----	15
1. Compuestos fenólicos no flavonoideos -----	16
1.1. Ácidos hidroxibenzoicos -----	16
1.2. Ácidos hidroxicinámicos -----	16
1.3. Estilbenos -----	17
2. Compuestos fenólicos flavonoideos -----	18
2.1. Flavonoles -----	19
2.2. Flavonas -----	20
2.3. Flavanonas -----	21
2.4. Flavanonoles -----	21
2.5. Calconas y dihidrocalconas -----	22
2.6. Antocianos -----	22
2.7. Flavan-3-oles -----	24
2.8. Flavan-3,4-dioles -----	25
3. Taninos -----	25
3.1. Taninos hidrolizables -----	26
3.2. Taninos condensados -----	27
3.3. Taninos complejos -----	31
REACTIVIDAD DE LOS ANTOCIANOS -----	32
1. Equilibrios de los antocianos en función del pH -----	32
2. Copigmentación -----	34
3. Degradación de los antocianos -----	36
3.4. Degradación térmica de los antocianos -----	37
3.5. Degradación de antocianos en presencia de cetonas -----	38
3.6. Degradación oxidativa de antocianos -----	39
4. Formación de aductos por cicloadición. Piranoantocianos -----	39
4.1. Vitisinas -----	40
4.1.1. Carboxipiranoantocianos -----	41
4.1.2. Vitisinas tipo B -----	42
4.1.3. Metilpiranoantocianos -----	43
4.1.4. Otros piranoantocianos -----	43
4.2. Piranoantocianos resultantes de la reacción entre antocianos y compuestos vinílicos -----	43
4.2.1. Pinotinas -----	43
4.2.2. Piranoantocianos-flavonoles -----	45
4.3. Oxovitisinas -----	46
4.4. Vinilpiranoantocianos -----	47
4.5. Piranoantocianos dímeros -----	49

5. Reacciones de condensación de antocianos y taninos -----	51
5.1. Reacción directa tanino-antociano (T-A) -----	51
5.2. Reacción directa antociano-tanino (A-T) -----	52
5.3. Reacción indirecta a través de un puente metilmetileno -----	52
5.4. Dímeros de antocianos -----	54
REACCIONES DE PARDEAMIENTO EN UVAS, MOSTOS Y VINOS -----	55
1. Pardeamiento enzimático -----	55
2. Pardeamiento no enzimático -----	57
3. Reacción de Maillard -----	67
PROCESO DE SECADO DE LAS UVAS -----	75
1. Secado tradicional al sol -----	75
1.1. Secado de las uvas al sol sin recubrimiento -----	75
1.2. Secado de las uvas al sol con recubrimiento -----	76
2. Secado a la sombra -----	77
3. Secaderos solares -----	77
3.1. Secaderos solares de tipo directo -----	78
3.2. Secaderos solares de tipo indirecto -----	78
3.3. Secaderos solares mixtos -----	79
4. Secado en recintos cubiertos -----	80
5. Secado en cámara -----	80
VINOS DULCES -----	82
1. Vinos dulces de uvas pasificadas -----	83
1.1. Vinos Pedro Ximénez -----	83
1.2. Vinos Passito -----	83
1.3. Vino tostado -----	84
1.4. Vin Santo -----	84
1.5. Recioto -----	85
1.6. Vino de paja (Vin de paille) -----	85
2. Vinos dulces fortificados -----	85
2.1. Vinos de Oporto -----	85
2.2. Vinos de Madeira -----	86
3. Vinos de hielo -----	87
4. Vinos de podredumbre noble -----	88
<b>CAPÍTULO 2. MÉTODOS EXPERIMENTALES -----</b>	<b>91</b>
DETERMINACIONES ENOLÓGICAS GENERALES -----	93
Grados Brix -----	93
pH -----	93
Acidez volátil -----	93

Azúcares reductores -----	93
Etanol -----	94
Ácido pirúvico -----	94
Acetaldehído -----	94
DETERMINACIONES ESPECTROFOTOMÉTRICAS -----	94
CIELAB -----	95
Absorbancias a 420, 520 y 620 nm -----	95
Intensidad colorante y tonalidad -----	95
Color total de pigmentos -----	95
Color de pigmentos poliméricos -----	95
Índice de polifenoles totales -----	95
Taninos totales -----	95
Actividad antioxidante -----	96
DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS -----	97
Extracción en fase sólida -----	97
Identificación y análisis en HPLC -----	98
Cuantificación de compuestos fenólicos -----	100
PROCEDIMIENTOS ESTADÍSTICOS -----	102
ANÁLISIS SENSORIAL -----	103
<b>CHAPITRE 3. SÉCHAGE DES RAISINS ROUGES EN CHAMBRE EN CONDITIONS CONTRÔLÉES</b> -----	<b>105</b>
INTRODUCTION -----	107
MATÉRIEL EXPÉRIMENTAL -----	109
RÉSULTATS ET DISCUSSION -----	111
Caractérisation des raisins -----	111
Processus de séchage des raisins -----	115
Évolution de la couleur au cours du passerillage -----	117
Identification de vitisines et adduits de condensation d'anthocyanes et de flavanols au cours du passerillage des raisins -----	123
Évolution des composés phénoliques au cours du passerillage -----	133
CONCLUSIONS/CONCLUSIONES-----	160
<b>CAPÍTULO 4. MACERACIÓN PELICULAR EN LA ELABORACIÓN DE LOS VINOS</b> -----	<b>165</b>
INTRODUCCIÓN -----	167
MATERIAL EXPERIMENTAL -----	169
RESULTADOS Y DISCUSIÓN -----	170
Evolución del color durante la maceración -----	170
Evolución de los compuestos fenólicos durante la maceración -----	176
Estudio estadístico -----	200
CONCLUSIONES/CONCLUSIONS -----	205



<b>CAPÍTULO 5. ENVEJECIMIENTO CON VIRUTAS Y EVOLUCIÓN EN BOTELLA DE VINOS TINTOS DULCES</b> -----	209
INTRODUCCIÓN -----	211
MATERIAL EXPERIMENTAL -----	214
RESULTADOS Y DISCUSIÓN -----	216
Estudio de los vinos tras el contacto con escamas de roble -----	216
Análisis sensorial de los vinos antes y tras contacto con virutas de roble -----	224
Estudio de la evolución en botella de los vinos -----	228
Análisis sensorial de los vinos tras la estabilización en botella -----	256
CONCLUSIONES/CONCLUSIONS-----	259
<b>CAPÍTULO 6. ANÁLISIS DE VINOS TINTOS DULCES COMERCIALES</b> -----	265
INTRODUCCIÓN -----	267
MATERIAL EXPERIMENTAL -----	269
RESULTADOS Y DISCUSIÓN -----	269
Estudio del color -----	269
Estudio de la composición fenólica -----	274
Estudio estadístico -----	282
CONCLUSIONES/CONCLUSIONS-----	287
<b>BIBLIOGRAFÍA</b> -----	291
<b>ANEXO 1. TABLAS</b> -----	333
<b>ANEXO 2. TRABAJOS PUBLICADOS</b> -----	421

## *Resumen/Abstract/Résumé*

---



## **RESUMEN**

---

En el presente trabajo, se ha desarrollado un método de vinificación para la obtención de vinos tintos dulces, a partir de uvas de las variedades Merlot, Syrah, Tempranillo y Cabernet Sauvignon implantadas en la D.O. Montilla-Moriles, como alternativa para mejorar las características de este tipo de vino actualmente elaborado y comercializado en esta zona vitícola. El estudio se concreta en el seguimiento de los parámetros de color, composición fenólica medida por HPLC-DAD-MS y capacidad antioxidante durante las distintas etapas del proceso de vinificación. En primer lugar, se estudia el proceso de pasificación de las uvas mediante secado en cámara con condiciones controladas de temperatura y humedad, que provocaron una extracción de los antocianos desde los hollejos hacia la pulpa, obteniéndose así mostos con típico color rojo, muy oscuros y con poca participación de colores pardos. Asimismo, se ha realizado un seguimiento del proceso de maceración de los vinos con los hollejos, a fin de optimizar el tiempo de contacto para que el color y la concentración de polifenoles sean los más adecuados analítica y sensorialmente. Posteriormente, se ha ensayado una alternativa de aceleración del envejecimiento de los vinos mediante la adición de virutas de roble americano y oxigenaciones periódicas. Finalmente, se ha estudiado la evolución en botella de los vinos obtenidos almacenándolos a temperatura ambiente durante un periodo de un año. Los resultados han mostrado que los vinos modifican tanto el color como su composición fenólica, como consecuencia de reacciones de degradación.

## **ABSTRACT**

---

In the present work, a new vinification method has been development for the obtention of sweet red wines from Merlot, Syrah, Tempranillo and Cabernet Sauvignon grapes cultivated in D.O. Montilla-Moriles. This new method is presented as alternative to improve the characteristics of these wines currently produced and marketed in this vine-growing zone. Specifically, the study is focused in monitoring the color parameters, phenolic composition measured by HPLC-DAD-MS and antioxidant capacity during different stages of vinification. First, the drying process in chamber with controlled temperature and humidity was studied. This process resulted in an extraction of anthocyanins from the skins to the pulp, obtaining musts with typical red color, very dark and with little participation of brown hues. The maceration process of the wine with the skins was also monitored, in order to optimize the contact time to obtain a suitable analytical and sensory color and polyphenols concentration. Subsequently, an alternative accelerated wine aging has been tested by adding american oak chips and making periodical oxygenations. Finally, the wine evolution during the storage in bottle for a period of one year at room temperature was monitored. The results showed that wines had changes in their color and phenolic composition as a result of degradation reactions.

## **RÉSUMÉ**

---

Dans ce travail, une méthode de vinification pour obtenir des vins rouges des cépages Merlot, Syrah, Tempranillo et Cabernet Sauvignon, cultivés dans l'Appellation d'Origine Montilla-Moriles, est développée. Cette méthode se présente comme une alternative pour améliorer les caractéristiques des vins produits et commercialisés actuellement dans cette zone. Les paramètres de la couleur des vins, la composition phénolique, quantifiée par HPLC-DAD-MS, et la capacité antioxydante, sont mesurés au cours de la vinification. Tout d'abord, le processus de séchage des raisins en chambre en conditions de température et humidité contrôlées est étudié. Le séchage provoque une extraction des anthocyanes des pellicules à la pulpe et l'obtention des moûts avec une couleur rouge typique, très foncés et avec peu participation des couleurs brunes. Le processus de macération des vins avec les pellicules est également suivi, afin d'optimiser le temps de contact et d'obtenir la couleur et la concentration phénolique, analytiques et sensorielles, plus appropriées. Après, une alternative d'élevage accéléré, avec l'addition des copeaux de chêne américains et d'oxygénation périodique, est essayée. Enfin, la conservation des vins en bouteille à température ambiante, est étudiée pendant un an. Les résultats montrent que la couleur et la composition phénolique des vins sont modifiées, par suite des réactions de dégradation.



## *Objetivos/Objectifs*

---





## OBJETIVOS

El descenso del consumo de vinos blancos tradicionales andaluces ha llevado en los últimos años a adoptar por administraciones y empresas una serie de medidas, desde productivas hasta comerciales. Como excepción en los vinos tradicionales, el dulce de pasas Pedro Ximénez ha ido incrementando sus ventas hasta alcanzar en la actualidad la totalidad de su producción.

Por otro lado, una de las medidas estimuladas desde la Junta de Andalucía ha sido la implantación de variedades de uva tinta que permita diversificar la oferta al mercado en un tipo de vino de mayor consumo que los blancos. Aunque esta producción está en crecimiento, la similitud en el tipo de producto choca competitivamente con otras Denominaciones de Origen con mucha mayor experiencia de mercado en vinos tintos tradicionales. En consecuencia, extender su consumo más allá del local o regional no parece razonablemente una tarea fácil, al menos a corto y medio plazo y en función de la calidad ofertada. Sin embargo, generalmente el mundo del consumo suele premiar “lo diferente”, y más en el sector enológico, por lo que destinar parte de la producción de vinos tintos andaluces de tipo tradicional hacia la elaboración de tintos dulces puede contribuir a crear ese carácter distintivo que permita una más fácil penetración en otros mercados.

Por ello, es razonable pensar en la probable aceptación por el mercado de un vino tinto andaluz con carácter propio y de tipo dulce recordando a pasa y, consecuentemente, más o menos emparentado en algunas características organolépticas con el blanco dulce Pedro Ximénez. Ello favorecería la necesaria diversificación del mercado, pudiendo aprovechar canales conjuntos de comercialización para los vinos dulces andaluces, blancos y tintos.

Por otro lado, la etapa de envejecimiento de vinos incrementa sustancialmente los costes de producción, no sólo por el uso de un material caro como la madera y su fabricación, sino por la atención periódica que exigen los vinos en envejecimientos prolongados (controles analíticos, posibles trasiegos periódicos, etc.). Por ello, la disminución en la duración de esta fase de elaboración conlleva menores costes de producción.

El presente trabajo de Tesis Doctoral se planteó en base a los siguientes objetivos:

1. Estudiar la fase de secado de uvas de las variedades Merlot, Syrah, Tempranillo y Cabernet Sauvignon, cultivadas en el clima cálido de Andalucía, en cámara con condiciones controladas de temperatura y humedad, a fin de lograr un máximo color rojo típico de estos mostos y una disminución de los tonos pardos que se originan cuando se realiza la pasificación tradicional al sol.
2. Optimizar la fase de maceración de los vinos con las partes sólidas de la uva a fin de obtener el máximo color y concentración más adecuada de compuestos fenólicos en los vinos tintos dulces monovarietales obtenidos.
3. Acortar la etapa de envejecimiento de los vinos tintos dulces, mediante el almacenamiento a temperatura controlada, con aireación periódica y con adición de virutas de roble americano, con objeto de optimizar su perfil sensorial.

4. Estudiar la evolución del color y composición fenólica de los vinos tintos dulces obtenidos, con y sin envejecimiento previo con virutas, durante el almacenamiento en botella de dichos vinos por un periodo de un año.
5. Comparar los vinos tintos dulces obtenidos por el sistema alternativo de secado, con vinos comerciales obtenidos a partir de uvas secadas al sol.

## OBJECTIFS

Ces dernières années, la baisse de la consommation des vins blancs andalous traditionnels a conduit à adopter une série de changements productifs et commerciaux, aux gouvernements et aux entreprises. Comme une exception, les vins doux traditionnels Pedro Ximenez ont augmenté leur ventes jusqu'à la totalité de leur production.

Par ailleurs, le Gouvernement d'Andalousie a favorisé la culture des cépages de raisins rouges, pour obtenir une diversification de l'offre et car des vins rouges commerciaux sont plus consommés que les vins blancs. Bien que cette production augmente, les vins rouges sont très similaires à ces obtenues dans d'autres Appellations d'Origine avec plus expérience. Par conséquent, augmenter la consommation de ces vins ailleurs de la région ne paraît pas une tâche facile, en fonction de la qualité offerte. Cependant, généralement les consommateurs tendent à récompenser les produits «différentes», notamment dans le secteur du vin. À cet égard, la destination d'une partie de la production des vins rouges andalous vers l'élaboration de vins rouges doux peut contribuer à différencier les produits et à permettre les ventes dans autres marchés.

En conséquence, un vin rouge andalous avec un caractère différent, et avec des caractéristiques organoleptiques proche des vins blancs doux Pedro Ximenez peut être accepté. Cela permettrait la diversification du marché et une commercialisation simultanée des vins doux andalous, blancs et rouges.

D'autre coté, l'élevage des vins augmente considérablement les coûts de production pour l'utilisation et la fabrication des barriques de bois, mais aussi car une contrôle régulière est nécessaire pendant l'élevage (contrôles analytiques, possibles décuvages, etc.). C'est pour cela que la diminution de la durée de cette étape conduirait à réduire leur coûts de production.

Cette Thèse de Doctorat a été proposée sur la base des objectifs suivants:

1. Étudier le séchage des raisins des cépages Merlot, Syrah, Tempranillo et Cabernet Sauvignon, cultivés dans le climat chaud de l'Andalousie, à température et humidité contrôlées, afin d'obtenir le maximum de couleur rouge typique de ces moûts et une diminution de teintes brunes qui se produisent pendant la passerillage traditionnelle au soleil.
2. Optimiser l'étape de macération des vins avec les pellicules, a fin d'obtenir la couleur maximale et la concentration plus maîtrisée de composés phénoliques des vins rouges doux monocépages obtenus.
3. Écourter l'élevage des vins rouges doux grâce au stockage à température contrôlée, avec une aération périodique et l'addition des copeaux de chêne américain, afin d'optimiser le profil sensoriel.
4. Étudier l'évolution de la couleur et de la composition phénolique des vins rouges doux obtenus, avant et après l'élevage avec des copeaux de chêne, lors de la conservation en bouteille, pendant un an.
5. Comparer les vins rouges doux obtenus par le système alternatif de séchage vis-à-vis des vins commerciaux obtenus à partir des raisins séchés au soleil.



# *Revisión bibliográfica*

---



## CLASIFICACIÓN DE LOS COMPUESTOS FENÓLICOS

Los compuestos fenólicos son una familia de compuestos químicos presentes en el mundo vegetal bajo estructuras muy diversas y que en enología tienen un papel muy importante, ya que están presentes en las uvas y en los vinos y son los responsables del color y de sus características sensoriales, como astringencia, amargor y cuerpo (García-Puente Rivas *et al.*, 2006; Parpinello *et al.*, 2009). En concreto, en los vinos tintos, el color se debe principalmente a los antocianos y en los vinos blancos a varios flavonoides de pigmentación amarilla. Por otra parte, existen numerosas familias de fenoles incoloros que son muy reactivos y que pueden modificar el color de los vinos debido a su participación en reacciones muy diversas, como la copigmentación, la polimerización o el pardeamiento, entre otras.

La astringencia es un proceso complejo que implica muchos mecanismos, pero se considera que es una sensación táctil causada por una pérdida de lubricidad en la cavidad bucal (Kallithraka *et al.*, 2001; Rossetti *et al.*, 2009). Los mecanismos exactos de este proceso no se conocen bien, pero se sabe que entre los efectos que contribuyen a una sensación astringente se encuentra un aumento en la fricción (De Wijk and Prinz, 2005; Rossetti *et al.*, 2009), la interacción entre los taninos y las proteínas epiteliales orales (Payne *et al.*, 2009) o con los receptores del gusto, sobre todo receptores amargos (Brossaud *et al.*, 2001; Kallithraka *et al.*, 2001) y un cambio en la viscosidad de saliva (Smith *et al.*, 1996). La estructura química responsable de las propiedades astringentes es el resto di- o tri- hidroxifenil característico de algunos fenoles simples y de los taninos hidrolizables. Dado que el tamaño molecular de los compuestos fenólicos afecta al amargor y a la astringencia del vino (Lea, 1990; Peleg *et al.*, 1999), se han llevado a cabo estudios que pretenden correlacionar estas propiedades sensoriales con la composición fenólica de la uva y el vino (Brossaud *et al.*, 2001).

Por otro lado, los compuestos fenólicos son muy estudiados por sus propiedades antioxidantes, tanto como captadores de radicales libres como quelatantes de metales, que son el motivo de sus posibles implicaciones en la salud humana, explicando la llamada “paradoja francesa” y la prevención de enfermedades cardiovasculares, cáncer o incluso enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer. Según la teoría oxidante del ateroma (Partasarathy and Rankin, 1992), los fenoles flavonoides del vino podrían prevenir el desarrollo de lesiones vasculares mediante la protección contra las lipoproteínas de baja densidad (LDL).

Los compuestos fenólicos se encuentran presentes en las diferentes partes de las uvas, pero su concentración depende, en gran medida, de factores como la variedad y la madurez, además de otros factores externos como el clima y el suelo. Durante la vinificación, los compuestos fenólicos son extraídos hacia el vino, pero su concentración final se puede ver modificada por el método de vinificación utilizado, las condiciones de fermentación, operaciones como la maceración, fermentación maloláctica o clarificación con diversos agentes, además de por un posible envejecimiento posterior (Soto Vazquez *et al.*, 2010; Ivanova *et al.*, 2011). Con todo ello, se podría decir que los compuestos fenólicos presentes en los vinos tienen orígenes muy diferentes, ya que pueden provenir de la uva y ser extraídos durante el proceso de vinificación, haber sido producidos debido a las transformaciones



enzimáticas o no enzimáticas que se llevan a cabo durante su elaboración, o bien pueden provenir de la madera, entre otros.

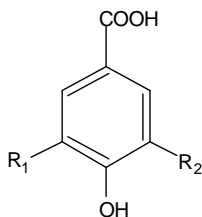
En la naturaleza aparecen unos 8000 compuestos fenólicos, que poseen como estructura común un anillo bencénico con al menos un sustituyente hidroxilo. Atendiendo a su estructura química se han clasificado desde diversos puntos de vista, pero en una primera diferenciación se pueden distinguir dos tipos de compuestos: no flavonoideos y flavonoideos.

## 1. Compuestos fenólicos no flavonoideos

Los principales fenoles no flavonoides de importancia alimentaria son los ácidos fenólicos, dentro de los que se encuentran los ácidos hidroxibenzoicos, los ácidos hidroxicinámicos y los estilbenos.

### 1.1. Ácidos hidroxibenzoicos

Estos compuestos contienen siete átomos de carbono con una estructura C<sub>6</sub>-C<sub>1</sub>, compuesta por un único anillo bencénico sobre el que se une una cadena alifática (figura 1.1). Son numerosos los ácidos hidroxibenzoicos identificados en uvas y vinos, como los ácidos vanílicico, *p*-hidroxibenzoico, protocátéquico o siríngico, además del ácido gálico, que es el compuesto más importante por encontrarse como monómero en concentraciones abundantes en vinos tintos (65-165 mg/L) y blancos (4-11 mg/L), y bajo la forma de éster de flavanol (Cheynier *et al.*, 1998).



Ácido hidroxibenzoico	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>
Ácido gálico	OH	OH
Ácido <i>p</i> -hidroxibenzoico	H	H
Ácido protocátéquico	OH	H
Ácido vanílicico	OCH <sub>3</sub>	H
Ácido siríngico	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>

Figura 1.1. Estructura base de los ácidos hidroxibenzoicos.

### 1.2. Ácidos hidroxicinámicos

Los ácidos hidroxicinámicos son unos de los ácidos fenólicos más representativos encontrados en uvas y vinos, cuya estructura química se basa en un anillo bencénico con una cadena alifática de 3 carbonos y uno o varios grupos hidroxilos (figura 1.2a). Los ácidos hidroxicinámicos más importantes son los ácidos cafeico, *p*-cumárico y ferúlico, que se encuentran en las vacuolas de las células del hollejo y en la pulpa de las bayas, y que normalmente se acumulan en forma de ésteres del ácido tartárico, dando lugar a los ácidos caftárico (ácido cafeoil tartárico), cutárico (ácido *p*-cumaril tartárico) y fertárico (ácido feruloil tartárico), cuya estructura se muestra en la figura 1.2b. Debido a la presencia de un doble enlace en la cadena alifática, estos ésteres pueden encontrarse en las formas isómeras *cis* o *trans*, y aunque la última es la forma natural de éstos ésteres, pueden convertirse de una a

otra por acción de la luz, o bien enzimáticamente (Singleton *et al.*, 1978; Karaderiz *et al.*, 2000; Rodríguez Montealegre *et al.*, 2006; Garrido and Borges, 2011).

Estos compuestos hidroxicinámicos se asocian a procesos de pardeamiento y son precursores de compuestos fenólicos volátiles (Kallithraka *et al.*, 2009). Aunque en los vinos blancos hay bastante menos concentración de compuestos fenólicos en comparación con los tintos, los primeros contienen mayor porcentaje de ésteres de ácidos hidroxicinámicos. Así, los ácidos hidroxicinámicos y sus ésteres son los fenoles más importantes presentes en vinos blancos y los principales compuestos no flavonoides en los vinos tintos (Vanzo *et al.*, 2007).

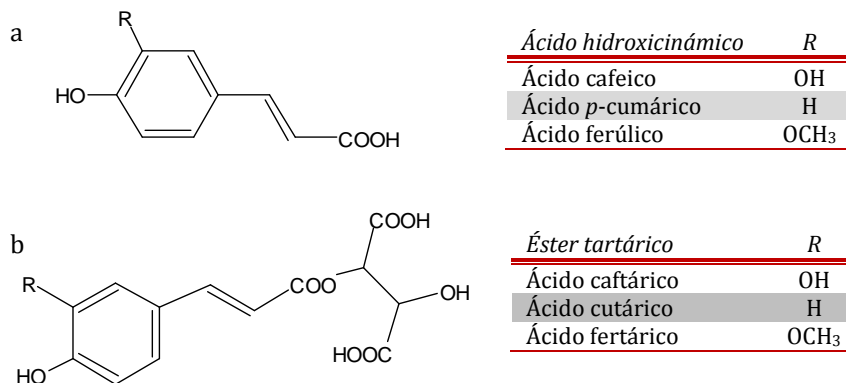


Figura 1.2. Estructura base de los ácidos hidroxicinámicos (a) y de sus ésteres tartáricos (b).

### 1.3. Estilbenos

Los estilbenos son compuestos fenólicos con una estructura química que corresponde a la fórmula C<sub>6</sub>-C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>, con dos anillos bencénicos unidos por un puente etileno y que son producidos por las plantas como respuesta a ataques fúngicos, bacterianos o víricos. En la uva se ha encontrado el resveratrol, que puede estar en formas *cis* o *trans*, así como su derivado glicosilado (Cheynier *et al.*, 1998). El *trans*-resveratrol o 3,5,4'-trihidroxiestilbeno (figura 1.3), es un compuesto de gran importancia en las bayas, ya que es producido por la viña en respuesta a ataques fúngicos como la podredumbre (*Botrytis cinerea*) (Langkake and Pryce, 1976). Los estudios sobre él se han multiplicado en los últimos años, tras demostrarse sus propiedades antioxidantes y acción anticarcinogénica (Scott *et al.*, 2012). En este sentido se han llevado a cabo numerosos estudios en relación a este compuesto, demostrando su efecto antitumorocida (Jang and Pezzuto, 1999), capacidad de inhibir el crecimiento de líneas celulares de carcinoma humano de mama (Lu and Serrero, 1999), así como actividad antineoplásica (Hsieh and Wu, 1999), leucemia promielocítica (Surh *et al.*, 1999), carcinoma de la boca (Elattar and Virji, 1999) y hepatoma humano inducido (Ciolino *et al.*, 1998).

Las mayores concentraciones de resveratrol se encuentran en los hollejos de las uvas y varían dependiendo de la variedad y del tipo de vinificación, estando presente en mayor concentración en vinos tintos en los que se ha llevado a cabo una

maceración con las pieles, en comparación con los vinos blancos (Ribeiro de Lima, 1999; Gambuti *et al.*, 2004; Moreno-Labanda *et al.*, 2004).

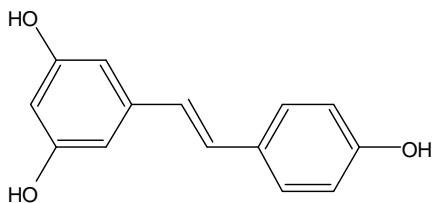


Figura 1.3. Estructura química del *t*-resveratrol

## 2. Compuestos fenólicos flavonoideos

Los flavonoides son los compuestos fenólicos más abundantes, los cuales presentan funciones muy diferentes tanto en plantas como en metabolitos secundarios, estando implicados en procesos de defensa frente a la radiación ultravioleta, así como en la pigmentación y en la resistencia frente a diferentes ataques patógenos (Cotoras *et al.*, 2001; Prasad *et al.*, 2009; Wang *et al.*, 2009).

Dentro de la familia de los flavonoides se agrupan numerosos compuestos fenólicos formados todos ellos por 15 átomos de carbono en el esqueleto base (figura 1.4), de acuerdo a una estructura C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>, que está formada por dos anillos aromáticos (A y B) unidos por un puente de 3 carbonos (anillo C).

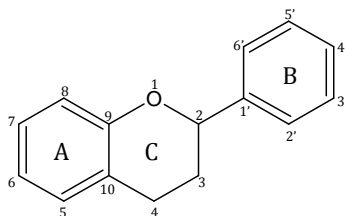


Figura 1.4. Esqueleto base de los compuestos flavonoideos.

El anillo A se encuentra normalmente dihidroxilado en las posiciones 5 y 7, mientras que el B puede estar mono, di o trihidroxilado y presentar diferentes grados de metoxilación. Dependiendo del grado de insaturación de su anillo C, aparecen las distintas familias de flavonoides, tales como flavonoles, flavonas, flavanoles, flavan-3-oles y antocianidinas (figura 1.5). En este sentido, los flavonoles presentan un ciclo pirona, los flavanoles monómeros y polímeros (taninos) presentan un ciclo pirano completamente saturado y en el caso de las antocianidinas, el anillo C aparece en forma pirilio con una carga catiónica (catión flavilio).

La mayor parte de los compuestos flavonoideos existen en forma glicosilada, con diferente naturaleza del azúcar según la especie. Todas estas sustituciones modifican la solubilidad de los compuestos, siendo más hidrófilos debido a las hidroxilaciones y glicosilaciones, aunque otras sustituciones como la metilación pueden convertirlos en más lipófilos.

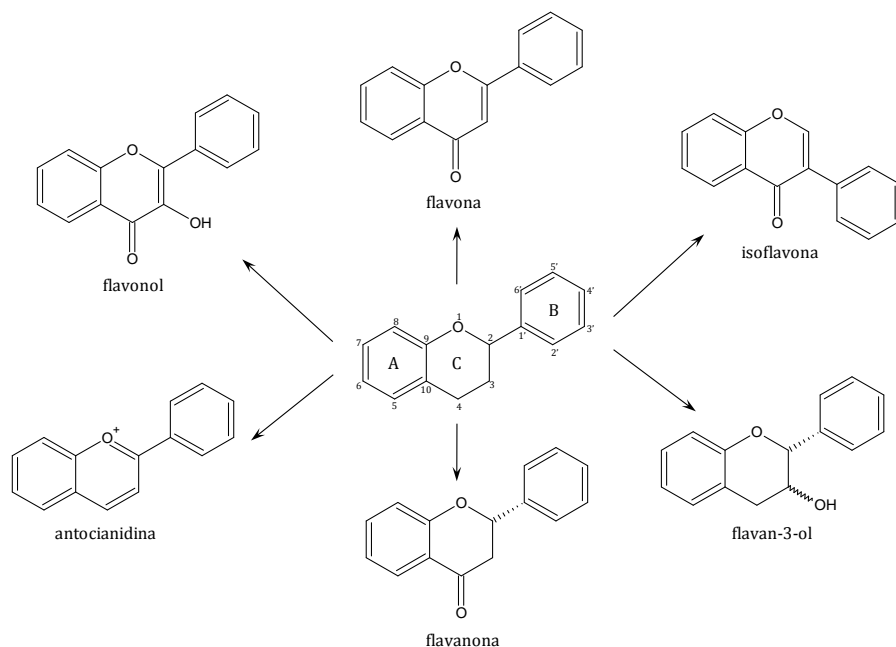


Figura 1.5. Estructura base de los principales flavonoides.

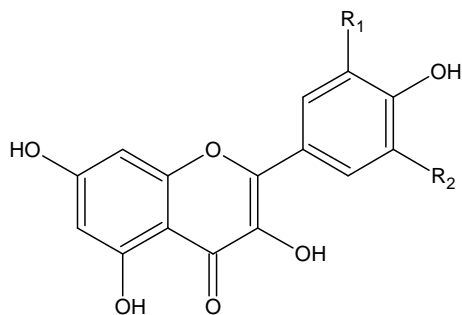
## 2.1. Flavonoles

Los flavonoles se caracterizan por la presencia de un doble enlace entre los átomos C<sub>2</sub> y C<sub>3</sub>, además de un grupo hidroxilo en C<sub>3</sub> (figura 1.6), y aproximadamente el 90% de ellos están hidroxilados en posición 3, 5 y 7, por lo que en ocasiones se denominan 3,5,7-trihidroxi flavonas (Castillo-Muñoz *et al.*, 2007).

Dentro de esta familia fenólica se encuentran las agliconas quercetina, kaempferol, isorhamnetina, miricetina, laricitrina y siringetina, las cuales pueden encontrarse unidas a moléculas de azúcar dando lugar a los glucósidos, glucurónidos, galactósidos y diglucósidos (Monagas *et al.*, 2005b). En las uvas sólo se han identificado glicósidos de flavonoles, en tanto que en los vinos también se han encontrado las agliconas, que se liberarían tras la hidrólisis ácida de los glicósidos durante los procesos de vinificación y envejecimiento (Zou *et al.*, 2002; Zafrilla *et al.*, 2003; Castillo-Muñoz *et al.*, 2009b). Las formas más abundantes en las bayas son las glucosiladas, aunque también aparecen derivados diglicósidos que han sido caracterizados en la piel de uvas de *Vitis vinifera* (Cheynier and Rigaud, 1986).

Estos compuestos son pigmentos de color amarillo que se encuentran en los hollejos y, en parte, son responsables del color de los vinos blancos debido a su máximo de absorbancia a longitudes de onda de aproximadamente 350 nm y 370 nm para los glicósidos y agliconas respectivamente, pudiendo aumentar también el color de los vinos tintos por ser buenos copigmentos de los antocianos (Boulton, 2001).

La concentración de esta familia fenólica en los vinos tintos puede llegar a 100 mg/L y entre 1 y 3 mg/L en los vinos blancos (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1998).



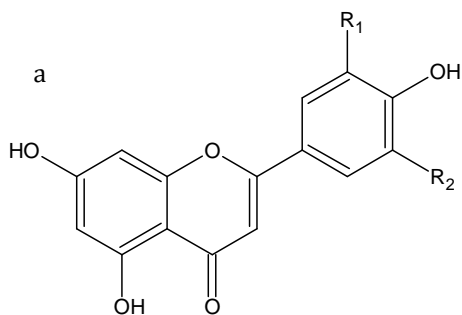
<i>Flavonol</i>	<i>R</i> <sub>1</sub>	<i>R</i> <sub>2</sub>
Kaempferol	H	H
Quercetina	OH	H
Miricetina	OH	OH
Isorhamnetina	OCH <sub>3</sub>	H
Laricitrina	OCH <sub>3</sub>	OH
Siringerina	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>

Figura 1.6. Estructura base de los flavonoles.

## 2.2. Flavonas

Las flavonas se caracterizan por la presencia de un doble enlace entre los carbonos C<sub>2</sub> y C<sub>3</sub> y por la ausencia de grupo hidroxilo en posición 3 (figura 1.7a). Las flavonas están ampliamente distribuidas en las plantas, siendo la luteolina, la apigenina y la tricina las agliconas principales encontradas en vegetales, y han sido descritos por tener importantes actividades farmacológicas. En las uvas han sido identificadas en el hollejo pero en cantidades poco importantes, con la excepción de la luteolina (Macheix *et al.*, 1991).

Las isoflavonas son isómeros de las flavonas en las que el anillo aromático B se encuentra en posición 3. De ellas, la genisteína, cuya estructura se muestra en la figura 1.7b, proviene de la flavona apigenina y ha sido identificada en uvas y vinos (Zoecklein *et al.*, 1995).



<i>Flavona</i>	<i>R</i> <sub>1</sub>	<i>R</i> <sub>2</sub>
Luteolina	OH	H
Apigenina	H	H
Tricina	OH	OH

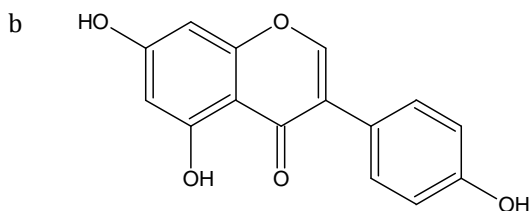


Figura 1.7. Estructura base de las flavonas (a) y estructura química de la isoflavona genisteína (b).

### 2.3. Flavanonas

Las flavanonas o dihidroflavonas son los primeros productos de la vía de síntesis de los flavonoides, sus estructuras son la forma reducida de las flavonas, presentando una cadena saturada entre los átomos C<sub>2</sub> y C<sub>3</sub> y caracterizándose por la presencia de un centro quiral en C<sub>2</sub> (figura 1.8). La mayor parte de las flavanonas que se encuentran en la naturaleza tienen el ciclo B unido al ciclo C con una configuración  $\alpha$  del C<sub>2</sub>. Son compuestos muy reactivos y dan lugar a reacciones de hidroxilación, metilación y glicosilación.

Dentro de las flavanonas destacan la naringenina y el eriodictiol, que son las formas reducidas de la apigenina y luteolina respectivamente. Las flavanonas en frutos no son muy comunes, pero se han identificado en plantas, como en hojas del género *Vitis vinifera* (Revilla *et al.*, 1985; Hmamouchi *et al.*, 1996) y también se ha extraído el eriodictiol de las uvas Macheix *et al.* (1991).

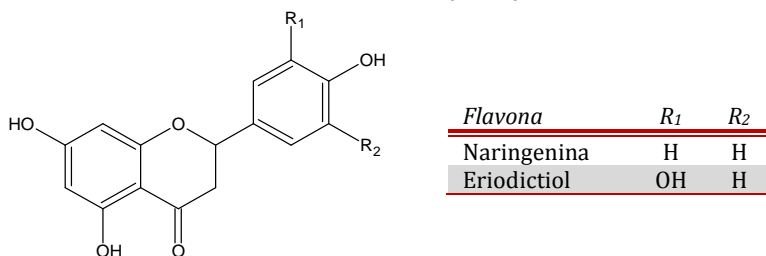


Figura 1.8. Estructura base de las flavanonas.

### 2.4. Flavanonoles

Los flavanonoles representan la forma reducida de los flavonoles y se caracterizan por la ausencia de doble enlace en el heterociclo, además de la presencia de un grupo hidroxilo en posición 3, denominándose también 3-hidroxi flavononas o dihidroflavonoles (figura 1.9). En este tipo de compuestos se presenta isomería óptica debido a la presencia de átomos de carbono asimétricos.

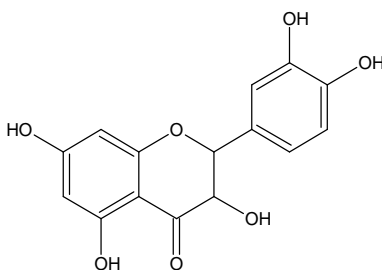


Figura 1.9. Estructura química de la astilbina.

Son pigmentos de color amarillo y no se encuentran como agliconas en plantas usadas para el consumo, sino que normalmente aparecen en la madera. En el hollejo de la uva blanca se han encontrado estos compuestos como 3-*O*-ramnósidos, siendo el más abundante la astilbina-3-*O*-ramnósido, aunque se han encontrado otros como la taxifolina o dihidromiricetina-3-*O*-ramnósido (Zoecklein *et al.*, 1995).

## 2.5. Calconas y dihidrocalconas.

Se considera que las calconas e hidrocalconas son isómeros de las flavanonas (figura 1.10), cuyo origen radica en la apertura del anillo C en una reacción catalizada por la enzima calcona-flavona isomerasa y la reducción del doble enlace entre los carbonos  $\alpha$  y  $\beta$ , que a continuación provoca la formación de las dihidrocalconas correspondientes.

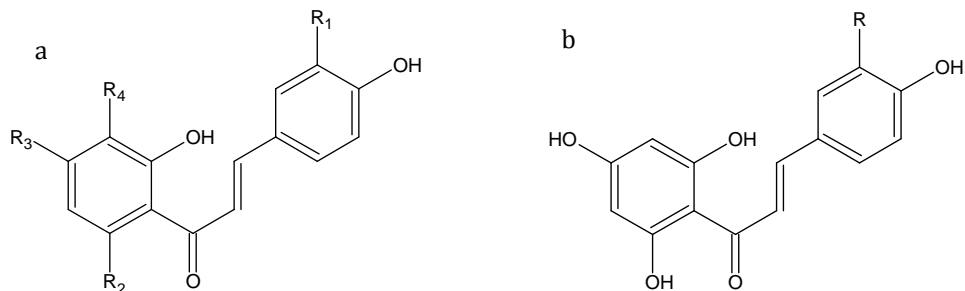


Figura 1.10. Estructura base de las calconas (a) y de las dihidrocalconas (b).

## 2.6. Antocianos

Los antocianos (del griego *anthos* = flor y *kianos* = azul) son los pigmentos rojos de las uvas tintas, que se localizan en las vacuolas de sus células de la epidermis, aunque también se encuentran en la pulpa de las variedades tintoreras (Peckett and Small, 1980; Amrani and Glories, 1995).

Estructuralmente, los antocianos o antocianinas son heterósidos polihidroxiados y/o metoxilados que derivan del ion flavilio o fenol-2-benzopirilio (figura 1.11). La deficiencia electrónica del catión flavilio produce la elevada reactividad de las agliconas libres (llamadas antocianidinas), de tal manera que en la naturaleza se encuentran unidos a azúcares, formando así los heterósidos, pudiendo estar a su vez los azúcares esterificados con ácidos orgánicos.

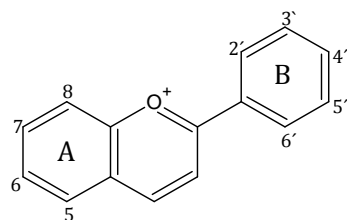


Figura 1.11. Estructura base de las antocianinas y antocianidinas.

El ion flavilio o fenol-2-benzopirilio es un ion oxonio en el que el oxígeno es tetravalente. En general, los iones oxonio suelen ser poco estables, sin embargo en este caso su carácter aromático le confiere estabilidad. La estructura del ion flavilio es en realidad la de un híbrido de resonancia, en el cual la carga positiva se encuentra deslocalizada, resultando en distintas estructuras del tipo oxonio-carbonio.

Los antocianos o antocianinas se forman a partir de antocianidinas, que son las agliconas, mediante la unión con una molécula de azúcar, siendo mucho más estables bajo la forma heterosídica que bajo la forma aglicona. Tradicionalmente sólo cinco antocianos se habían encontrado en *Vitis vinifera*, derivados de las antocianidinas delfinidina, cianidina, petunidina, peonidina y malvidina (figura 1.12),

pero recientemente se han identificado trazas del monoglucósido de pelargonidina en algunos vinos (Castillo-Muñoz *et al.*, 2009a; Márquez *et al.*, 2012b).

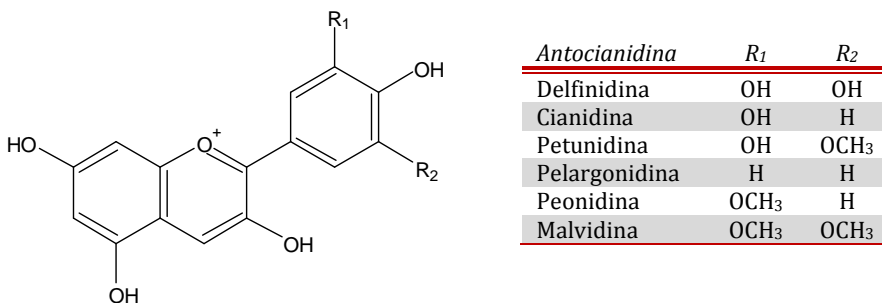


Figura 1.12. Estructura base de las antocianinas identificadas en uvas y vinos.

Además, en las especies *Vitis vinífera* y en sus vinos, sólo han sido identificados antocianos de las familias de los monoglucósidos y monoglucósidos acilados con ácido acético, *p*-cumárico y cafeico (figura 1.13). De acuerdo con lo descrito por Romero-Cascales *et al.* (1995), en las variedades *Vitis vinífera* los derivados monoglucosilados son los que predominan, siendo el malvidín-3-*O*-glucósido el compuesto mayoritario, con porcentajes entre el 90% para determinadas variedades como la Garnacha hasta algo menos del 50% en Sangiovese (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1998). La proporción relativa de cada familia se mantiene aproximadamente constante, y es distinta dependiendo de la variedad de uva, por lo que diferentes autores clasificaron distintas variedades en función del porcentaje de antocianos acetilglucosilados y cumarilglucosilados que presentaban (Ortega-Meder *et al.*, 1995; Guadalupe and Ayestarán, 2008).

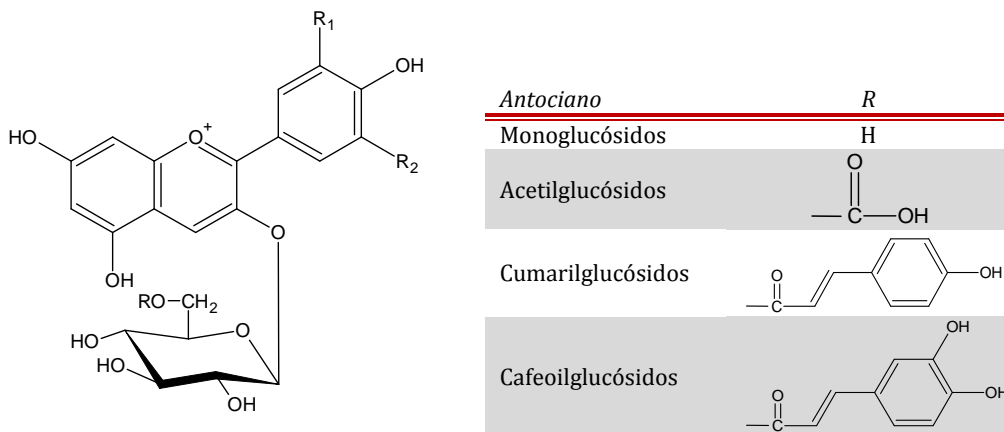


Figura 1.13. Estructura base de los antocianos identificados en uvas y vinos.

La presencia de antocianos diglucósidos (figura 1.14) en concentraciones importantes es una característica específica de ciertas especies del género *Vitis* (*V. riparia* y *V. rupestris*) y, aunque en algunas variedades *Vitis vinífera* se han encontrado en ocasiones trazas de diglucósidos (Roggero *et al.*, 1984), en general la medida de



estos compuestos en vinos en concentraciones superiores es un modo de detectar posibles fraudes o incluso cruzamiento entre especies de *Vitis*.

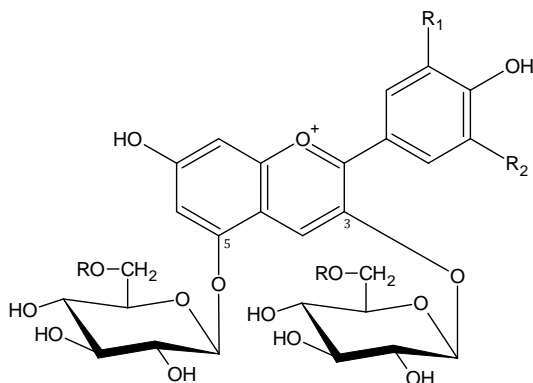
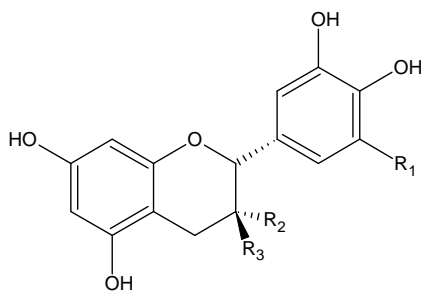


Figura 1.14. Estructura base de los antocianos 3,5-diglucósidos.

## 2.7. Flavan-3-oles

Los derivados del flavan-3-ol, flavan-3-oles o flavanoles son compuestos flavonoides con un anillo pirano como heterociclo central de la estructura base, una cadena carbonada entre  $C_2$  y  $C_3$ , un grupo hidroxilo en posición 3 y no presentan grupo carbonilo en posición 4 (figura 1.15).

Dentro de esta familia existen varios compuestos con 1, 2 ó 3 grupos hidroxilos en el anillo B, que no están nunca metoxilados, de los cuales los que se encuentran más frecuentemente en la naturaleza son los pares de estereoisómeros catequina y epicatequina, y galocatequina y epigalocatequina (Su and Singleton, 1969). Las dos primeras están ortohidroxiladas en posición 3' y 4' del anillo B respectivamente, mientras que la galocatequina y la epigalocatequina poseen un grupo hidroxilo más sobre el carbono 5' (figura 1.15).



<i>Flavan-3-ol</i>	$R_1$	$R_2$	$R_3$
(+)-Catequina	H	H	OH
(-)-Epicatequina	H	OH	H
(+)-Galocatequina	OH	H	OH
(-)-Epigalocatequina	OH	OH	H

Figura 1.15. Estructura base de los flavan-3-oles.

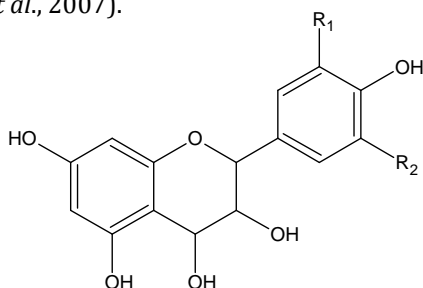
Los carbonos  $C_2$  y  $C_3$  son asimétricos y como consecuencia cada compuesto presenta dos isómeros ópticos, (+) y (-), aunque los derivados más extendidos son la (+)-catequina y la (-)-epicatequina, cuyos espectros de infrarrojo revelan la existencia de un puente de hidrógeno entre el OH de la posición 3 y el oxígeno piránico. El

heterociclo no es plano, sino que presenta una estructura espacial tipo semisilla, de forma que el oxígeno piránico y el carbono 4 están en el mismo plano y así el carbono 2 se puede colocar por encima o por debajo de dicho plano, presentando también isomería *cis-trans*.

La (-)-epicatequina y (-)-epigallocatequina pueden además esterificarse con el ácido gálico, resultando (-)-epicatequín-3-*O*-galato (Su and Singleton, 1969) y (-)-epigallocatequín-3-*O*-galato. Tanto (+)-catequina, (-)-epicatequina y (-)-epicatequín-3-*O*-galato han sido encontradas en forma libre en las semillas, raspones y el hollejo de uvas del género *Vitis vinífera* (Su and Singleton, 1969; Escribano-Bailón *et al.*, 1995; Jordao *et al.*, 2001a; Mateus *et al.*, 2001a; Jordao *et al.*, 2001b) y en vinos (De Freitas *et al.*, 2000; Monagas *et al.*, 2003a).

### 2.8. Flavan-3,4-dioles.

Los flavan-3,4-dioles tienen una estructura muy similar a la de los anteriores compuestos, con la única diferencia de que presentan un hidroxilo adicional en la posición 4 del heterociclo oxigenado (figura 1.16). Su calentamiento en medio ácido da lugar a antocianidinas, y por ello se denomina cada compuesto con el nombre de la antocianidina que se forma. Se cree que estos compuestos están indirectamente involucrados en la producción de proantocianidinas (Zoecklein *et al.*, 1995; Koponen *et al.*, 2007).



<i>Flavan-3,4-diol</i>	<i>R</i> <sub>1</sub>	<i>R</i> <sub>2</sub>
Leucocianidina	OH	H
Leucodelphinidina	OH	OH
Leucopelargonidina	H	OH

Figura 1.16. Estructura base de los flavan-3,4-dioles.

### 3. Taninos

Los taninos son sustancias capaces de establecer combinaciones estables con las proteínas (Bate-Smith and Swain, 1965), pero también pueden combinarse con los polisacáridos (Riou *et al.*, 2002), con los alcaloides y la gelatina (Bate-Smith and Swain, 1965), siendo responsables de fenómenos como la astringencia o el encolado.

La configuración espacial de los taninos está en relación con su reactividad, en el sentido de que es necesario que estos compuestos sean lo suficientemente voluminosos para establecer combinaciones estables con las proteínas, pero si son demasiado grandes, pueden originarse impedimentos estéricos que no les permitan aproximarse lo suficiente a los sitios activos de las proteínas y, consecuentemente, no pueden reaccionar con ellas.

Según la naturaleza de las moléculas elementales, se pueden distinguir taninos hidrolizables, taninos condensados y taninos complejos o mixtos.

### 3.1. Taninos hidrolizables

Los taninos hidrolizables son polifenoles complejos que pueden ser degradados por cambios de pH o por hidrólisis enzimática o no enzimática, dando lugar a fragmentos pequeños, principalmente azúcares y ácidos fenólicos. La unidad básica de los taninos hidrolizables es el ácido gálico o el ácido hexahidroxidifénico y sus derivados, especialmente el ácido elágico (figura 1.17). Estos ácidos están normalmente esterificados con D-glucosa, dando lugar a compuestos de peso molecular entre 500 y 2800 Da.

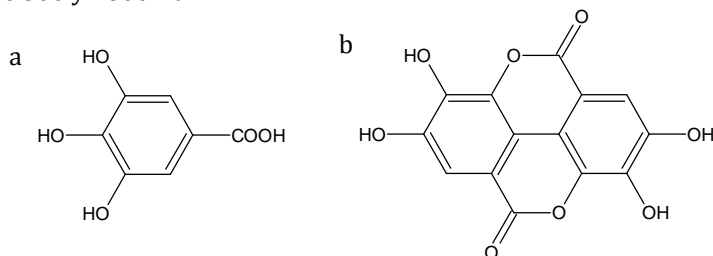


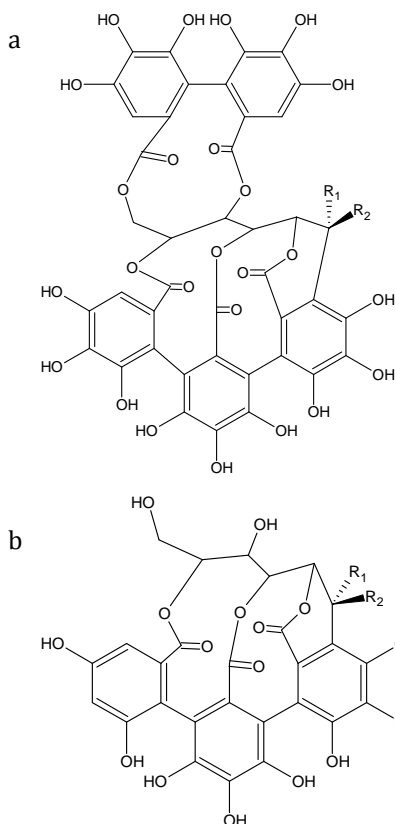
Figura 1.17. Estructuras químicas de los ácidos gálico (a) y elágico (b).

Dentro de los taninos hidrolizables se puede hablar de galotaninos y elagitaninos, según liberen ácido gálico o ácido elágico tras una hidrólisis ácida. Los elagitaninos contienen una o más unidades de ácido hexahidroxidifénico esterificada con un poliol, normalmente glucosa y su hidrólisis, con ácidos o bases, da lugar a ácido hexahidroxidifénico que espontáneamente se lactoniza hasta ácido elágico (Koponen *et al.*, 2007).

Los elagitaninos son hidrosolubles y rápidamente se disuelven en medios hidroalcohólicos como el vino (Moutounet *et al.*, 1989), por lo que gracias a ello, el envejecimiento en barrica conlleva su extracción desde la madera hacia el vino, además de otros compuestos fenólicos de bajo peso molecular.

En la madera de roble, que es la principal utilizada en tonelería, se encuentran mayoritariamente dos elagitaninos isómeros, vescalagina y castalagina, además de dos minoritarios, grandinina y roburina (figura 1.18), todos ellos formados por un ácido hexahidroxidifénico y un ácido nonahidroxitrifénico, esterificados por una glucosa no cíclica. La hidrólisis parcial de la vescalagina y de la castalagina, con pérdida de ácido hexahidroxidifénico, conduce a la vescalina y a la castalina respectivamente (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1998), cuyas estructuras se muestran en la figura 1.18b. La composición en elagitaninos de la madera varía dependiendo de la especie de roble, concretamente en las especies de roble europeo, se encuentran los cuatro elagitaninos monómeros, además de cuatro dímeros (roburina A, B, C y D), mientras que las especies americanas prácticamente sólo presentan dímeros.

Las propiedades gustativas de todos estos elagitaninos (Pocock *et al.*, 1994) les confieren un papel importante durante el envejecimiento de los vinos.



<i>Elagitanino</i>	<i>R<sub>1</sub></i>	<i>R<sub>2</sub></i>
Vescalagina	H	OH
Castalagina	OH	H
Grandinina	OH	Lixosa
Roburina	OH	Xilosa

<i>Compuesto</i>	<i>R<sub>1</sub></i>	<i>R<sub>2</sub></i>
Vescalina	H	OH
Castalina	OH	H

Figura 1.18. Estructuras base de los elagitaninos monómeros (a) y de los compuestos resultantes de su hidrólisis ácida (b).

Los taninos hidrolizables no son compuestos que se presenten naturalmente en las uvas, pero constituyen los principales taninos comerciales autorizados por la legislación para su adición a los vinos.

### 3.2. Taninos condensados

Los taninos condensados son compuestos flavonoides polimerizados, cuya estructura está formada por unidades de flavan-3-ol (Singleton, 1988; Somers and Verette, 1988) y de flavan-3,4-diol. Hay que tener en cuenta la infinidad de isómeros posibles debido a la diversidad de unidades monoméricas y los diferentes enlaces interflavanos, lo que da lugar a que el estudio estructural y el fraccionamiento de estos polímeros sea bastante difícil. Sólo las procianidinas dímeras y trímeras son conocidas y se han aislado y caracterizado (Carando *et al.*, 1999; Sun *et al.*, 1999a).

Los taninos condensados también se conocen con el nombre de taninos catéquicos o proantocianidinas, dado que cuando se calientan en medio ácido dan lugar a antocianos. En uvas pertenecientes al género *Vitis vinifera* se puede distinguir dos grupos de proantocianidinas dependiendo de la naturaleza de la antocianidina liberada (cianidina o delfinidina): procianidinas, que son las proantocianidinas más

abundantes y están compuestas por (+)-catequina, (-)-epicatequina, y prodelfinidinas, compuestas por (+)-galocatequina y (-)-epigalocatequina. En las semillas de las uvas sólo aparecen procianidinas, mientras que en los hollejos aparecen ambas procianidinas y prodelfinidinas. En el vino predominan las procianidinas, aunque también pueden presentarse en menor cantidad las prodelfininas (Haslam, 1980; Somers and Verette, 1988).

Las procianidinas más importantes son dímeros y dentro de ellas pueden diferenciarse dos tipos, procianidinas tipo B ( $C_{30}H_{26}O_{12}$ ) y tipo A ( $C_{30}H_{24}O_{12}$ ), siendo las primeras las más estudiadas y pudiendo hablar dentro de ellas dos clases fundamentales, procianidinas de la serie B1 a B4 o procianidinas de la serie B5 a B8.

Las procianidinas B1 a B4 (figura 1.19) son las más abundantes en la naturaleza y se forman debido a la unión entre unidades monómeras de (+)-catequina y (-)-epicatequina mediante enlaces  $C_4-C_8$ .

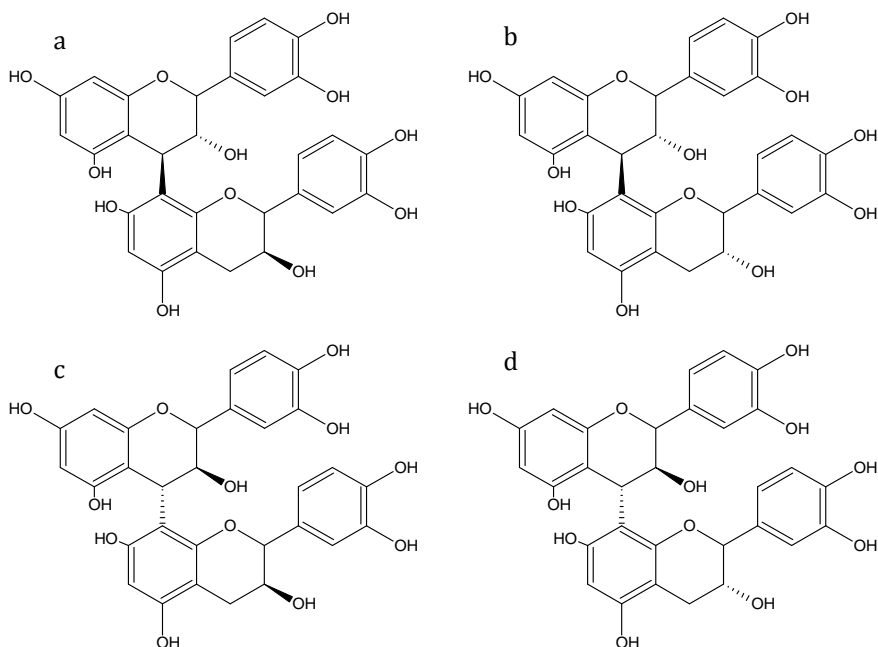


Figura 1.19. Estructuras químicas de las procianidinas B1(a), B2 (b), B3 (c) y B4 (d).

Las procianidinas B5 a B8 (figura 1.20) son menos abundantes que las anteriores y se forman mediante la unión de unidades monómeras por enlaces  $C_4-C_6$ .

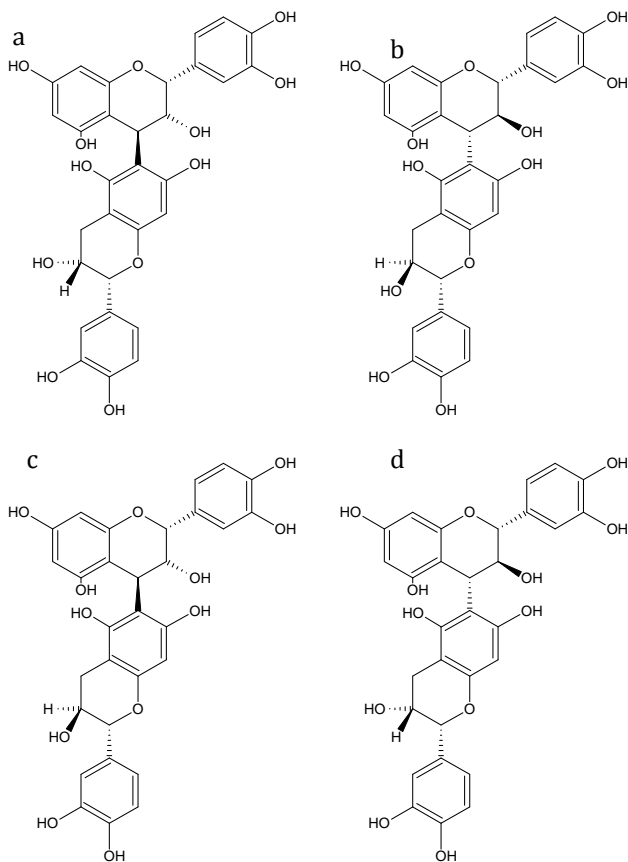


Figura 1.20. Estructuras químicas de las procianidinas B5 (a), B6 (b), B7 (c) y B8 (d).

Las procianidinas de la serie A ( $C_{30}H_{24}O_{12}$ ) son dímeros que poseen, además del enlace interflavano  $C_4-C_8$  o  $C_4-C_6$ , un enlace éter entre los carbonos  $C_5$  o  $C_7$  de la unidad terminal y el carbono  $C_2$  de la unidad superior. La procianidina A2, cuya estructura aparece en la figura 1.21, ha sido identificada en el vino por Vivas and Glories (1996). Es posible pasar de la forma B a la forma A vía un proceso radicalico.

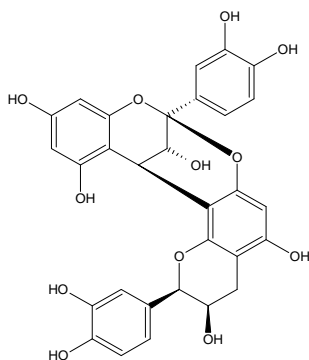


Figura 1.21. Estructura química de la procianidina A2.

A partir de las procianidinas dimeras anteriores se pueden formar procianidinas trimeras mediante la unión con (+)-catequina y (-)-epicatequina, que pueden clasificarse en procianidinas tipo C, trimeros donde las dos uniones interflavano corresponden al tipo de los dímeros B, o procianidinas tipo D, trimeros en los cuales una unión interflavano es del tipo B y otra del tipo A. En estos compuestos trimeros existen numerosas posibilidades de unión, multiplicando así el número de compuestos posibles, pero actualmente sólo algunos de ellos están claramente identificados en la uva, siendo los más importantes los recogidos por Ricardo Da Silva *et al.* (1991b), cuyas uniones se muestran en la tabla siguiente y alguna de sus estructuras en la figura 1.22.

Trímero	Unión
C1	B2-(-)epicatequina C <sub>4</sub> -C <sub>8</sub>
C2	B2-(+)catequina C <sub>4</sub> -C <sub>8</sub>
T	B5-(-)epicatequina C <sub>4</sub> -C <sub>8</sub>
T	B5-(+)catequina C <sub>4</sub> -C <sub>8</sub>
T	B2-(-)epicatequina C <sub>4</sub> -C <sub>6</sub>
T	B2-(+)catequina C <sub>4</sub> -C <sub>6</sub>

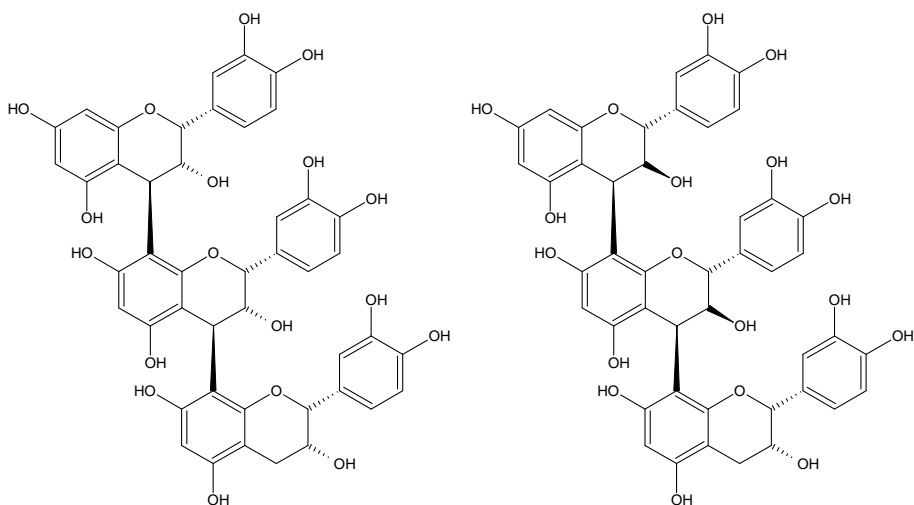


Figura 1.22. Estructuras químicas de la procianidina C1 y de la procianidina trómera T.

Las procianidinas condensadas, cuya estructura se muestra en la figura 1.23, están formadas por más de 10 unidades derivadas del flavan-3-ol y presentan una masa molecular superior a 3000 Da.

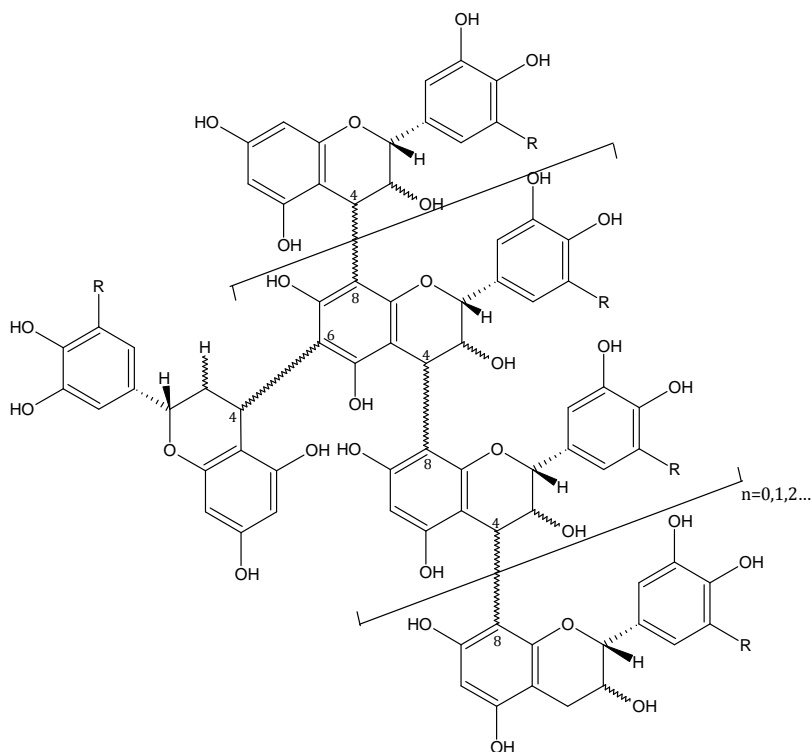


Figura 1.23. Estructura química de las proantocianidinas condensadas.

Los derivados monómeros, dímeros y oligómeros de flavan-3-ol se pueden también encontrar esterificados con ácido gálico. Esta unión se produce en el carbono 3 de los derivados monómeros, y si se trata de derivados dímeros u oligómeros en el C3 o C3'. Entre los derivados esterificados se encuentran el epicatequín-3-*O*-galato, los dímeros B2-3'-*O*-galato, B2-3-*O*-galato, B2-3,3'-di-*O*-galato, B1-3-*O*-galato, etc.

En general, las semillas contienen grandes cantidades de monómeros, oligómeros y polímeros de flavan-3-ol (Sun *et al.*, 1999b). Los taninos de las semillas están compuestos principalmente por (+)-catequina, (-)-epicatequina y (-)-epicatequín-3-*O*-galato (Prieur *et al.*, 1994), mientras que los taninos de los hollejos y raspones contienen también (-)-epigalocatequina (Souquet *et al.*, 2000a, b).

### 3.3. Taninos complejos

Los taninos complejos o mixtos se encuentran en las plantas y están formados por taninos hidrolizables y taninos condensados, formados por uniones covalentes entre elagitaninos y flavanoles. La estructura de la acutisima A se basa en un complejo covalente entre la castalagina o la vescalagina y la catequina. Estos compuestos pueden estar presentes en los vinos envejecidos en madera, pero en cantidades muy pequeñas (Saucier *et al.*, 2006).



## REACTIVIDAD DE LOS ANTOCIANOS

Los antocianos es la familia fenólica más importante en los vinos tintos debido a que son los responsables del color de los mismos. Sin embargo, se ven involucrados en numerosas reacciones que dan lugar a cambios en la composición fenólica, en el color y en las características organolépticas de los vinos durante la maduración de la uva y de los diferentes procesos de vinificación y envejecimiento posteriores de los vinos.

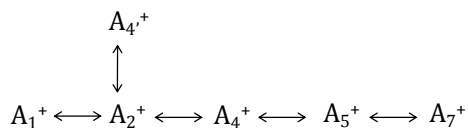
Entre las principales reacciones en las que participan los antocianos, habría que citar los distintos equilibrios en función del pH, reacciones de copigmentación, reacciones de degradación, reacciones de formación de piranoantocianos y reacciones entre antocianos y taninos.

### 1. Equilibrios de los antocianos en función del pH

La molécula de antociano contiene un anillo flavilio con un átomo de oxígeno cargado positivamente, y debido a la presencia de dobles enlaces conjugados, la carga se deslocaliza por todo el ciclo, aumentando la estabilidad de la molécula por resonancia.

Los antocianos pueden encontrarse bajo diferentes formas químicas dependiendo del pH del medio, presentando colores diferentes (figura 1.24), como ha sido anteriormente recogido en la bibliografía (Da Costa *et al.*, 1998; Heredia *et al.*, 1998; Kennedy and Waterhouse, 2000).

- A pH 1, el catión flavilio (de color rojo) es la especie predominante y contribuye a los colores rojos y violáceos. Este ion posee un déficit electrónico y dependiendo del carbono sobre el cual se sitúe la carga, existen seis fórmulas posibles que están en equilibrio.



- A valores de pH entre 2 y 4, las especies azules quinoidales son las que predominan, dentro de las cuales la base quinónica presenta una cetona aromática formada a partir de OH fenólicos. Son posibles tres fórmulas que derivan en los cationes flavilios correspondientes ( $AO_5$ ,  $AO_7$  y  $AO_4$ ), pero que no están en equilibrio de mesomería (Cheminat and Brouillard, 1986).
- A pH entre 5 y 6 se observan solamente dos especies incoloras, la pseudobase carbinol y una calcona. La base carbinol se caracteriza por una función alcohol en posición 2 ó 4 ( $A_{OH_2}$  y  $A_{OH_4}$ ), pero sólo la primera se ha identificado, y deriva de la apertura del heterociclo de una calcona, de color amarillo muy pálido. Por otro lado, las calconas presentan una función cetona en 2 o en 4, siendo  $C_2$  la posición más probable, pudiendo existir bajo dos formas isómeras, *cis* y *trans*.

- A pH superiores de 7, tanto las antocianidinas como las antocianinas o antocianos se degradan. En primer lugar, la estabilidad de las antocianidinas está influenciada por los sustituyentes que presente el anillo B, además de por la presencia de grupos hidroxilo o metoxilo, los cuales disminuyen la estabilidad de la aglicona en medios neutros. Como consecuencia de ello, es sabido que la pelargonidina es la antocianidina más estable (Fleschhut *et al.*, 2006). Por otro lado, y en contraste con las agliconas, los derivados antociánicos monoglucosilados y especialmente los diglucosilados son más estables en condiciones de pH neutro, debido a que las moléculas de azúcar evitan la degradación de intermedios inestables en ácidos fenólicos y acetaldehído (Fleschhut *et al.*, 2006). Investigaciones realizadas sobre la estabilidad de los antocianos y la variación del color que producen con los cambios de pH, han concluido que los cambios de color observados son más importantes en la región alcalina debido a su inestabilidad (Cabrita *et al.*, 2000).

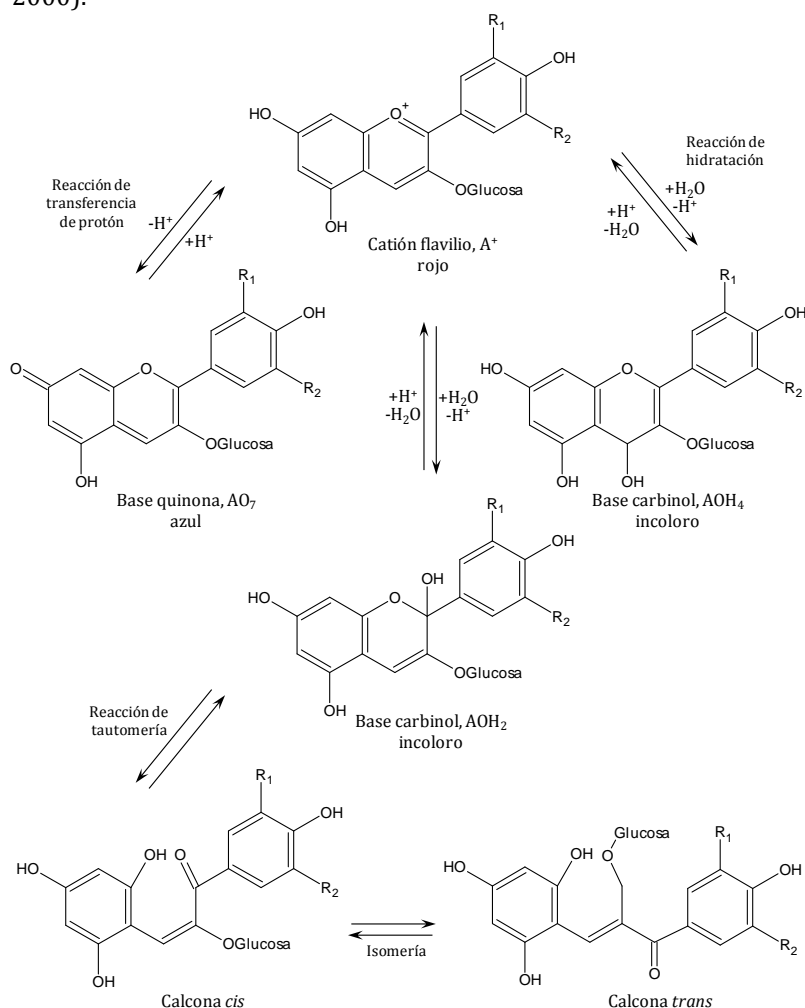


Figura 1.24. Diferentes especies de la molécula de antociano en función del pH.

Considerando globalmente el efecto del pH sobre el equilibrio, en los vinos tintos con un pH aproximado de 3.5, solo alrededor del 12% de los antocianos libres se encuentra en la forma de catión flavilio roja (Glories, 1984). Sin embargo, hay que tener en cuenta que además del pH, sobre este equilibrio influyen otros factores como son la estructura y concentración de los pigmentos, la temperatura, copigmentos, iones metálicos, enzimas, oxígeno, ácido ascórbico, azúcares o dióxido de azufre (Mazza and Miniati, 1993).

## 2. Copigmentación

La copigmentación es un fenómeno en el cual los pigmentos y otros compuestos orgánicos incoloros, o iones metálicos, forman asociaciones moleculares o complejos, dando lugar a un aumento en la intensidad del color (Boulton, 2001), considerándose que la copigmentación de los antocianos con otros compuestos, denominados copigmentos es el principal mecanismo de estabilización del color en plantas (Mazza and Brouillard, 1990; Davies and Mazza, 1993). Los copigmentos son sistemas con pares de electrones libres que son capaces de asociarse con el catión flavilio, deficiente en electrones, provocando la protección de dicho ion frente a un ataque nucleofílico de moléculas de agua en la posición C2 (Matsufuji *et al.*, 2003) y de otras especies como los peróxidos o el dióxido de azufre en la posición C4 (Mazza and Brouillard, 1987; García-Viguera and Bridle, 1999).

Desde un punto de vista molecular, el fenómeno consiste en la formación de un complejo de estequiometría 1:1, en el que el antociano (con estructura plana) se apila con el copigmento (también necesita tener una estructura plana para ello) en una estructura tipo sándwich (figura 1.25), estableciéndose unas interacciones débiles entre las nubes electrónicas de los anillos aromáticos de ambos. Los copigmentos son generalmente incoloros, pero la unión con las moléculas de antocianos da lugar a un efecto hipercrómico, a la vez que un desplazamiento batocrómico en el espectro de absorción UV-Vis (Vivar-Quintana *et al.*, 2002).

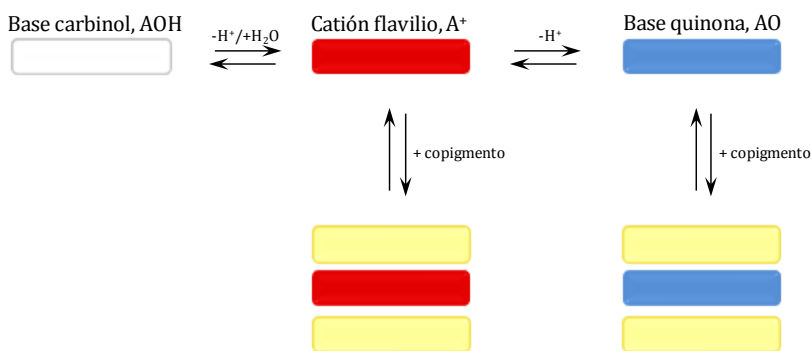


Figura 1.25. Representación del fenómeno de copigmentación.

Los copigmentos pueden ser flavonoides, alcaloides, aminoácidos, ácidos orgánicos, nucleótidos, polisacáridos, metales u otra molécula de antociano.

Dependiendo de la naturaleza del copigmento, la copigmentación puede subdividirse en diferentes categorías:

- a) *Autoasociación*: en este caso el copigmento es otra molécula de antociano monómero.
- b) *Copigmentación intramolecular*: el copigmento es una porción de la propia molécula de antociano monómero, como puede ser el caso del sustituyente cumarilo de un antociano cumarilglucosilado.
- c) *Complejación*: la interacción se lleva a cabo con un metal.
- d) *Copigmentación intermolecular*: el copigmento es una molécula de naturaleza distinta al antociano, el cual tiene pares de electrones libres, entre los que pueden estar los ácidos cinámicos, flavanoles y flavonoles, así como sus glicósidos (Mailen-Aubert *et al.*, 2001; Gómez-Míguez *et al.*, 2006; Gris *et al.*, 2007).

Cuando el copigmento es otro compuesto fenólico, como un flavonol (figura 1.26), la interacción es transitoria debido a la carencia de enlaces químicos. Este comportamiento es el resultado de un fenómeno conocido como formación de complejos de transferencia de carga, y ocurre cuando compuestos con cargas opuestas interactúan. En este caso, se forma un enlace débil y la densidad electrónica se desplaza desde el copigmento rico en electrones hasta el ion flavilio, consiguiendo una estabilización de la forma flavilio y un aumento del color rojo.

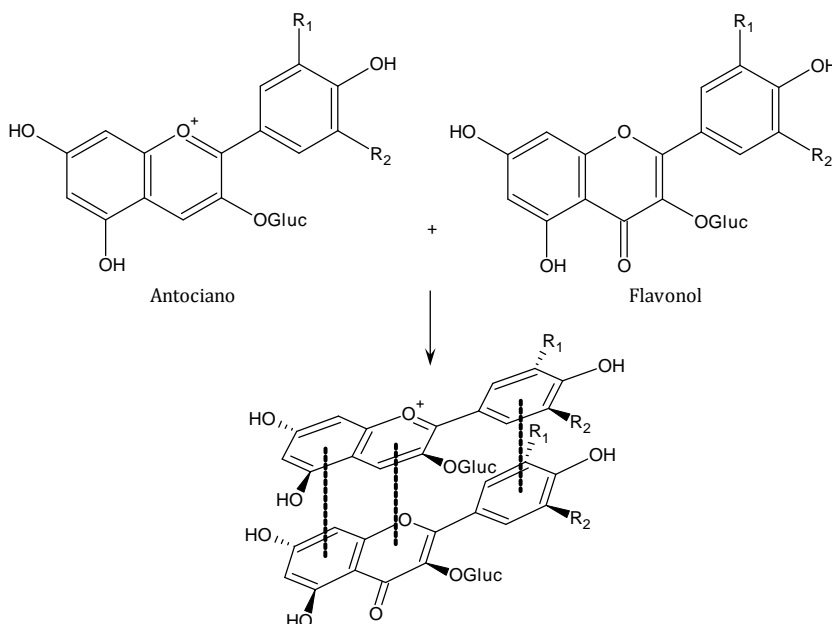


Figura 1.26. Reacción de copigmentación entre un antociano y un flavonol.

Por otro lado, la copigmentación es dependiente del pH, de modo que a pHs bajos las moléculas de antocianos se encuentran en su forma flavilio y a pHs superiores, en la forma de la pseudobase carbinol, que es incolora. Asimismo, el efecto de la copigmentación es más evidente en condiciones ligeramente ácidas (pH 4-6), ya que los antocianos se encuentran decolorados.

La copigmentación influye sobre las reacciones de oxidación, condensación y polimerización de sustancias fenólicas, disminuyendo la cinética de estas reacciones que se producen durante el envejecimiento de los vinos (Boulton, 2001). Esto sería debido a que la cinética de las reacciones anteriores depende de la concentración de sustancias fenólicas en forma libre, y si éstas participan como copigmentos en reacciones de copigmentación, su concentración disminuiría y no estarían disponibles para reacciones de oxidación y polimerización (Darias-Martín *et al.*, 2001).

Por otra parte, diversos autores han comprobado que la copigmentación suele tener un efecto muy marcado en vinos jóvenes (Hermosín-Gutiérrez *et al.*, 2005; Darias-Martín *et al.*, 2007), midiéndose porcentajes de su contribución al color de dichos vinos entre el 30-50% (Boulton, 2001; Hermosín-Gutiérrez *et al.*, 2005). Durante el envejecimiento posterior, los complejos de copigmentación desaparecen como consecuencia de la transformación de los antocianos monómeros en pigmentos poliméricos, con la consecuente pérdida de intensidad de color rojo y cambio de tonalidades rojo-púrpuras a rojas y a rojo-anaranjadas.

### 3. Degradación de los antocianos

Las moléculas de antocianos no son muy estables y su color en el vino cambia de forma notable durante los primeros meses de envejecimiento, desapareciendo tras algunos años. Esta disminución es debida, por una parte, a las reacciones de combinación de los antocianos con diferentes compuestos presentes en el vino, como los taninos, pero también a las reacciones de degradación. La estabilidad de estos pigmentos es función de diferentes factores, como el tipo de molécula, la concentración, el pH, la temperatura, la oxidación, la luz y la naturaleza de los disolventes.

Los mecanismos de las reacciones de degradación no son muy conocidos y, según las condiciones del medio, pueden conducir a diferentes compuestos (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1998).

- Calconas en medio alcalino.
- Malvonas bajo la acción de peróxidos.
- Ácidos fenólicos y cumarinas en soluciones acuosas de pH entre 3 y 7.
- Dihidroflavonoles en presencia de alcoholes.

Entre estas reacciones de degradación de antocianos, se podría hablar de su degradación térmica, degradación en presencia de cetonas, además de degradación oxidativa.

### 3.1. Degradación térmica de los antocianos

Numerosos autores han estudiado la cinética de degradación de los antocianos (Harbourne *et al.*, 2008; Cao *et al.*, 2009; Cisse *et al.*, 2009; Hernández-Herrero and Frutos, 2011; Hillman *et al.*, 2011), demostrando que estas moléculas se vuelven inestables en disoluciones modelo almacenadas a temperaturas crecientes (Markakis, 1982). Baranowski and Nagel (1983) observaron, en un vino modelo, que la temperatura de almacenamiento afectaba a la degradación del malvidín-3-O-glucósido y a la formación de polímeros, encontrando que a 42 °C se formaban más compuestos poliméricos que a 32 °C, pero eran menos estables a la degradación y a la precipitación. Consecuentemente con todo ello, la degradación térmica conllevaría una decoloración, que podría interpretarse debido al desplazamiento de los equilibrios hacia las calconas y formas incoloras. Una vez que ocurre un calentamiento de una disolución de antocianos, el color no vuelve nunca al inicial, independientemente de las condiciones en que se lleve a cabo la experiencia (temperatura, tiempo...).

Simpson (1985) sugirió que la degradación térmica de las antocianinas podría ocurrir a través de dos mecanismos: (1) hidrólisis del enlace 3-glucósido para formar la aglicona más lábil, y (2) hidrólisis y apertura del anillo pirilio para formar una calcona sustituida, que a continuación se degrada a un compuesto insoluble de color marrón y naturaleza polifenólica. Después de un calentamiento de 8 horas, las disoluciones de antocianos contienen ácidos benzoicos, ácidos cinámicos, dihidroflavonoles, catequinas y numerosas moléculas sin identificar. Los productos de degradación formados dependen del antociano de partida: el 2,4,6-trihidroxibenzaldehído es común a todos los antocianos, ya que se forma a partir del anillo A, pero el otro producto formado es función de las sustituciones del ciclo B de los antocianos (Furtado *et al.*, 1993). En el caso de la malvidín-3-O-glucósido y malvidín-3,5-diglucósido, el producto formado sería el ácido siríngico, de acuerdo al mecanismo propuesto por Piffaut *et al.* (1994) que se muestra en la figura 1.27.

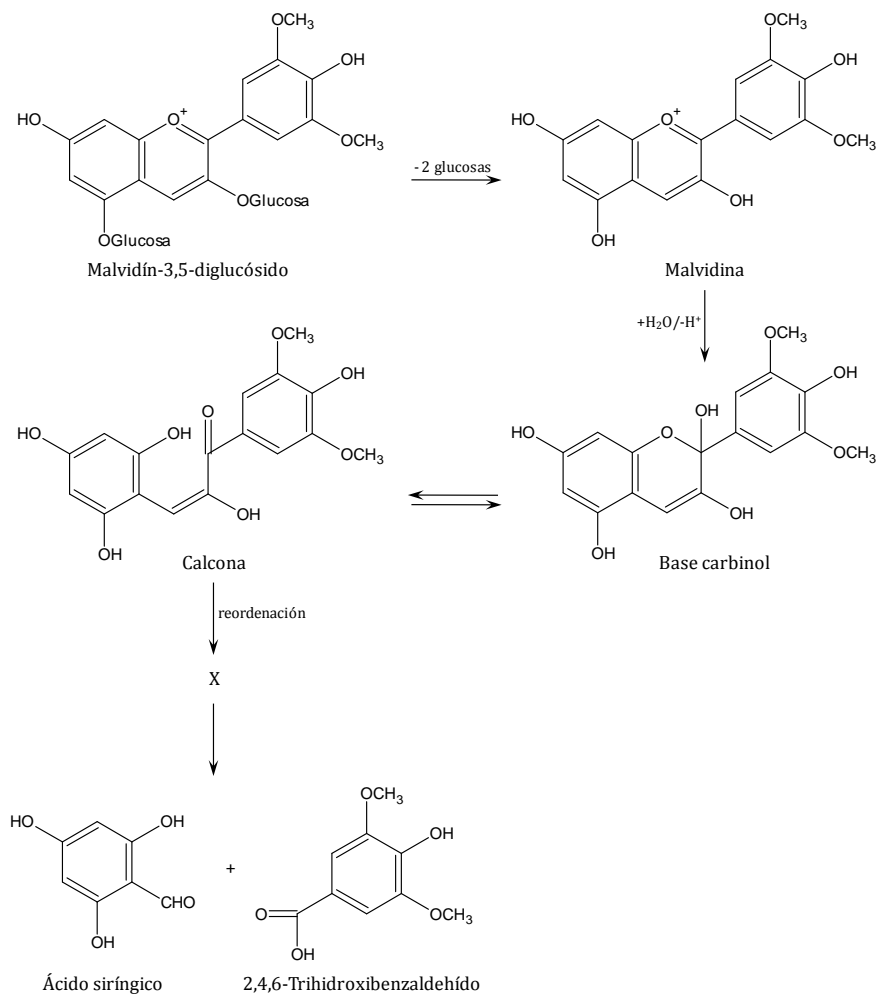


Figura 1.27. Mecanismo de degradación térmica (100 °C) de malvidín-3,5-diglucósido.

### 3.2. Degradación de antocianos en presencia de cetonas

En medio acuoso acidificado que contenga acetona, los antocianos dan lugar a compuestos anaranjados (Ribéreau-Gayon, 1998). Se han propuesto diferentes mecanismos: hidrólisis de los antocianos y transformación en dihidroflavonoles, ruptura del heterociclo con formación de ácidos benzoicos, y reacción de la acetona con el antociano, por doble enlace polarizado, con formación de compuestos anaranjados.

En vinos tintos, la presencia de ácido 2-oxoglucónico y ácido 5-oxoglucónico, es un indicador de vendimias alteradas (Flanzy, 2000), ya que conducen a colores que rápidamente evolucionan a tonos naranjas, lo que se debe a la reacción de estas moléculas con los antocianos, debido a la fijación del doble enlace polarizado sobre el C<sub>4</sub>.

### 3.3. Degradación oxidativa de antocianos

Los antocianos, en disolución hidroalcohólica acidificada, y expuestos a la luz, se decoloran en algunos días, como consecuencia de que, por un lado, la naturaleza del disolvente (etanol, metanol...) influye de manera importante en la reacción, además de la concentración de alcohol, y por otro lado, el oxígeno y la luz parecen actuar como catalizadores.

Los ortodifenoles son oxidables y pueden actuar como sustratos de determinadas enzimas como la polifenoloxidasas y, en menor grado, la peroxidasa, dando lugar a ortoquinonas que son oxidantes, además de potentes reactivos. Los antocianos son menos reactivos que el ácido caftárico, pero reaccionan con los productos de oxidación de forma que, en primer lugar, los antocianos son oxidados por las quinonas y conducen a compuestos antocianos-quinonas muy inestables, y a continuación la forma carbinol, que tiene cargas negativas sobre las posiciones 6 y 8, fija las quinonas electrófilas, dando lugar a un producto de adición incoloro que se deshidrata y forma un catión flavilio rojo.

### 4. Formación de aductos por cicloadición. Piranoantocianos.

Los piranoantocianos son compuestos que se producen en el vino durante su fermentación y posterior envejecimiento, responsables de que el color rojo-púrpura de los vinos tintos evolucione progresivamente hacia tonalidades teja, ya que estos aductos presentan un color más rojo-anaranjado que sus antocianos homólogos.

Los piranoantocianos resultan de reacciones de condensación sobre los antocianos, los que se modifican para dar lugar a oligómeros estables a partir de sustituciones en la posición C<sub>4</sub>, de modo que su estructura general incluye un anillo D adicional formado entre el grupo OH en C<sub>5</sub> y el C<sub>4</sub> del anillo pirano de la antocianidina (De Freitas and Mateus, 2011), de acuerdo al mecanismo recogido en la figura 1.28. Dependiendo del átomo de oxígeno sobre el que se sitúe la carga positiva en el compuesto final, se pueden tener dos estructuras isoméricas diferentes, que se muestran en la figura 1.29.

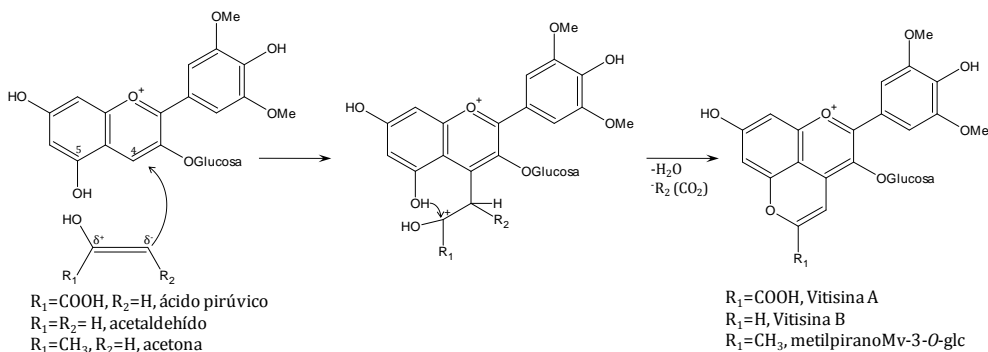


Figura 1.28. Formación de piranoantocianos por reacción entre el malvidín-3-O-glucósido y compuestos carbonílicos.



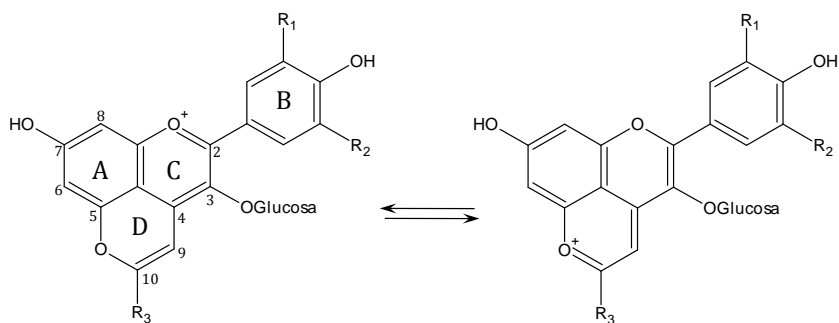


Figura 1.29. Estructuras generales de piranoantocianos derivados de un antociano-3-*O*-glucósido bajo las dos formas de catión flavilio posibles.

Los piranoantocianos presentan máximos de absorción entre 495 y 520 nm, es decir, se observa un efecto hipsocrómico respecto a los antocianos de partida (Alcalde-Eon *et al.*, 2006; Asenstorfer *et al.*, 2006; Morata *et al.*, 2007), además de un pico de absorción en la región de 420 nm, que explicaría las tonalidades anaranjadas de estos compuestos (Fulcrand *et al.*, 1998). Asimismo, se ha comprobado que los piranoantocianos presentan mayor intensidad y estabilidad del color en un intervalo de pH más amplio que las antocianinas de origen, debido a los diferentes tipos de sustituyentes unidos directamente al C<sub>10</sub> del anillo D pirano formado (Bakker and Timberlake, 1997; Francia-Aricha *et al.*, 1999; Oliveira *et al.*, 2006).

Por otro lado, la inclusión del C<sub>4</sub> del antociano en el anillo D provoca un impedimento estérico que hace que la molécula de piranoantociano sea más estable a la decoloración por efecto del SO<sub>2</sub> (Bakker and Timberlake, 1997; Vivar-Quintana *et al.*, 2002; Asenstorfer *et al.*, 2006), al aumento del pH (Francia-Aricha *et al.*, 1997; Romero and Bakker, 1999; Asenstorfer *et al.*, 2006), a la degradación oxidativa (Bakker *et al.*, 1997), e incluso a la temperatura (Sarni-Manchado *et al.*, 1996).

Los piranoantocianos no están presentes en la uva, sino que se forman en el curso de la fermentación alcohólica y en las etapas subsiguientes de elaboración (Bakker *et al.*, 1997; Romero and Bakker, 2000). Su concentración en el vino es mucho menor que la de otros pigmentos, pero dado que son poco sensibles al pH y a la decoloración por SO<sub>2</sub>, la práctica totalidad de estos aductos participan en el color (Zamora, 2003). Además, los piranoantocianos son poco adsorbidos por las paredes celulares de las levaduras ya que normalmente se forman hacia la mitad o final de la fermentación alcohólica, cuando las paredes se encuentran ya saturadas por antocianos (Casassa and Catania, 2006).

Dentro de los distintos tipos de piranoantocianos identificados, se puede hablar de vitisinas, piranoantocianos resultantes de la reacción entre antocianos y compuestos vinílicos, oxovitisinas y vinilpiranoantocianos.

#### 4.1. Vitisinas

Las vitisinas son una de las familias de piranoantocianos más estudiadas y se originan mediante la reacción de los antocianos con algunos metabolitos liberados durante la fermentación de las levaduras, como ácido pirúvico, ácido acetoacético y

acetaldehído (Bakker and Timberlake, 1997; Fulcrand *et al.*, 1998; Hasayaka and Asenstorfer, 2002), el cual puede encontrarse en el vino también como resultado de la oxidación del etanol. Estos metabolitos son compuestos carbonílicos, presentes comúnmente en un equilibrio cetoenólico en disolución hidroalcohólica. Se cree que la vía de la formación de las vitisinas comienza con la cicloadición de estos metabolitos de pequeño tamaño sobre las posiciones 4 (carbono) y 5 (grupo hidroxilo) de los antocianos, seguida por una deshidratación y una oxidación adicional, obteniéndose el anillo D (De Freitas and Mateus, 2011).

#### 4.1.1. Carboxipiranoantocianos

Dentro de las vitisinas, las más importantes son los carboxipiranoantocianos o vitisinas tipo A, que se forman tras la reacción entre la forma enólica de ácido pirúvico y los antocianos (Bakker and Timberlake, 1997; Fulcrand *et al.*, 1998). Debido a la formación de ácido pirúvico durante la fermentación alcohólica, es probable que la formación de estos derivados comience en esta etapa de la vinificación.

La vitisina formada a partir de el malvidín-3-*O*-glucósido, denominada Vitisina A por Fulcrand *et al.* (1998) y cuya estructura química se muestra en la figura 1.30, es la que se ha encontrado en concentraciones más elevadas, que este antociano es el predominante en *Vitis vinifera* (Morata *et al.*, 2006). La vitisina A es el principal derivado antociánico detectado por HPLC en vinos tipo Oporto tras un año de envejecimiento, lo que pone claramente de manifiesto su importancia en color del vino (Mateus and De Freitas, 2001; Romero and Bakker, 2001). Sin embargo, en otros estudios realizados con vinos tintos de mesa, el resultado fue diferente y las cantidades de Vitisina A fueron siempre inferiores a las de malvidín-3-*O*-glucósido (Schwarz *et al.*, 2003b; Rentzsch *et al.*, 2010).

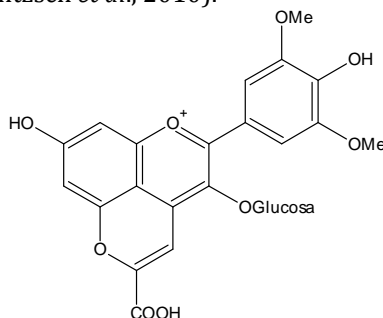


Figura 1.30. Estructura química de la Vitisina A.

La máxima tasa de producción de Vitisina A se alcanza en el rango comprendido entre 10 y 15 °C, mientras que a temperaturas mayores (32 °C) se favorece la formación de pigmentos poliméricos (Romero and Bakker, 1999), ya que la temperatura es un factor que influye en la síntesis de estos compuestos.

Por otra parte, la Vitisina A presenta una baja tasa de degradación (Bakker *et al.*, 1998; Mateus and De Freitas, 2001) y una alta estabilidad (Romero and Bakker, 2001), habiéndose determinado que más de la mitad de su contenido inicial

permanece presente en vinos después de 15 años (Schwarz *et al.*, 2003a). Ello es debido a la alta estabilidad de la molécula frente al ataque nucleofílico y además, a que se puede generar constantemente durante toda la vida del vino, siempre que existan antocianos monoméricos y ácido pirúvico disponibles (Morata *et al.*, 2007).

Los antocianos monoglucosilados y los antocianos acetilglucosilados parecen presentar igual reactividad frente al ácido pirúvico (Romero and Bakker, 1999), aunque las vitisinas formadas a partir de antocianos acilados son menos estables en el vino que las formadas a partir de antocianos glucosilados (Romero and Bakker, 2001).

#### 4.1.2. Vitisinas tipo B

Otro grupo de piranoantocianos estrechamente relacionado estructuralmente con los anteriores son las vitisinas tipo B (Bakker *et al.*, 1997), que se diferencian de los carboxipiranoantocianos por carecer del grupo carboxilo en la posición C<sub>10</sub> del anillo D. Las vitisinas tipo B se forman por cicloadición de una molécula de acetaldehído sobre la molécula de antociano, dando lugar a compuestos con estructuras químicas como la mostrada en la figura 1.31, correspondiente a la vitisina tipo B derivada del malvidín-3-*O*-glucósido. En la formación de estas vitisinas hay que tener en cuenta que el acetaldehído reacciona preferentemente con los antocianos acetilados y, en menor medida, con los cumarilados.

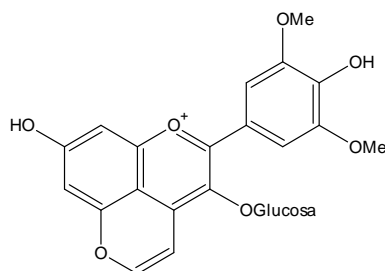


Figura 1.31. Estructura química de la Vitisina B.

Durante la fermentación alcohólica de los vinos, las vitisinas A se forman más rápidamente que las de tipo B, especialmente durante los primeros días de proceso, de acuerdo con las concentraciones de ácido pirúvico y acetaldehído a lo largo de esta etapa de la vinificación. A este respecto, la máxima concentración de ácido pirúvico excretado por las levaduras se alcanza cuando se ha fermentado el 50% aproximadamente de los azúcares, siendo el medio aún rico en nutrientes, alcanzando también en este momento la máxima la tasa de formación de vitisinas tipo A (Casassa and Catania, 2006). Hacia el final de la fermentación, el medio se empobrece nutricionalmente y la levadura comienza a reutilizar parte del piruvato excretado, disminuyendo consecuentemente la velocidad de formación de este tipo de vitisinas. Asimismo, en ese momento comienza la síntesis de las vitisinas tipo B (Morata *et al.*, 2003), ya que la producción de acetaldehído es proporcional a la cantidad de azúcar fermentado y consecuentemente es mayor hacia el final de la fermentación.

Recientemente se ha propuesto que en el vino se forman los oligómeros catequina-(4-6/8)-vitisina A y catequina-(4-6/8)-vitisina B (Nave *et al.*, 2010), como

resultado de la cicloadición del ácido pirúvico (vitisina A) o del acetaldehído (vitisina B) sobre la parte antocianica de los aductos formados entre flavanoles y (4-6/8)-antocianos en los vinos tintos (De Freitas and Mateus, 2011).

#### 4.1.3. Metilpiranoantocianos

Otro grupo de piranoantocianos derivados de la reacción entre antocianos y metabolitos de levadura son los metilpiranoantocianos, propuestos como resultado de la reacción entre antocianos y acetona en vinos tintos (Benabdeljalil *et al.*, 2000; Lu and Foo, 2001; Hayasaka and Asenstorfer, 2002). Estos compuestos se han estudiado en vinos Oporto, y se ha visto que se pueden sintetizar tras la reacción de antocianos con ácido acetoacético, mediante un mecanismo de cicloadición similar al de formación de carboxipiranoantocianos (He *et al.*, 2006b). Estos derivados les confieren un color amarillo-naranja como consecuencia de que a pH ácido, la longitud de onda máxima de estos pigmentos ( $\lambda_{\max}$ ) se sitúa a 478 nm.

#### 4.1.4. Otros piranoantocianos

Además de ácido pirúvico, acetaldehído y acetona, otras moléculas son capaces de formar piranoantocianos, entre los que se encuentran ácido  $\alpha$ -cetoglutárico (Fulcrand *et al.*, 1998; Mateus *et al.*, 2001b), ácido glioxílico (Fulcrand *et al.*, 1997; Es-Safi *et al.*, 1999c), e incluso acetoína y diacetilo (Castagnino and Vercauteren, 1996). Este último, en combinación con los antocianos, da origen a los castavinolos, moléculas susceptibles de intervenir como reserva de materia colorante (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1998).

### 4.2. **Piranoantocianos resultantes de la reacción entre antocianos y compuestos vinílicos**

#### 4.2.1. Pinotinas

Los ácidos hidroxicinámicos actuando por sí mismos (*p*-cumárico, cafeico, ferúlico o sinápico) o a través de sus productos de descarboxilación (4-vinilfenoles), pueden reaccionar covalentemente con los antocianos, dando lugar a pigmentos de tipo piranoantocianico recientemente nombrados como pinotinas (Hakånsson *et al.*, 2003; Schwarz *et al.*, 2003a; Schwarz *et al.*, 2003c). Al pH ácido de los vinos, estos pigmentos presentan una  $\lambda_{\max}$  de 505-508 nm (He *et al.*, 2012), mostrando colores rojo-anaranjados (Mateus *et al.*, 2002a; De Villiers *et al.*, 2004; Boido *et al.*, 2006).

El primer piranoantociano de este tipo identificado en el vino tinto fue el piranomalvidín-3-*O*-glucósido (Cameira-dos-Santos *et al.*, 1996; Fulcrand *et al.*, 1996), sintetizado tras la reacción entre malvidín-3-*O*-glucósido y vinilfenol, formado éste último por descarboxilación del ácido *p*-cumárico. La vía de formación propuesta implica una reacción de cicloadición entre el grupo vinilo del vinilfenol y los grupos en posición 5 y 4 del antociano (hidroxilo y carbono, respectivamente), seguida de una oxidación que conduce a la aromatización del anillo D (figura 1.32).

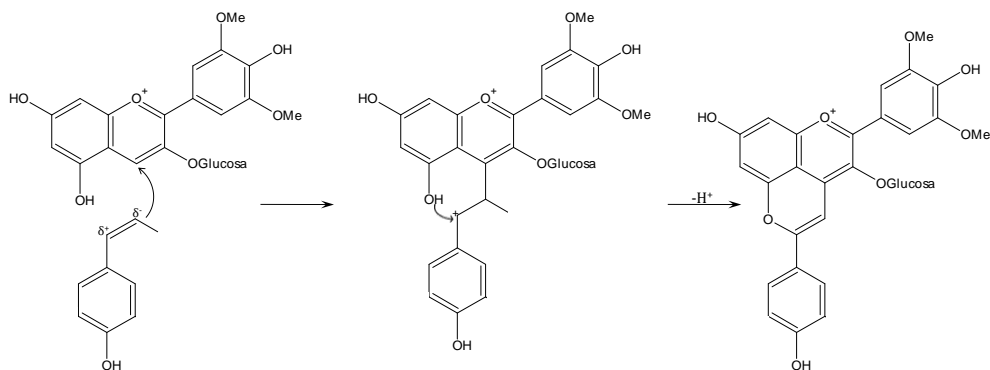


Figura 1.32. Reacción de formación del piranomalvidín-3-*O*-glucósido.

Posteriormente, se determinaron en vinos estructuras con características y colores similares pero con diferentes patrones de sustitución en la fracción de fenol (catecol, siringol, guayacol) (Mateus *et al.*, 2002b; Schwarz *et al.*, 2003a; Alcalde-Eon *et al.*, 2004; Mateus *et al.*, 2006; Rentzsch *et al.*, 2007). A este respecto, en la variedad Pinotage se identificó piranomalvidín-3-*O*-glucósido-catecol, que fue denominado Pinotina A, formado por la reacción entre un antociano y el ácido cafeico a través de un mecanismo similar al anteriormente comentado, pero con una descarboxilación adicional (figura 1.33). De igual manera, los piranoantocianos resultantes de la reacción entre antocianos y otros ácidos cinámicos, como *p*-cumárico, ferúlico y ácido sinápico se llevarían a cabo mediante el mismo procedimiento, aunque se cree que estas reacciones son más lentas.

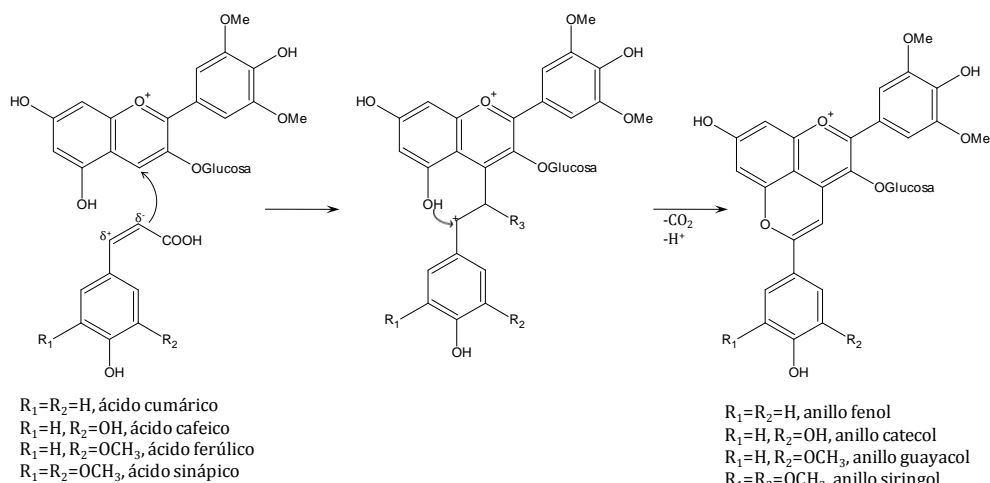


Figura 1.33. Reacción de formación de pinotinas a partir de ácidos hidroxicinámicos.

En un principio se pensó que los vinilfenoles se formaban vía descarboxilación enzimática por parte de *Saccharomyces cerevisiae* de los ácido *p*-cumárico, cafeico, ferúlico y sinápico, exclusivamente durante la fermentación (Fulcrand *et al.*, 1996). Sin embargo, Chatonnet *et al.* (1993), estudiando la capacidad de diferentes cepas de *Saccharomyces cerevisiae* para descarboxilar el ácido cinámico,

determinaron que ciertas moléculas como catequinas, epicatequinas y procianidinas oligoméricas inhibían fuertemente la actividad descarboxilasa sobre el ácido *p*-cumárico, concluyendo que la actividad cinamato-descarboxilasa sería muy poco activa durante la fermentación. Sin embargo, los vinilfenoles pueden producirse también por vía química, a partir de la hidrólisis lenta de los ésteres tartáricos correspondientes (Somers *et al.*, 1987), lo que explicaría que la concentración de pinotinas aumente constantemente durante el almacenamiento del vino.

A este respecto, Scharwz *et al.* (2003a) observaron que la concentración de Pinotina A era 10 veces superior en vinos envejecidos 5 ó 6 años respecto a los vinos jóvenes, como consecuencia posiblemente de que estos compuestos se forman siempre que existan antocianos y ácidos hidroxicinámicos libres (Schwarz *et al.*, 2003c). El hecho de que la formación de este tipo de piranoantocianos en el vino se produzca fundamentalmente tras varios años en botella (García-Puente Rivas *et al.*, 2006), permite utilizarlos en ocasiones como un marcador del tiempo de envejecimiento en los vinos.

#### 4.2.2. Piranoantocianos-flavanoles

Los piranoantocianos-flavanoles, llamados también flavanil-piranoantocianos o vinilflavanol-piranoantocianos, son unos derivados antocianícos en los cuales una molécula de piranoantocianos se ha unido directamente a un flavanol. Estos compuestos fueron propuestos por primera vez por Francia-Aricha *et al.* (1997) tras sus estudios en disoluciones modelo, y posteriormente confirmados en vinos tintos experimentales (Vivar-Quintana *et al.*, 1999) y en vinos tintos comerciales (Asenstorfer *et al.*, 2001; Mateus *et al.*, 2002b; Monagas *et al.*, 2003b; He *et al.*, 2006a).

Estos pigmentos presentan un desplazamiento hipsocrómico de la longitud de onda de máxima absorción hacia valores de 490-511 nm, mostrando un color más anaranjado que el de los antocianos de partida (He *et al.*, 2012).

Para este grupo de piranoantocianos se propuso un mecanismo similar al de los vinilfenoles, a partir del cual los compuestos serían el resultado de la reacción de cicloadición entre vinilflavanoles y antocianos. Concretamente, Cruz *et al.* (2008b) encontraron que la vinilcatequina reacciona fácilmente con los antocianos produciendo estos piranoantocianos (figura 1.34). Los vinilflavanoles no se sintetizan naturalmente en las uvas y se cree que surgen de la deshidratación de aductos flavanol-etanol, o también por la descomposición de aductos de flavanol unidos por un puente metilmetileno, si bien en ambos casos, los compuestos de partida resultan de la reacción de los flavanoles con acetaldehído (Es-Safi *et al.*, 1999b; Asenstorfer *et al.*, 2001; Cruz *et al.*, 2008a; Cruz *et al.*, 2008b).

Los antocianos pueden reaccionar también con unidades flavanol-etilo (o vinilflavanol) procedentes de la despolimerización de polímeros de flavanoles (uniones entre flavanoles mediadas por acetaldehído), o de la hidrólisis de condensaciones flavanol-etil-antociano.

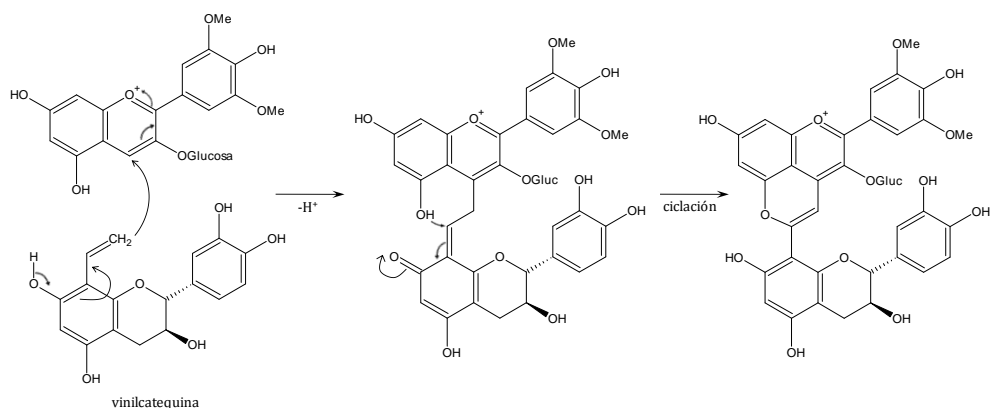


Figura 1.34. Reacción de formación de piranoMv-3-O-glucósido-catequina en vinos tintos.

La mayor resistencia a la decoloración de los pigmentos piranoMv-3-O-glucósido-flavanol respecto a los antocianos de partida, al igual que ocurre para los compuestos carboxipiranoMv-3-O-glucósido, se atribuye a sus propiedades estructurales, que se caracterizan por una sustitución en C<sub>4</sub> de la molécula de antociano, protegiendo así las formas coloreadas del compuesto contra el ataque nucleofílico del agua que normalmente se produce en las posiciones 2 y 4 del cromóforo. Con todo ello, los equilibrios de los piranoantocianos en disoluciones acuosas según cambia el pH del medio podrían responder sólo a reacciones de transferencia de protones, en los que el piranoflavilio conduce a la formación de sus bases quinoidales (Cruz *et al.*, 2010).

En vinos tintos y vinos Oporto se han identificado, además de los monómeros piranoantociano-flavanol, dímeros piranoantociano-flavanol y piranoantociano-flavanol con estructuras más polimerizadas (De Villiers *et al.*, 2004; Chinnici *et al.*, 2009; Aguirre *et al.*, 2011). El malvidín-3-O-glucósido puede reaccionar con 8-vinilcatequina para producir estos pigmentos más complejos, aunque normalmente no se pueden detectar en vinos, ya que aparecen sólo a nivel de trazas (Cruz *et al.*, 2008b).

### 4.3. Oxovitisinas

Se ha demostrado que las vitisinas A reaccionan con el agua dando lugar a piranona-antocianos neutros, llamados oxovitisinas, que tienen un color amarillo en medio ácido ( $\lambda_{\max} = 373 \text{ nm}$ , a pH 2) (He *et al.*, 2010). Su formación implica un primer ataque nucleofílico del agua sobre la carga positiva en la posición C<sub>10</sub> de la vitisina, lo que conduce a la formación de un hemiacetal, y a continuación tienen lugar una descarboxilación, oxidación y deshidratación para originar una nueva estructura piranona neutra (figura 1.35).

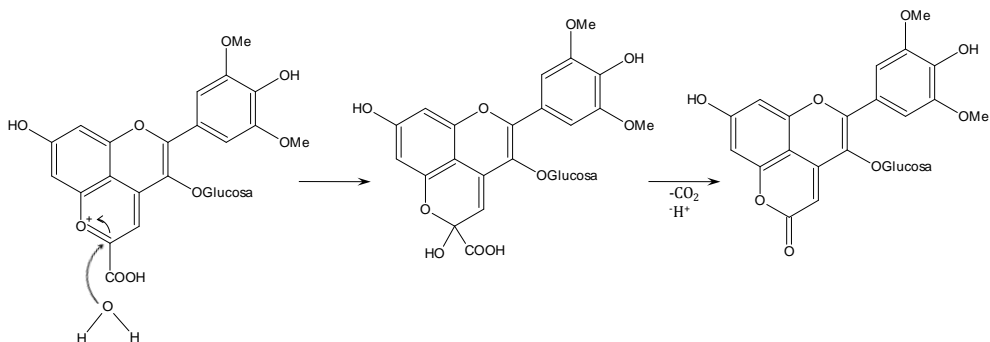


Figura 1.35. Formación de piranona-antocianos a partir de Vitisina A.

Aunque las vitisinas tipo B no están en equilibrio con las formas hemiacetálicas (Oliveira *et al.*, 2009), también podría producirse un ataque nucleofílico del agua, aunque muy lentamente, y que sería el primer paso para un cambio irreversible de estas vitisinas hacia la formación de piranonas neutras.

#### 4.4. Vinilpiranoantocianos

Recientemente, Mateus *et al.* (2003b) identificaron una nueva clase de pigmentos derivados de antocianos en vinos tipo Oporto tras 2 años de envejecimiento. La estructura de estos nuevos pigmentos es un piranoantociano unido a una unidad flavanol o fenol a través de un puente vinilo y, debido al tipo de vino en el que fueron encontrados por primera vez, se han denominado portisinas (De Freitas and Mateus, 2004). Los estudios realizados revelaron que estos vinilpiranoantocianos presentaban un color azul en condiciones ácidas, con una  $\lambda_{\max}$  cercana a los 570 nm, siendo posiblemente la conjugación extendida de electrones  $\pi$  la responsable del color azulado tan infrecuente en condiciones ácidas (Mateus *et al.*, 2003a).

Algunos estudios llevados a cabo en disoluciones modelo revelaron que estos pigmentos derivan de la reacción entre vitisinas tipo A y flavanoles, en presencia de acetaldehído (Mateus *et al.*, 2004). El primero que se identificó era el resultado de la reacción de la Vitisina A con un resto vinil-flavanol derivado de la rotura de oligómeros de flavanol o de la deshidratación del aducto flavanol-etanol formado tras la reacción de flavanoles con acetaldehído (figura 1.36). El compuesto presentaba una  $\lambda_{\max}$  de absorción a 575 nm, y aunque aparecía en muy pequeñas cantidades, era muy estable, por lo que sería susceptible de contribuir al cambio de color de estos vinos durante el envejecimiento (Mateus *et al.*, 2003a).



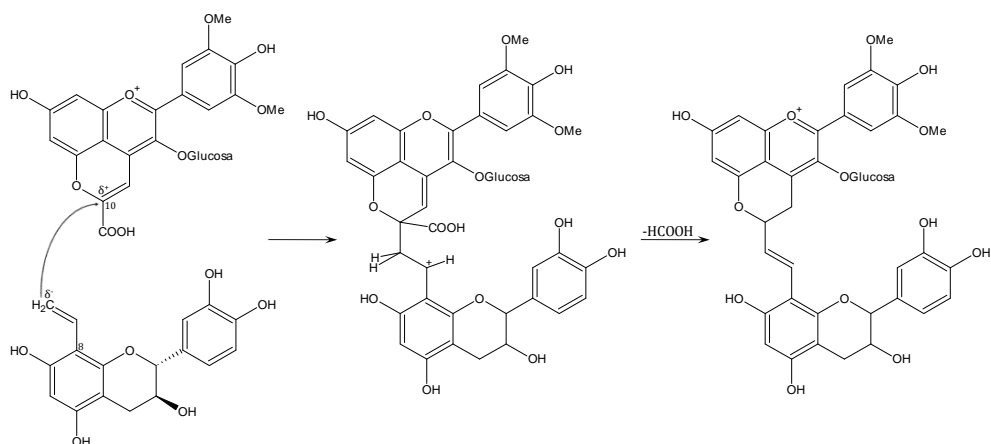


Figura 1.36. Mecanismo propuesto para la formación de la Portisina A.

Otras portisinas tipo A han sido identificadas en vinos Oporto, que serían los derivados catequina-vinilpirano de los antocianos petunidín, peonidín y malvidín-3-O-glucósidos, peonidín y malvidín-3-O-acetilglucósidos y malvidín-3-O-cumarilglucósido (Mateus *et al.*, 2005). Además, Mateus *et al.* (2006) identificaron el vinilpiranomalvidín-3-O-glucósido-fenol, producto de la reacción entre la vitisina A y un resto vinil-fenol proveniente de la descarboxilación del ácido *p*-cumárico (figura 1.37). Este nuevo compuesto presentaba una  $\lambda_{\text{max}}$  de 535 nm, tonalidades púrpura, alta estabilidad y podría jugar un papel crucial como precursor de otros nuevos pigmentos durante la evolución del color.

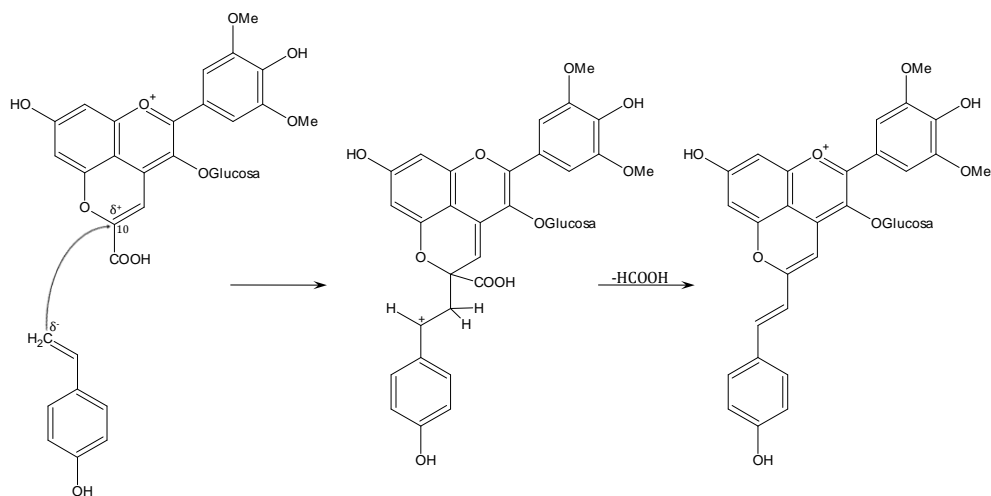


Figura 1.37. Mecanismo propuesto para la formación de vinilpiranomalvidín-3-O-glucósido-fenol.

Oliveira *et al.* (2007) identificaron tres compuestos similares al vinilpiranomalvidín-3-O-glucósido-fenol, pero con otros restos fenólicos (catecol, siringol o guayacol). El mecanismo de formación propuesto para estos pigmentos, que

se denominaron portisinas tipo B, comienza con el ataque nucleofílico del doble enlace olefínico de un ácido hidroxicinámico sobre la posición C<sub>10</sub> del aducto antociano-ácido pirúvico, seguido por la pérdida de una molécula de ácido fórmico y una descarboxilación, según el mecanismo que se muestra en la figura 1.38.

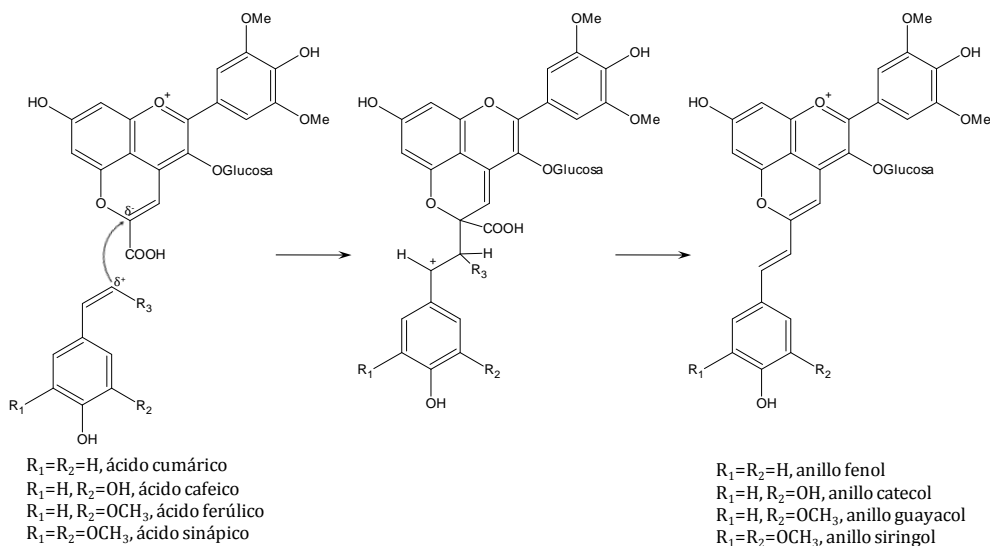


Figura 1.38. Mecanismo propuesto para la formación de portisinas tipo B.

Las portisinas tipo B presentan un desplazamiento batocrómico de la  $\lambda_{max}$  de absorción a valores cercanos a 540 nm respecto a los aductos precursores antociano-ácido pirúvico ( $\lambda_{max}$  511 nm) debido a la conjugación extendida de electrones  $\Pi$  en el anillo D. Curiosamente, el color de estos derivados antociánicos cambia a tonos azulados cuando se congelan en agua, lo que se ha explicado de acuerdo a un cambio físico-químico reversible debido a sus propiedades electrónicas y vibracionales (Carvalho *et al.*, 2010).

La caracterización de las portisinas reveló que eran más resistentes a la decoloración por ataque nucleofílico del agua y por el SO<sub>2</sub> que los antocianos de partida. Sin embargo, la resistencia a la decoloración de las portisinas tipo B era inferior a la de tipo A debido a la presencia del grupo hidroxicinámico que no protege tanto contra el ataque nucleofílico en la posición C<sub>2</sub> (Oliveira *et al.*, 2007).

#### 4.5. Piranoantocianos dímeros

Recientemente, en vinos envejecidos tipo Oporto y en sus sedimentos (lías) se identificaron dos nuevas familias de compuestos piranoantociánicos que presentaban un color azul turquesa y cuya estructura correspondería a dos piranoantocianos unidos por un puente metileno (Oliveira *et al.*, 2010). El primer grupo de pigmentos presentaba una  $\lambda_{max}$  a aproximadamente 680 nm en el espectro UV-Vis y fue cuantificado en niveles más altos en lías, probablemente debido a su menor solubilidad en disoluciones de etanol al 20%. El segundo grupo de pigmentos

presentaba una  $\lambda_{\max}$  de aproximadamente 730 nm y la diferencia estructural con los anteriores parece ser un carbono insaturado implicado en el sistema de conjugación, que explicaría la  $\lambda_{\max}$  superior (Oliveira *et al.*, 2010).

De Freitas and Mateus (2011) sugirieron que estos pigmentos surgen de la reacción de carboxipiranoantocianos con metilpiranoantocianos y han propuesto dos vías de reacción (figura 1.39). En la primera ocurriría una desprotonación inicial del grupo metilo del metilpiranoantociano, dando lugar a la formación de un grupo metileno en el C<sub>10</sub>, teniendo lugar a continuación un ataque nucleofílico del doble enlace del grupo metileno, formado sobre el carbono electrófilo en posición 10 de la molécula de carboxipiranoantociano.

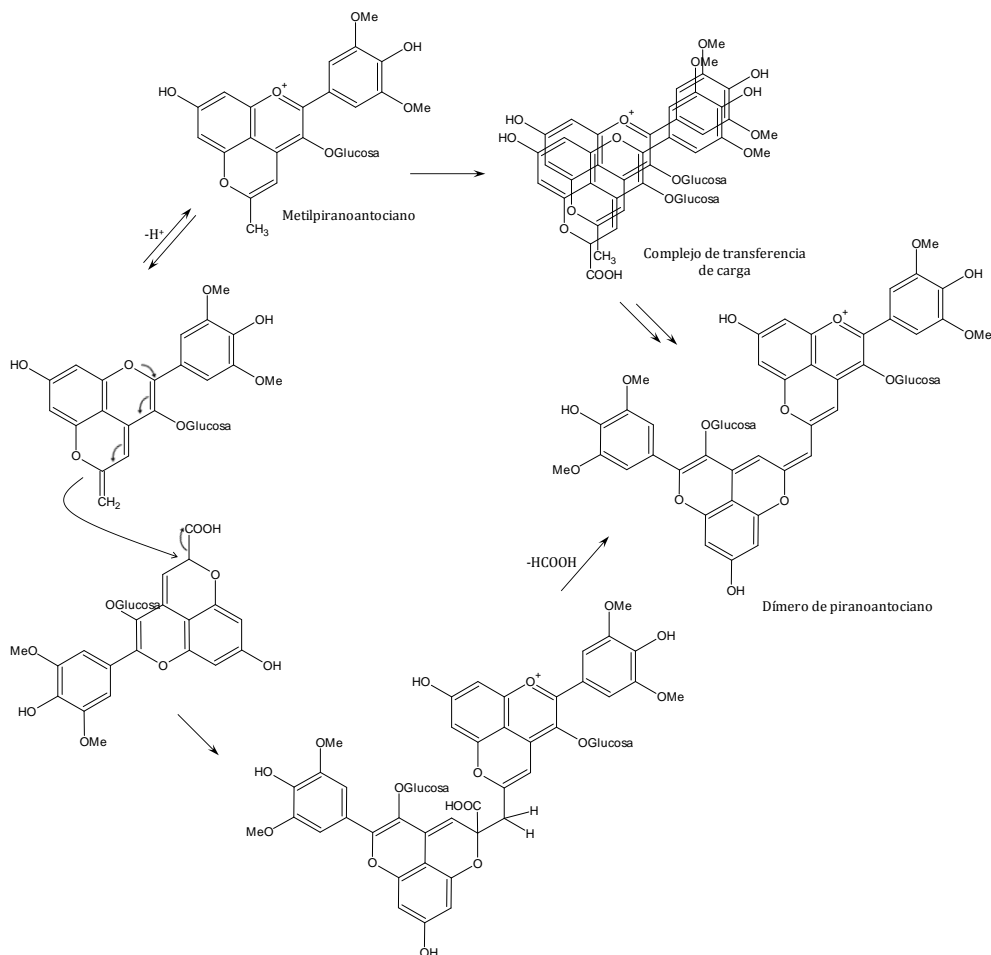


Figura 1.39. Rutas propuestas para la formación de dímeros de piranoantocianos.

La segunda vía de síntesis conlleva la formación de un complejo de transferencia de carga entre los dos precursores, que se estabilizaría por las interacciones  $\pi$  del anillo aromático. La condensación entre ambos precursores ocurriría a través de una reacción iónica o radical, perdiéndose después una molécula

de ácido fórmico para dar lugar a la nueva estructura de dos unidades de piranoantociano unidos por un grupo metileno. Aunque aún no hay conclusiones claras sobre cuál es el mecanismo que ocurre realmente, la vía de formación del complejo de transferencia de carga parece ser la más probable (Chassaing *et al.*, 2008; Oliveira *et al.*, 2010; De Freitas and Mateus, 2011).

## 5. Reacciones de condensación de antocianos y taninos

Estas reacciones de condensación se basan en procesos de adición, donde los antocianos y los taninos pueden actuar tanto como agentes electrofílicos, como nucleofílicos (Zimman and Waterhouse, 2004). Así, se han descrito diferentes tipos de condensaciones (Fulcrand *et al.*, 2006), tales como reacción directa tanino-antociano, reacción directa antociano-tanino y reacción indirecta a través de un puente metilmetileno.

### 5.1. Reacción directa tanino-antociano (T-A)

En un medio ácido como el vino, las procianidinas pueden hidrolizarse formando un carbocatión que reacciona con sitios nucleófilos (Haslam, 1980), como las posiciones 6 y 8 de una molécula de antociano bajo la forma de base carbinol neutra (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1998). El tanino se une al antociano a través de la posición C<sub>4</sub> del anillo C, dando lugar a un complejo incoloro que cambia a un color rojo anaranjado después de su deshidratación (figura 1.40), dando lugar a las formas poliméricas coloreadas (Salas *et al.*, 2003; Salas *et al.*, 2004b; He *et al.*, 2008; Nave *et al.*, 2010). Esta condensación se ve favorecida por la ausencia de oxígeno y la temperatura, y explicaría la evolución de los vinos almacenados en ambientes reductores, como depósitos o botellas. Este tipo de reacción depende de la concentración de antocianos en el medio, así como de las unidades de flavan-3-ol disponibles, resultantes de la ruptura en medio ácido de los enlaces interflavanol de las procianidinas (Salas *et al.*, 2004a).

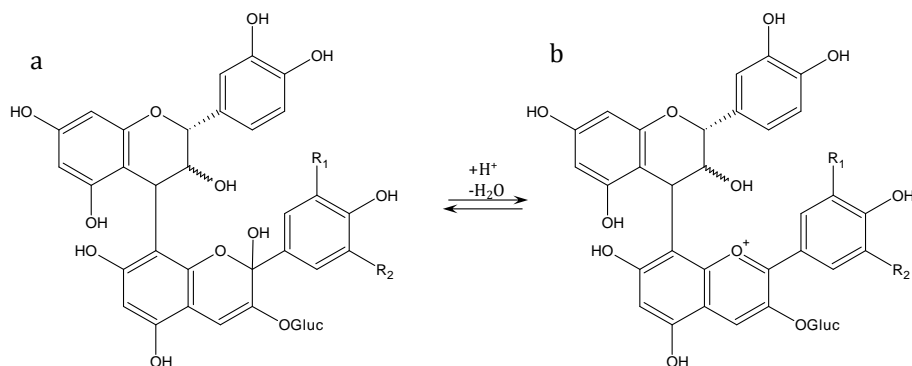


Figura 1.40. Estructuras químicas del aducto T-AOH (forma hemiacetal) (a) y del aducto T-A<sup>+</sup> (forma flavilio) (b).

## 5.2. Reacción directa antociano-tanino (A-T)

Los antocianos, bajo su forma catiónica ( $A^+$ ), reaccionan con las posiciones negativas  $C_6$  o  $C_8$  de los taninos, formando un compuesto flaveno incoloro (A-T) (Santos-Buelga *et al.*, 1999). A continuación, este aducto se puede oxidar hasta el estado flavilio ( $A^+-T$ ) de color rojo, en presencia de oxígeno (Santos-Buelga *et al.*, 1995a; Mateus *et al.*, 2002b; Pati *et al.*, 2006) y se establece un equilibrio entre ambas formas,  $A^+-T$  y A-T (figura 1.41).

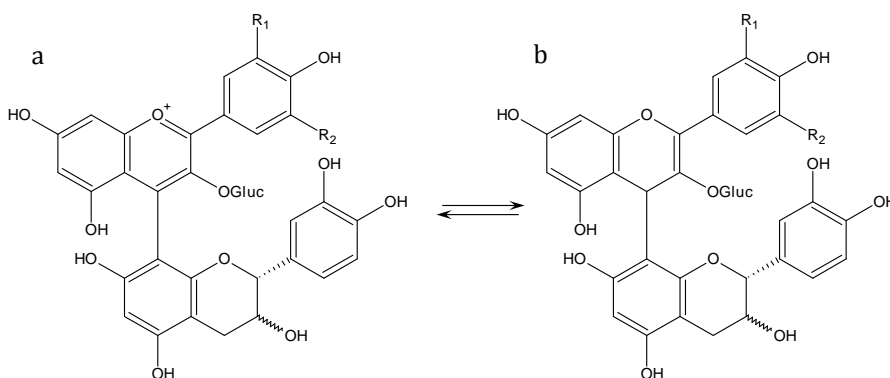


Figura 1.41. Estructuras químicas del aducto  $A^+-T$  (forma flavilio) (a) y del aducto A-T (forma flaveno) (b).

Este tipo de reacción transcurre a gran velocidad durante la vinificación y el envejecimiento del vino, ya que los antocianos monómeros disminuyen rápidamente y son reemplazados por formas coloreadas más complejas que contribuyen en un 85% al color de vinos tintos de 10 años (Somers, 1971). Los compuestos  $A^+-T$  son resistentes a la decoloración por  $SO_2$ , mientras que los aductos T- $A^+$  serían más susceptibles a dicha decoloración y a la hidratación.

## 5.3. Reacción indirecta a través de un puente metilmetileno

Los antocianos y los taninos también pueden unirse por medio de una reacción en la que interviene el acetaldehído, como consecuencia de que al pH del vino, una pequeña proporción de acetaldehído se encuentra en su forma protonada, y puede reaccionar con las posiciones nucleofílicas  $C_8$  o  $C_6$  del anillo A de una molécula de flavanol. Se forma un aducto donde el acetaldehído queda unido al flavanol, pudiendo dar lugar a un nuevo ion que puede atacar a la posición nucleofílica  $C_8$  del anillo A de un antociano, formándose un compuesto antociano-metilmetileno-flavanol (figura 1.42).

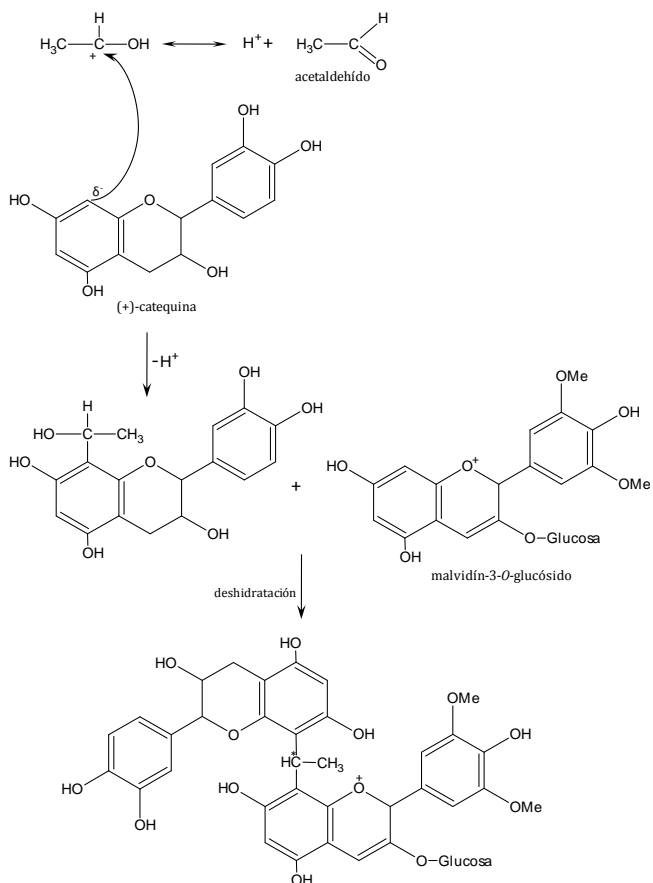


Figura 1.42. Mecanismo de formación de compuestos flavanol-metilmileno-antociano.

El compuesto antociano-metilmileno-flavanol formado puede desprotonarse para dar lugar a la formación de una base quinoidal de color violeta, de acuerdo al equilibrio de la figura 1.43 (Es-Safi *et al.*, 2002; Pissarra *et al.*, 2004; Sun *et al.*, 2008).

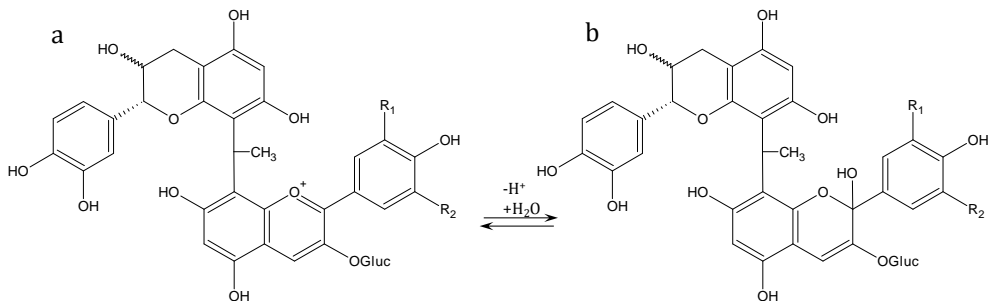


Figura 1.43. Estructuras químicas de un compuesto flavanol-metilmileno-antociano en su forma hemiacetal (a) y en su forma flavilio (b).

Como la unidad de flavanol puede ser atacada en las posiciones C<sub>8</sub> y C<sub>6</sub>, mientras que la unidad de antociano sólo en la posición C<sub>8</sub>, los aductos resultantes presentan dos isómeros estructurales, que incluyen el C<sub>8</sub>-metilmetileno-CH<sub>8</sub> y C<sub>6</sub>-metilmetileno-CH<sub>8</sub> (Bakker *et al.*, 1993; Rivas-Gonzalo *et al.*, 1995). Como el puente metilmetileno presenta además un carbono asimétrico, cada uno de los isómeros anteriores presentan además dos diastereoisómeros (*R* o *S*) (Rivas-Gonzalo *et al.*, 1995; Escribano-Bailón *et al.*, 1996). Posteriormente, se ha demostrado que la posición C<sub>6</sub> del anillo A, de la forma hemiacetal del antociano, puede también participar en este tipo de reacciones, aunque en menor extensión que la posición C<sub>8</sub> (Atasanova *et al.*, 2002).

Entre los productos enlazados por puente metilmetileno pueden incluirse taninos (T-metilmetileno-T), aductos de taninos-antocianos (T-metilmetileno-A) y antocianos entre sí (A-metilmetileno-A). El tamaño molecular de estos productos es variable.

Se ha mostrado que la formación de este tipo de compuestos conlleva un desplazamiento del color hacia tonos violetas en disoluciones modelo (Dallas *et al.*, 1996a; Escribano-Bailón *et al.*, 2001) y en vinos tintos experimentales (Vivar-Quintana *et al.*, 1999) debido a un desplazamiento batocrómico de  $\lambda_{\max}$  de absorción hasta 530-540 nm. Además, la presencia de estos derivados origina una mayor estabilización del color del vino frente a cambios de pH y la acción de SO<sub>2</sub> (Somers and Evans, 1977; Bakker *et al.*, 1993), aunque son más sensibles a la degradación en soluciones acuosas (Escribano-Bailón *et al.*, 2001).

#### 5.4. Dímeros de antocianos

En vinos tintos pueden formarse también dímeros antociano-antociano, de los cuales algunos presentan estructuras similares a las de las proantocianidinas tipo B (figura 1.44), pero otros forman un enlace intramolecular adicional por una reacción de deshidratación para producir estructuras como las de las proantocianidinas tipo A (Vidal *et al.*, 2004; Salas *et al.*, 2005; Alcalde-Eon *et al.*, 2007; Pati *et al.*, 2009). En este sentido, además del malvidín-3-*O*-glucósido-(C<sub>4</sub>-C<sub>8</sub>)-malvidín-3-*O*-glucósido, también se ha identificado en vinos tintos el compuesto bicíclico malvidín-3-*O*-glucósido-(C<sub>2</sub>-*O*-C<sub>7</sub>, C<sub>4</sub>-C<sub>8</sub>)-malvidín-3-*O*-glucósido.

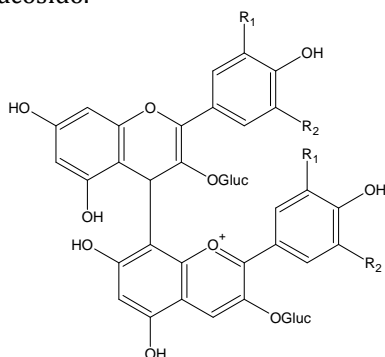


Figura 1.44. Estructura química de un dímero de antocianos (A-A<sup>+</sup>).

## REACCIONES DE PARDEAMIENTO EN UVAS, MOSTOS Y VINOS

Muchos constituyentes de uvas, mostos y vinos, entre los que se pueden incluir los compuestos fenólicos, algunos metales, la tirosina y los aldehídos, son susceptibles de sufrir reacciones de oxidación durante el proceso de vinificación, dando lugar a la aparición de compuestos pardos. El pardeamiento es un proceso oxidativo que puede ocurrir tanto por vía enzimática como química, siendo dentro de ésta última muy conocida la llamada reacción de Maillard. Es uno de los principales problemas que surgen durante la elaboración de los vinos, ya que afectan a sus propiedades sensoriales mediante la pérdida de color, sabor y aroma, aumentando paralelamente la astringencia (Ferreira *et al.*, 1997; Escudero *et al.*, 2002; Silva Ferreira *et al.*, 2002), a la vez que conlleva un descenso en el valor nutricional del vino (Sioumis *et al.*, 2005).

### 1. Pardeamiento enzimático

La oxidación enzimática de los fenoles, particularmente en presencia de oxígeno atmosférico y enzimas específicas, tiene lugar en las primeras etapas del procesado de alimentos y es bien conocida ya que da lugar a un pardeamiento. En las células intactas de los tejidos de frutas y verduras, los compuestos fenólicos se localizan principalmente en las vacuolas y las oxidoreductasas en el citoplasma, por lo que no pueden ponerse en contacto. Sin embargo, en el momento que las células se dañan y entran en contacto con el aire, comienza el pardeamiento enzimático (Cheynier and Moutounet, 1992). La rotura de estos tejidos se suele llevar a cabo durante el proceso de vinificación, aunque también ocurre durante el secado de las uvas (Serratos, 2009).

Numerosas clases de enzimas pueden catalizar las reacciones de oxidación enzimática, siendo las principales las oxidoreductasas, además de las monofenol monooxigenasas y peroxidasas (POD). Dentro de las oxidoreductasas se incluyen enzimas que usan catecoles o compuestos relacionados como donadores de electrones y el oxígeno como aceptor, dando lugar al compuesto donador oxidado y a agua. Dentro de estas enzimas estaría la polifenoloxidasas (PPO, conocida también como catecol oxidasa, difenoloxidasas, fenoloxidasas, tirosinasa, *o*-difenolasa y fenolasa), la lacasa (*p*-difenoloxidasas) y la *o*-aminofenoloxidasas (Oliveira *et al.*, 2011).

En las uvas, las principales enzimas responsables del pardeamiento durante su procesado son las polifenoloxidasas y las peroxidasas (Li *et al.*, 2008). Las PPO son metaloproteínas con cobre como grupo prostético y en presencia de oxígeno molecular son capaces de catalizar tres tipos de reacciones, dependiendo del sustrato específico:

1. Actividad cresolasa: *o*-hidroxilación de monofenol a *o*-difenol (Singleton, 1987).
2. Actividad catecolasa: oxidación de *o*-difenol a *o*-quinona.
3. Actividad lacasa: oxidación de *p*-difenoles en *p*-quinonas (Toit *et al.*, 2006).



Las POD son enzimas que contienen hierro como grupo prostético y su actividad depende de la cantidad de peróxido de hidrógeno disponible en el medio. Aunque el pardeamiento causado por las POD en la mayoría de las frutas es insignificante, Robards *et al.* (1999) encontraron que aumentan la degradación de los compuestos fenólicos cuando coexisten con las PPO.

El pardeamiento enzimático se correlaciona en el mosto con el contenido de ésteres de los ácidos hidroxicinámicos, principalmente el ácido cafeoiltartárico (ácido caftárico) y el ácido *p*-cumariltartárico (ácido cutárico) (Cheynier *et al.*, 1986). Cuando entran en contacto, las polifenoloxidasas oxidan rápidamente a los hidroxicinamatos hasta *o*-quinonas, las cuales son poderosos agentes oxidantes y participan en más reacciones en las que oxidan a otros compuestos del vino, ocasionando importantes cambios en el color (Cheynier *et al.*, 1995). El mecanismo propuesto se muestra en la figura 1.45.

1. En primer lugar tendría lugar la hidroxilación de monofenoles en *o*-difenoles y la oxidación de éstos en *o*-quinonas, catalizado por la polifenoloxidasas. Paralelamente pueden ocurrir oxidaciones acopladas de las quinonas con reductores presentes en el medio, como ácido ascórbico o sulfitos (Rigaud *et al.*, 1991), lo que conlleva la regeneración de los fenoles originales.
2. Las *o*-quinonas producidas también puede polimerizarse y condensar con otros muchos compuestos (que pueden ser especies fenólicas o no) para formar finalmente pigmentos marrones (Robards *et al.*, 1999.; Li *et al.*, 2008). Estas reacciones se aceleran a medida que aumenta el pH.

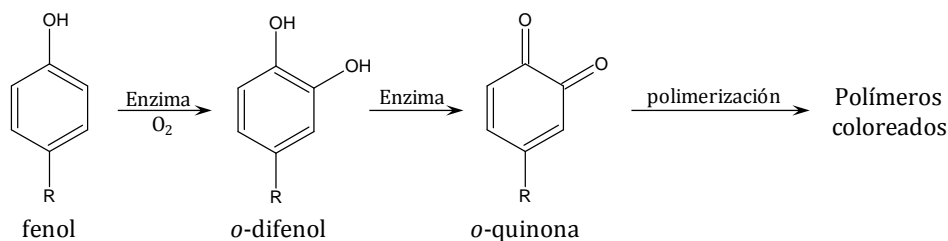


Figura 1.45. Mecanismo del pardeamiento enzimático.

Además, como las *o*-quinonas son poderosos oxidantes, pueden oxidar a casi cualquier sustrato con menor potencial, como polifenoles, ácido ascórbico o  $\text{SO}_2$ , reduciéndose ellas al catecol original (Oliveira *et al.*, 2011).

El glutatión (GSH) es un tripéptido formado por glicina, cisteína y ácido aspártico, muy abundante en algunas variedades de uva y que afecta al proceso de oxidación del mosto a través de la adición nucleófila del mismo a la *o*-quinona del cafeoiltartárico, formando ácido 2-S-glutanionil cafeoiltartárico, conocido como GRP, según el mecanismo que se muestra en la figura 1.46 (Singleton *et al.*, 1985; Cheynier *et al.*, 1986). El GRP es un compuesto incoloro, no es un buen sustrato para las PPO y supone una paralización del pardeamiento, ya que inactiva a la quinona del ácido caftárico y no se producen las reacciones de oxidación acopladas, de modo que se

puede decir que el glutatión “atrapa” las quinonas producidas durante la oxidación enzimática, disminuyendo la cantidad de pigmentos pardos (Singleton *et al.*, 1985; Rigaud *et al.*, 1991; Toit *et al.*, 2006). No obstante, cuando el glutatión se agota, el GRP puede ser oxidado por las quinonas del ácido *t*-caftárico en exceso, dando lugar en este caso a un pardeamiento intenso (Cheynier and Van Hulst, 1988).

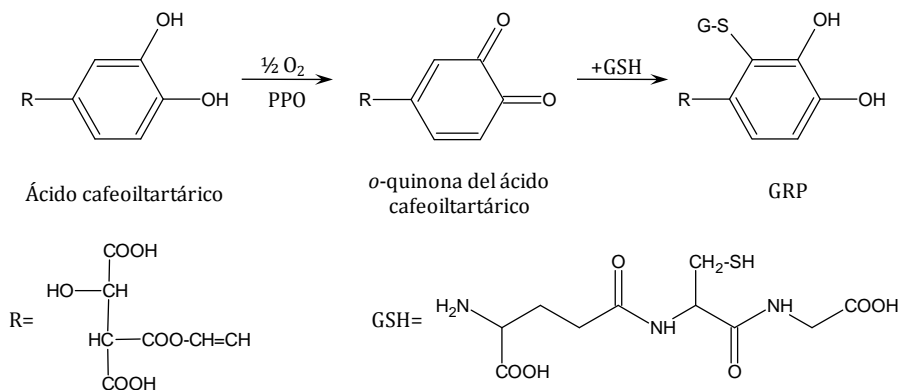


Figura 1.46. Mecanismo de formación de GRP a partir del ácido *t*-caftárico.

Cheynier *et al.* (1989) concluyeron que la sensibilidad de los mostos al pardeamiento depende de la relación de ácidos hidroxicinámicos y glutatión, que es una característica varietal, además de la concentración de flavanoles en el mosto. Así, se han podido establecer tres clases de mostos que se diferencian en su relación molar ácidos hidroxicinámicos/glutatión (AH/GSH):

- Mostos poco sensibles al pardeamiento: AH/GSH < 1
- Mostos sensibles al pardeamiento: 1 < AH/GSH < 3
- Mostos muy sensibles al pardeamiento: AH/GSH > 3

El SO<sub>2</sub> inhibe las polifenoloxidasas y previene la producción de GRP, lo que conlleva que siga manteniéndose un alto nivel de ácidos hidroxicinámicos libres y, consecuentemente, un alto potencial de pardeamiento. A diferencia de la PPO, la lacasa de la *Botrytis cinerea* es más resistente al SO<sub>2</sub> y tiene un espectro más amplio de sustratos a oxidar (Toit *et al.*, 2006), de modo que oxida rápidamente el GRP hasta *o*-quinona. Cuando ya no hay más glutatión disponible, ocurre la polimerización de las quinonas con el consiguiente pardeamiento (Salgues *et al.*, 1986).

## 2. Pardeamiento no enzimático

El pardeamiento no enzimático favorece la oxidación de polifenoles que contienen un resto *o*-dihidroxibenceno (anillo catecol) o un radical 1,2,3-trihidroxibenceno (grupo galoilo), tales como (+)-catequina, (-)-epicatequina, galocatequina, ácido gálico y sus ésteres, y ácido cafeico (Singleton, 1987; Kilmartin *et al.*, 2001; Danilewicz, 2003). De acuerdo al mecanismo propuesto en la figura 1.47, estos sustratos se oxidan a *o*-quinonas produciendo radicales libres semiquinona, mientras que el oxígeno se reduce a H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Danilewicz, 2003; Waterhouse and Laurie,

2006), estando el proceso mediado por los ciclos redox de  $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$  y  $\text{Cu}^{2+}/\text{Cu}^{+}$  (Danilewicz *et al.*, 2008). Otros compuestos con mayor número de grupos fenólicos aislados, como la malvidina, el ácido *p*-cumárico y el resveratrol se oxidan a potenciales mayores (Kilmartin *et al.*, 2001).

Algunos estudios han demostrado que, sin la presencia de iones de metales de transición, el oxígeno no reacciona directamente con los compuestos fenólicos del vino a través del mecanismo propuesto (Danilewicz, 2003; Waterhouse and Laurie, 2006).

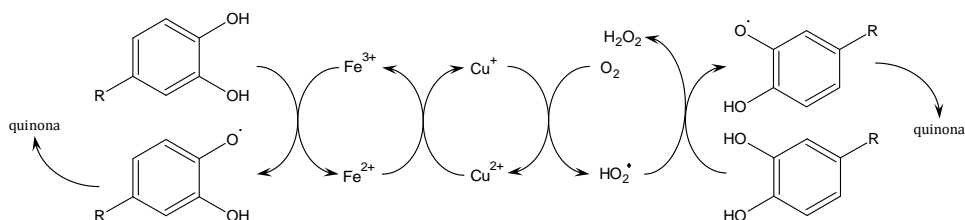


Figura 1.47. Reacción de oxidación de catecoles para producir quinonas y peróxido de hidrógeno, catalizado por hierro y cobre.

Las quinonas formadas tras este proceso son inestables y pueden dar lugar a numerosas reacciones, formándose pigmentos de manera similar a como ocurría en el pardeamiento enzimático (Singleton, 1987; Robards *et al.*, 1999). Entre estas reacciones estarían, por ejemplo, reacciones de condensación para formar productos coloreados de alto peso molecular, o reacciones de reducción para regenerar los fenoles originales tras atrapar átomos de hidrógeno de otros compuestos (Li *et al.*, 2008).

Debido a su gran afinidad electrónica, las quinonas pueden espontáneamente combinarse con compuestos nucleófilos, como algunos fenoles, compuestos sulfhídricos y aminas, produciendo dímeros o polímeros, que reorganizan su estructura para dar lugar a nuevos difenoles. Por ejemplo, un dímero quinona-fenol se puede convertir en un nuevo dímero difenol (figura 1.48). Por otra parte, los dímeros o polímeros producidos en la oxidación acoplada tienen menores potenciales redox que sus fenoles iniciales y son mucho más fáciles de oxidar. Estos *o*-difenoles regenerados renovables se oxidarán, acelerando en última instancia las reacciones de polimerización de fenoles (Li *et al.*, 2008). Mientras tanto, se produce más  $\text{H}_2\text{O}_2$  y más etanol se oxida a acetaldehído en presencia de metales de transición, y algunos fenoles que no eran fácilmente oxidables al principio, ahora serían susceptibles a la oxidación a través de la estructura de reordenación anterior (Li *et al.*, 2008).

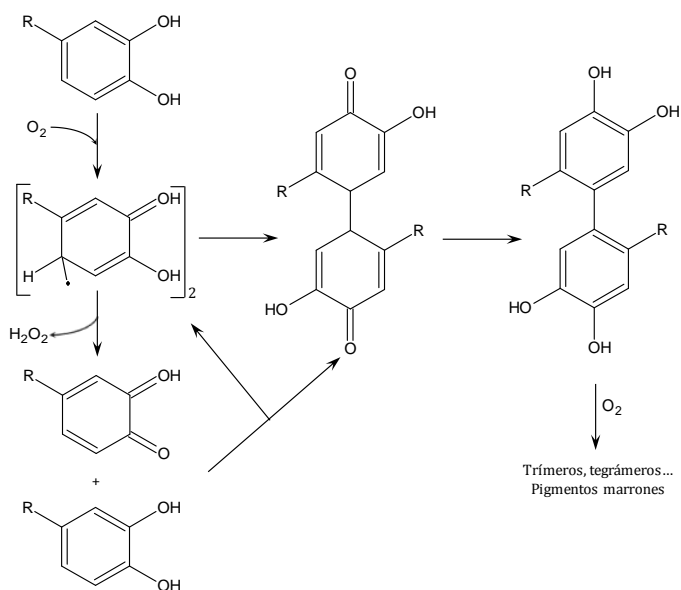


Figura 1.48. Regeneración de un oligómero oxidable mediante reacción de dos semiquinonas o una quinona y un fenol.

Singleton (1987) estudió las reacciones involucradas en la oxidación de los catecoles del vino hasta ortoquinonas, a la vez que el oxígeno se reducía a  $H_2O_2$  y a otras especies reactivas de oxígeno (figura 1.49).

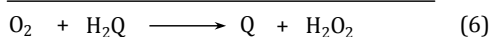
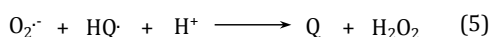
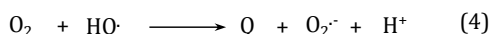
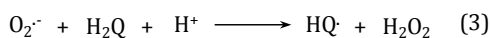
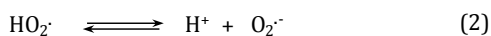
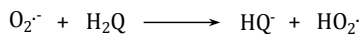
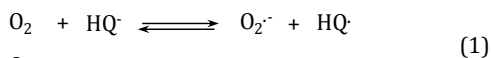


Figura 1.49. Autooxidación de los catecoles del vino.  $H_2Q$  representa el catecol,  $HQ\cdot$  el anión fenolato,  $HQ$  la semiquinona,  $O_2^{\cdot-}$  el ion superóxido y  $Q$  la *o*-quinona.

Los potenciales de cada una de las reacciones anteriores a pH 3.5, se muestran en la figura 1.50, donde puede verse que el potencial del par quinona-catecol es 0.58 V, y el del par  $O_2$ - $H_2O_2$  es 0.57 V, por lo que combinando ambas semireacciones se obtiene que:

$$\Delta E_{3.5} = -0.01 \text{ V}$$

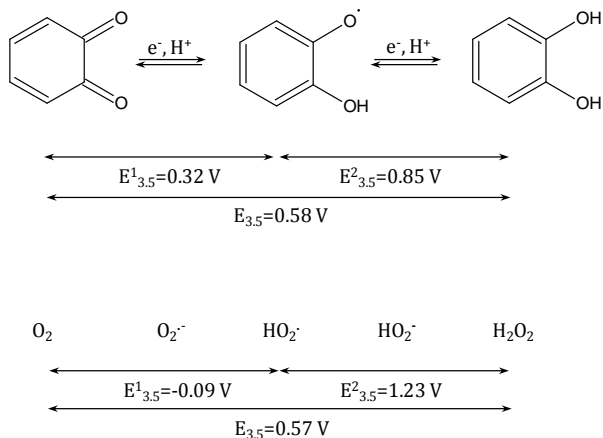


Figura 1.50. Potenciales de reducción de los sistemas 1,2-benzoquinona/catecol y oxígeno/peróxido de hidrógeno.

La energía libre de la reacción será,

$$\Delta rG_m = -nF\Delta E$$

$$\Delta rG_m = 1.93 \text{ KJ}\cdot\text{mol}^{-1} > 0$$

lo que significa que la reacción no es favorable termodinámicamente. Sin embargo, el peróxido de hidrógeno sí podría estar implicado indirectamente, ya que es el precursor para la generación de  $\cdot\text{OH}$ , que puede ser un potente iniciador de la oxidación del vino (Li *et al.*, 2008).

Muchos autores han indicado que los fenoles no pueden ser oxidados directamente por el oxígeno y que es necesaria la presencia de hierro y cobre (Fulcrand *et al.*, 1997; Danilewicz, 2003; Waterhose and Laurie, 2006). En este sentido, Cacho *et al.* (1995) estudiaron la influencia del hierro, cobre y manganeso, metales que suelen estar presentes en la composición del vino. De los tres cationes metálicos, el hierro y el manganeso parecen tener una mayor influencia en la pérdida de compuestos fenólicos debido a la oxidación de los mismos. A causa de que la concentración en hierro de los vinos es superior a la del manganeso, es por lo que casi todos los estudios se han centrado en el primero.

Los iones férricos ( $\text{Fe}^{+3}$ ) presentes en el vino no están en forma libre, sino que se encuentran formando complejos con otros compuestos, de la misma forma que los iones ferrosos ( $\text{Fe}^{+2}$ ), aunque estos complejos son más fáciles de ionizar, reduciendo el pH del sistema a causa de la liberación de iones hidrógeno ( $\text{H}^+$ ). Aunque la solubilidad de los complejos de polifenoles asociados con iones metálicos disminuye con el grado de sustitución y puede formar precipitados, el pH inicial para comenzar la precipitación varía dependiendo de los iones (Li *et al.*, 2008).

Por otro lado, en condiciones básicas, los fenoles son inestables y es más fácil que sean oxidados a quinonas, perdiendo un ligando hidroxibenceno, pero además los iones hierro, principalmente en forma de hidróxido férrico, precipitan a través de reacciones de hidrólisis en las que se rompe la unión de coordinación. Por otro lado,

en disoluciones acuosas acidificadas, aunque la mayoría de  $\text{Fe}^{+3}$  y  $\text{Fe}^{+2}$  se presentan como un complejo coordinado a seis moléculas de agua ( $[\text{Fe}^{+3}(\text{H}_2\text{O})_6]^{+3}$  y  $[\text{Fe}^{+2}(\text{H}_2\text{O})_6]^{+2}$ ). El ion  $[\text{Fe}^{+2}(\text{H}_2\text{O})_6]^{+2}$  sólo reacciona con el oxígeno a muy bajas velocidades, ya que la reacción no es favorable termodinámicamente (Danilewicz, 2003). Sin embargo, las moléculas de agua pueden ser reemplazadas fácilmente por otros ligando más fuertes, como fenoles que contengan grupos catecol, galoilo o 3-hidroxilo-4-carbonilo (tales como ácido clorogénico, ácido cafeico, galato y ácido protocatéquico), que se pueden unir al hierro. El número y localización de los grupos hidroxilo también afecta a la complejación (Moran *et al.*, 1997; Khokhar and Apenten, 2003; Andjelkovic *et al.*, 2006).

Oszmianski *et al.* (1996), estudiaron la oxidación de la (+)-catequina en disoluciones hidroalcohólicas al pH del vino en presencia de ion ferroso. Las disoluciones eran inicialmente incoloras y se pudo observar que, a medida que transcurría el tiempo de incubación, se iban acumulando gradualmente en el medio compuestos amarillentos, que provocaron un pardeamiento de las disoluciones. Una separación posterior por HPLC, demostró que muchos de los productos formados se eluían después de la (+)-catequina, debido a que tenían un tamaño mayor y/o a que eran menos polares (López-Toledano *et al.*, 2002). Estos nuevos compuestos formados eran diferentes de los formados por vía enzimática y de los que se formaban tras la autooxidación en ausencia de hierro. Asimismo, se pudo comprobar que algunos de los nuevos compuestos que se formaban, como consecuencia de la oxidación de la (+)-catequina, eran incoloros y además mantenían la estructura, ya que su espectro UV-Visible presentaba los máximos de absorción cercanos a 280 nm. Ello implicaría, que en estos nuevos compuestos formados, existen uniones C-C y C-O, los cuales deben ser intermediarios en la vía de síntesis hacia los compuestos pardos, algo que fue demostrado en disoluciones de (+)-catequina oxidadas enzimáticamente (Guyot, 1994).

Además del pardeamiento debido a las reacciones de oxidación de fenoles, puede transcurrir mediante la formación de dímeros o trímeros entre flavanoles, en cuya condensación interviene el acetaldehído, dando lugar también a un aumento de las tonalidades amarillas, que incrementa el grado de condensación (López-Toledano *et al.*, 2004). Los primeros indicios de que el acetaldehído podía contribuir a la formación de estos oligómeros fueron propuestos por Timberlake and Bridle (1976) y confirmados posteriormente por otros autores (Fulcrand *et al.*, 1996; Saucier *et al.*, 1997; Es-Safi *et al.*, 1999a). El acetaldehído presente en los vinos puede provenir del metabolismo de las levaduras durante la fermentación alcohólica (Li and Mira de Orduña, 2011) o durante la crianza biológica de determinados vinos (Moreno *et al.*, 2005), así como de la oxidación del etanol catalizada por metales de transición o a través de la oxidación acoplada de fenoles (Wildenradt and Singleton, 1974). Recientemente se ha demostrado que el acetaldehído podría obtenerse también tras la descarboxilación de ácido pirúvico en uvas sometidas a un proceso de deshidratación, mediante un proceso enzimático (Márquez *et al.*, 2012b).

La reacción entre el acetaldehído y los fenoles parece que comienza con la protonación del acetaldehído para formar un carbocatión en condiciones ácidas, seguida por la adición nucleofílica del flavanol (a través de las posiciones  $\text{C}_6$  o  $\text{C}_8$  de anillo A) sobre el carbocatión (figura 1.51). Tras perder una molécula de agua, el

aducto formado da lugar a un nuevo intermedio carbocatión que es atacado por otra unidad de flavanol, para dar lugar a un aducto de flavanol a través de un puente metilmetileno (Oliveira *et al.*, 2011). La reacción comienza de nuevo con los dímeros recién formados, llegando finalmente a una polimerización. Los puentes metilmetileno generados en estos polímeros de flavanoles no son estables y dan lugar a oligómeros de vinilflavanol (Francia-Aricha *et al.*, 1997; Fulcrand *et al.*, 1997; Francia-Aricha *et al.*, 1998; Es-Safi *et al.*, 1999c; Fulcrand *et al.*, 2006). Estos vinilflavanoles pueden reaccionar con malvidín-3-*O*-glucósido y carboxipirano-malvidín-3-*O*-glucósido (Vitisina A) para producir piranoantociano-flavanoles de color naranja (Cruz *et al.*, 2008b) y vinilpiranoantocianos (portisinas) de color azul (Mateus *et al.*, 2003b).

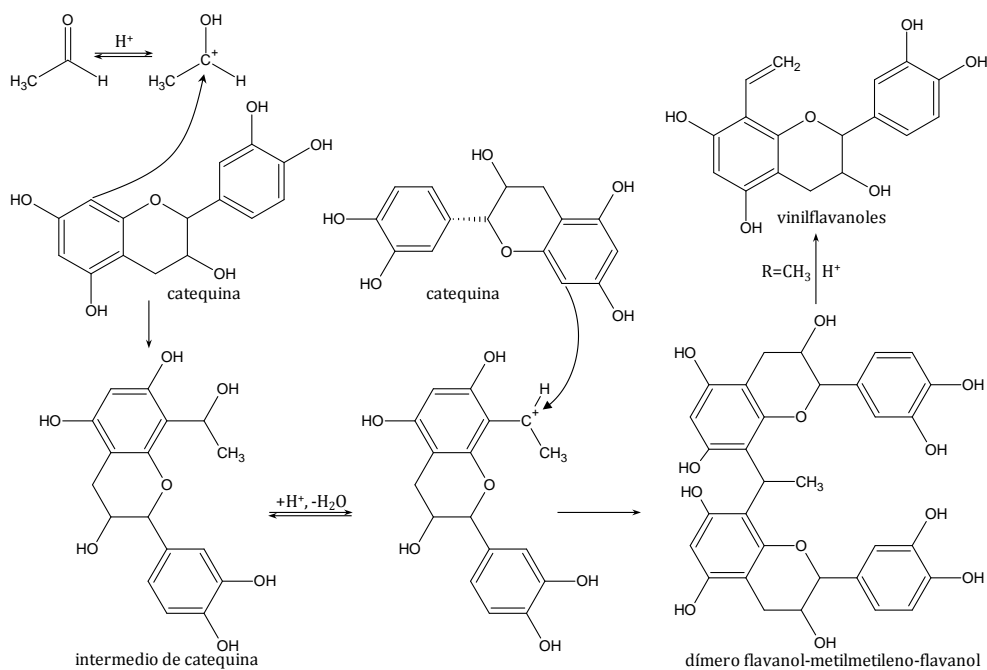


Figura 1.51. Mecanismo de polimerización de flavanoles a través de acetaldehído.

Es-Safi *et al.* (1999a) estudiaron la competición de la (+)-catequina y (-)-epicatequina para polimerizarse en presencia de acetaldehído, demostrando que la velocidad de reacción de la (-)-epicatequina fue mayor que para la (+)-catequina a todos los valores de pH, con más diferencia a condiciones más ácidas, cuando las reacciones se llevan a cabo por separado. Cuando se ponen ambos flavanoles en la misma disolución, la (-)-epicatequina seguía reaccionando más rápidamente que la (+)-catequina, pero además de los dímeros anteriores, encontraron otros formados por una unidad de catequina y otra de epicatequina unidas por un puente metilmetileno, además de otros compuestos sin identificar que posiblemente serían trímeros, tetrámeros...

En disoluciones modelo de vino, Oszminski *et al.* (1996) encontraron que además de los productos resultantes de la oxidación de la (+)-catequina inducida por

hierro, aparecían otros productos, incoloros y amarillos, con un máximo de absorbancia en la región de 440-460 nm. Fulcrand *et al.* (1997) analizaron las características estructurales de ambos tipos de compuestos, y propusieron una segunda vía de pardeamiento cuando el hierro estaba presente. Esta reacción no es una oxidación de la catequina, sino del ácido tartárico para dar lugar a ácido glioxílico, que podría reaccionar con dos unidades de flavanol unidas mediante un puente carboximetileno, para dar lugar a un dímero incoloro, denominado xanteno, mediante un mecanismo similar al de la condensación de flavanoles a través de acetaldehído. Tras una deshidratación y un proceso de oxidación, este dímero incoloro podría formar pigmentos amarillos, sales de xantilio, según el mecanismo propuesto en la figura 1.52. Más tarde, otros estudios confirmaron esta nueva vía de pardeamiento (Es-Safi *et al.*, 1999a; Es-Safi *et al.*, 2000c).

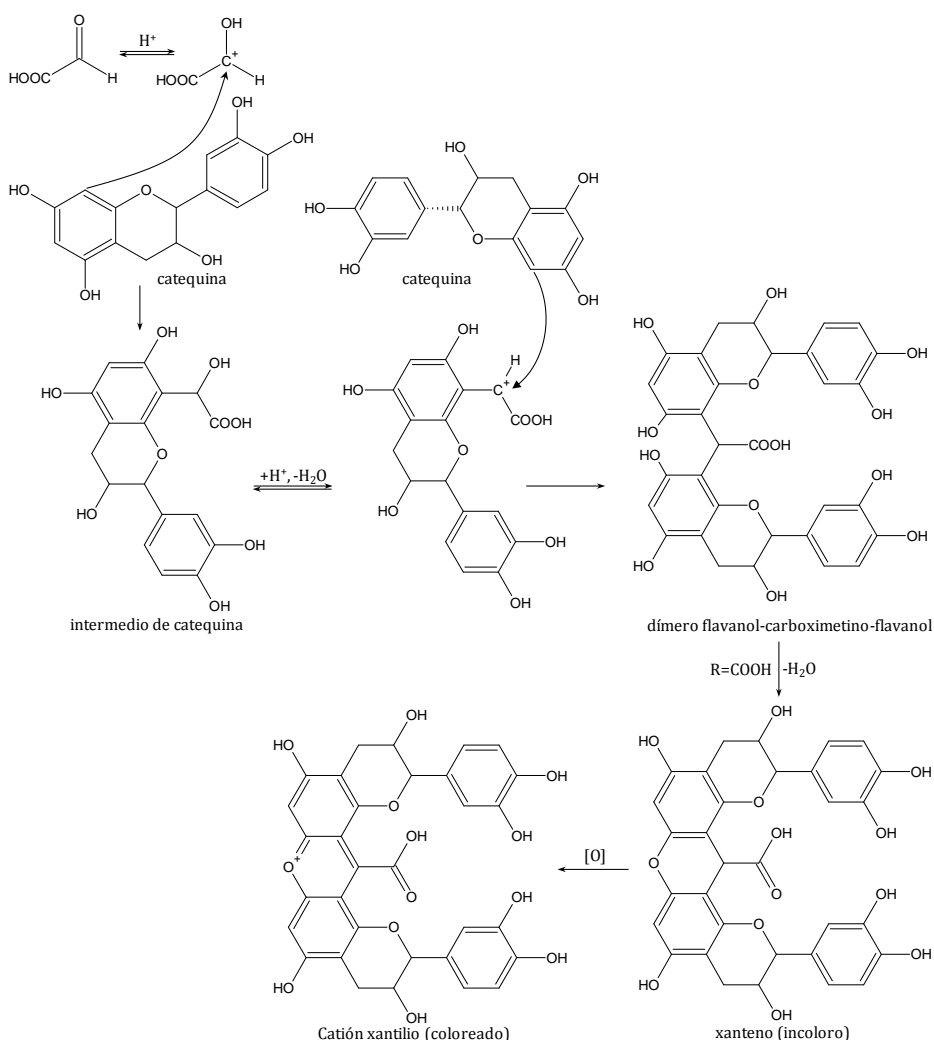


Figura 1.52. Mecanismo de polimerización de flavanoles a través de ácido glioxílico.



Cuando existe cobre en el medio, se ha observado en disoluciones modelo que ocurre el mismo fenómeno (Clark *et al.*, 2003; Es-Safi *et al.*, 2003a). En este sentido, Clark *et al.* (2003) observaron que el cobre aumentaban los dímeros de catequina unidos por puentes carboximetileno, así como de cationes xantilio, pero cuando el ácido glioxílico era sustituido por acetaldehído en esta reacción, no se vio ningún aumento debido al cobre, posiblemente como consecuencia de los grupos ácidos del ácido glioxílico. Un estudio posterior en disoluciones modelo de vino, sugiere que la (-)-epicatequina es ligeramente más reactiva con el ácido glioxílico que la (+)-catequina, además de que los cationes xantilio generados a partir de (-)-epicatequina absorben dos veces más radiación a 440 nm que los derivados de (+)-catequina (Labrousche *et al.*, 2005).

Además, se ha podido observar que cuando se incuban en disolución acuosa, los dímeros incoloros de flavanoles unidos por puente carboximetileno, se obtienen otros dos nuevos compuestos amarillos con un espectro UV-Visible similar al xantilio (Es-Safi *et al.*, 2000a), que se muestran en la figura 1.53. El análisis mediante LC-MS ha confirmado que los nuevos compuestos formados son isómeros del xantilio, que se forman igualmente por un proceso de deshidratación del dímero incoloro, que puede tener lugar en dos posiciones diferentes: o bien entre el grupo hidroxilo del C<sub>7</sub> del anillo A de la molécula de (+)-catequina que se ha dimerizado por el C<sub>8</sub>, o a través del grupo hidroxilo del C<sub>5</sub> o C<sub>7</sub> del anillo A de la otra molécula de (+)-catequina que se ha unido por el C<sub>6</sub> al puente carboximetileno.

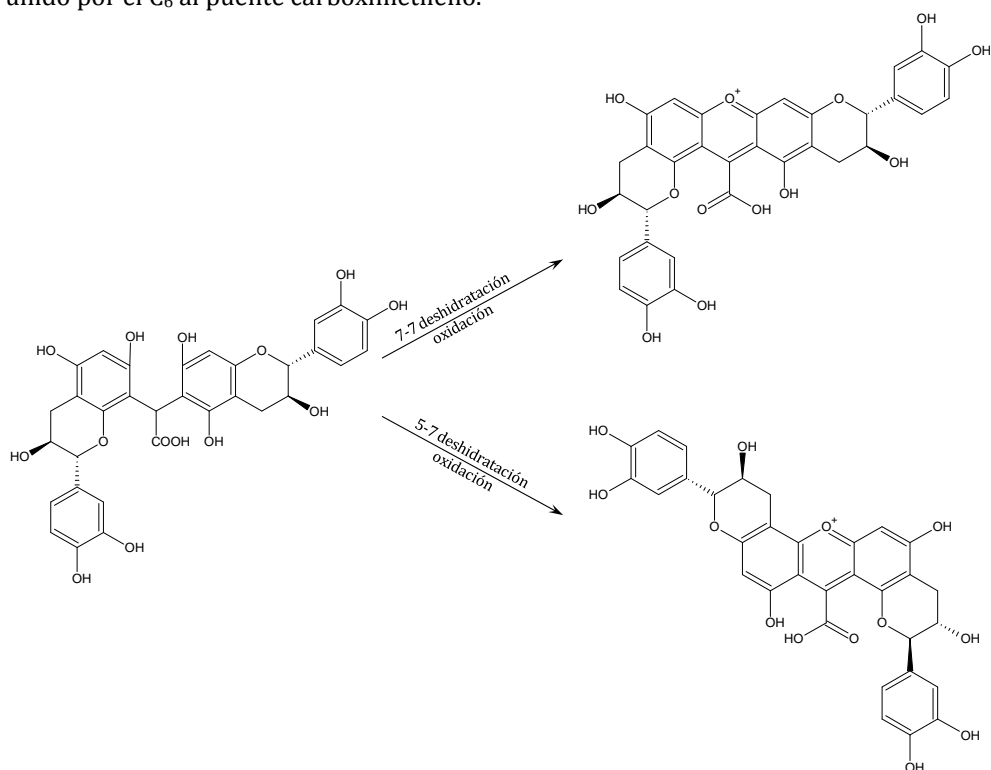


Figura 1.53. Mecanismo de formación de pigmentos amarillos a partir de dímeros incoloros.

Asimismo, se obtuvieron tres nuevos compuestos amarillos al incubar el dímero incoloro obtenido tras la unión de dos unidades de (+)-catequina a través un puente carboximetileno por el C<sub>6</sub> de ambas (figura 1.54). El mecanismo de formación de estos compuestos debe ser similar al postulado para los anteriores, con una deshidratación seguida de una oxidación, siendo posibles tres opciones de deshidratación, 5-5, 7-7 y 5-7.

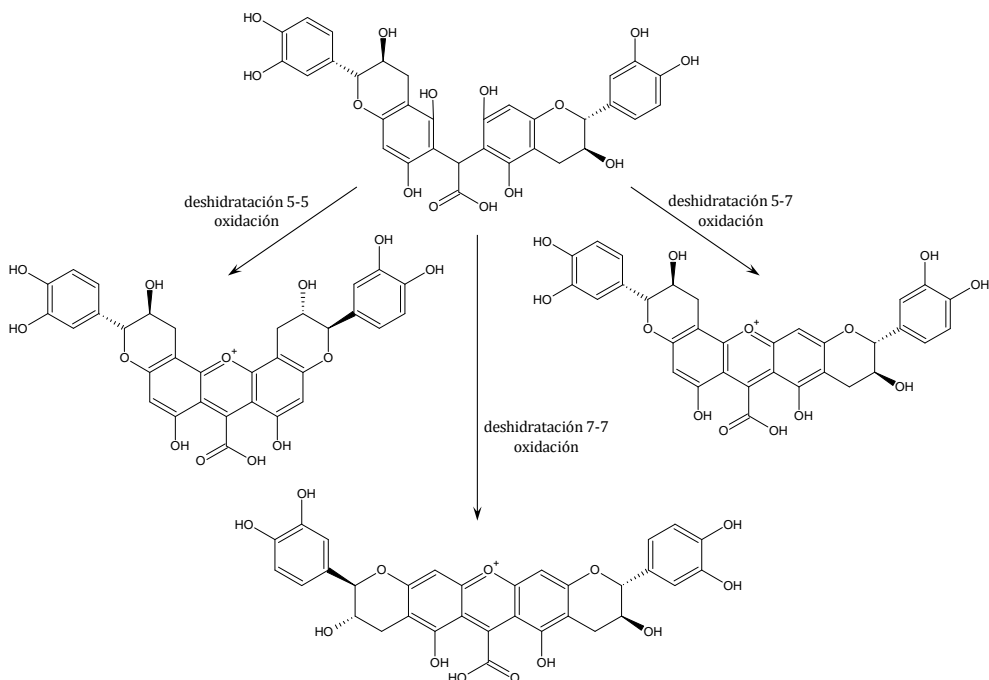


Figura 1.54. Mecanismo de formación de pigmentos amarillos a partir de un dímero incoloro.

Estos compuestos amarillentos pueden seguir polimerizándose para dar lugar a estructuras trímeras (figura 1.55) que presentan un máximo de absorción alrededor de 560 nm, lo cual sería debido a su esqueleto quinonoidal (Es-Safi *et al.*, 2000b).

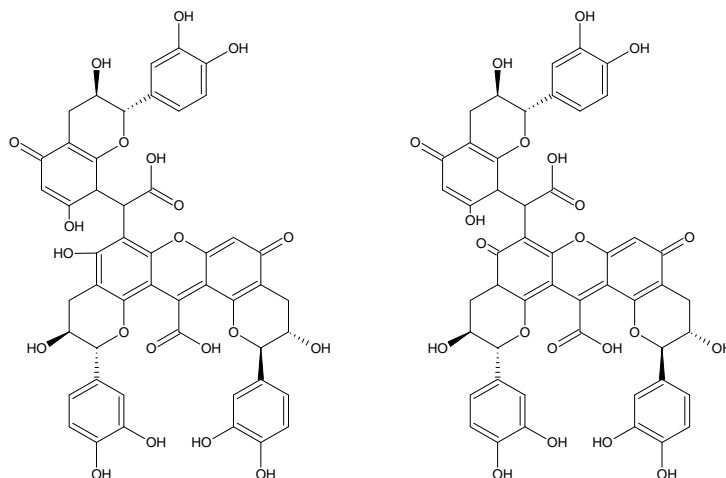


Figura 1.55. Trómeros obtenidos por polimerización de pigmentos amarillos.

Además de las reacciones descritas con el ácido glioxílico y acetaldehído, los flavanoles pueden también reaccionar con el furfural y el 5-hidroximetilfurfural (HMF) para formar pigmentos xantilio o incluso precipitados negros (Es-Safi *et al.*, 2000a). De esta manera, cuando se incubó (+)-catequina con furfural, la disolución sufrió un progresivo oscurecimiento, hasta volverse completamente negra y los compuestos que se obtenían eran muy parecidos a los observados en los estudios de (+)-catequina con ácido glioxílico, pero con puente furfural. La estructura de estos compuestos y los obtenidos en la incubación con HMF se muestra en la figura 1.56.

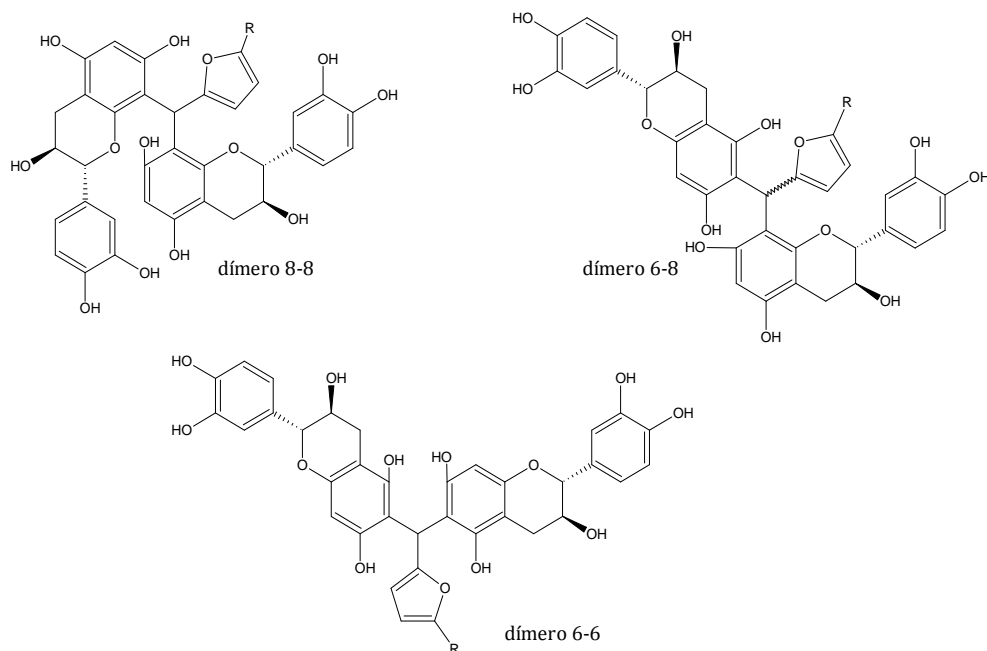


Figura 1.56. Estructuras de los dímeros (+)-catequina-furfural y (+)-catequina-hidroximetilfurfural (R=H, furfural y R=CH<sub>2</sub>OH, HMF).

Sin embargo, en los vinos tintos, todos los aldehídos involucrados en estas reacciones (acetaldehído, ácido glioxílico, furfural e hidroximetilfurfural), interaccionan preferentemente con los antocianos para dar lugar a compuestos coloreados estables, los cuales se han estudiado tanto en soluciones modelo como en vinos (Es-Safi *et al.*, 2003b), mediante el mecanismo propuesto en la figura 1.57.

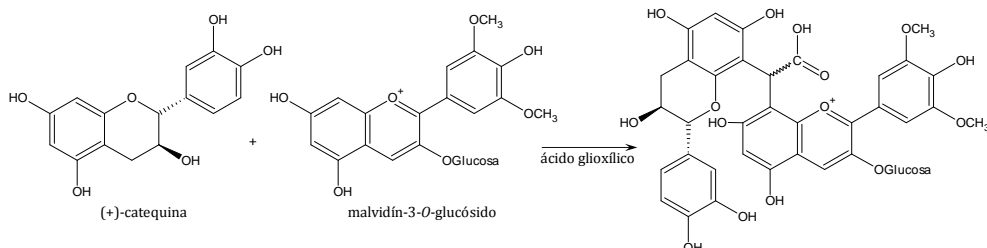


Figura 1.57. Reacción de formación de un aducto de color violeta entre (+)-catequina y malvidín-3-O-glucósido, mediado por ácido glioxílico.

En este sentido, se ha visto que las reacciones inducidas por acetaldehído en las que participan los flavanoles, parecen contribuir en gran medida a la estabilidad del color durante el almacenamiento y envejecimiento del vino. Sin embargo, las reacciones originadas por el ácido glioxílico, el furfural y el HMF, originan compuestos incoloros y de color amarillento, que son más importantes en el oscurecimiento y en la disminución de la astringencia, que en la estabilización del color (Es-Safi *et al.*, 2002).

### 3. Reacción de Maillard

La reacción de Maillard ha sido descrita normalmente como una reacción de pardeamiento no enzimático (Hodge, 1953), que conlleva la condensación del grupo carbonilo libre de los azúcares reductores con un grupo amino de aminoácidos, péptidos o proteínas. Esta reacción ocurre en los alimentos durante su procesado, tostado, secado o cocinado (Delgado-Andrade *et al.*, 2010), y en ocasiones durante su almacenamiento, y es sensible a factores físicos y químicos como pH,  $a_w$  y temperatura, al igual que ocurría con el pardeamiento enzimático, siendo similares las condiciones óptimas de ambos procesos (Frank *et al.*, 2004). La mayor diferencia entre estas dos vías de reacción es el papel que juega el oxígeno, en el sentido de que mientras las PPO necesitan oxígeno molecular para realizar su actividad, la reacción de Maillard puede suceder en anaerobiosis, pero incluso pueden producirse complejas interacciones entre los intermedios de la reacción de Maillard con compuestos polifenólicos produciendo un intenso pardeamiento en ausencia de polifenoloxidasas (Es-Safi *et al.*, 2000a).

El desarrollo de la reacción de Maillard ocurre preferentemente a temperaturas superiores a 50 °C y pHs entre 4 y 7 (Oliveira *et al.*, 2011), dando lugar a la formación de una compleja mezcla de compuestos de diferentes pesos moleculares (MRPs, productos de la reacción de Maillard), entre los que se incluyen aldehídos, cetonas, dicarbonilos, acrilamidas y aminas heterocíclicas, que contribuyen al flavor, pero también compuestos finales de la glicosilación no enzimática (advanced glycation

endproducts, AGEs), que son productos poliméricos formados en las etapas avanzadas de la reacción de Maillard (Wang *et al.*, 2011), y melanoidinas, de color pardo (figura 1.58).

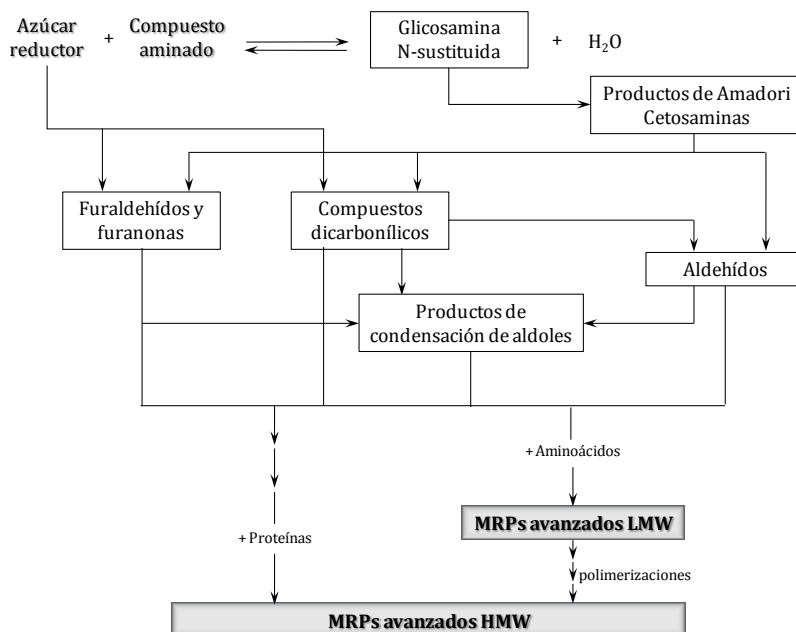


Figura 1.58. Formación de MRPs avanzados a partir de la reacción de Maillard.

Aunque la reacción de Maillard ha sido descrita en numerosos alimentos, son pocos los trabajos sobre el desarrollo de esta reacción en el pardeamiento de vinos (Di Mattia *et al.*, 2007; Serratos *et al.*, 2008a). Sin embargo, teniendo en cuenta que el vino contiene los sustratos necesarios para que se desarrolle la reacción de Maillard, como aminoácidos, proteínas y azúcares reductores, es posible que dicha reacción se desarrolle durante la vinificación, especialmente cuando conlleve etapas como la termovinificación o el embotellado a alta temperatura (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1998). Algunos estudios indican, que un gran número de compuestos volátiles responsables del aroma típico o aromas de envejecimiento de algunos vinos dulces, parecen estar relacionadas con productos de las reacciones de Maillard entre azúcares y aminoácidos (Cutzach *et al.*, 1998; Cutzach *et al.*, 1999; Marchand *et al.*, 2002).

La reacción de Maillard se produce en tres fases:

*Primera etapa de la reacción de Maillard*

En los primeros estadios se produce una condensación entre el grupo amino y el grupo carbonilo del azúcar reductor, para formar una glicosamina o base de Schiff, que aunque en un entorno ácido se disocia muy rápidamente, en este caso sufre una reordenación de Amadori debido a una catálisis de protones (figura 1.59). En esta reacción, ocurre el desplazamiento de un átomo de hidrógeno a la posición 1, para dar los compuestos de Amadori (ARPs), que son 1-amino-1-desoxicetosas *N*-sustituídas.

En el caso de que el azúcar de partida sea una cetosa y no una aldosa, los compuestos resultantes se denominan de Heyns (HRPs).

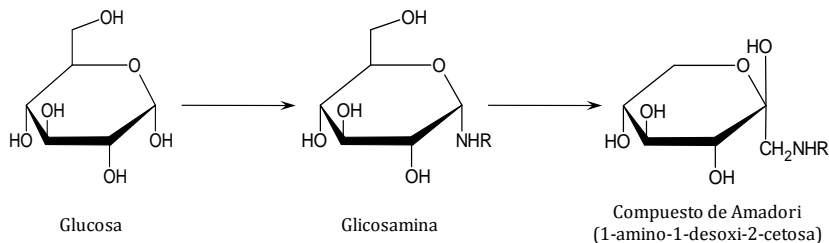


Figura 1.59. Reordenamiento de Amadori.

*Reacciones de Maillard avanzadas: formación de dicarbonilos.*

Los productos de Amadori, aunque son bastante estables en alimentos con baja actividad de agua, pueden sufrir varias reacciones de degradación durante el calentamiento severo o el almacenamiento prolongado, que lleva a la formación de 1,2-dicarbonilos (figura 1.60), de los cuales la 3-desoxiglucosona (Anet, 1960), 1-desoxiglucosona (Glomb and Pfahler, 2000), metilglioxal y glioxal (Thornalley, 1996) serían las estructuras más importantes. Entre los mecanismos de reacción posibles se incluye la enolización, la eliminación del agua, así como reacciones de retroaldolización (Weenan, 1998). Aunque los dicarbonilos se forman en cantidades relativamente bajas, en comparación con el carbohidrato de partida, son precursores importantes en la formación de compuestos heterocíclicos de bajo peso molecular, responsables de las alteraciones del color y del sabor en los alimentos. Por otro lado, estos dicarbonilos son altamente reactivos en reacciones con proteínas, y conducen a la formación de derivados de aminoácidos en las etapas finales de la reacción de Maillard.

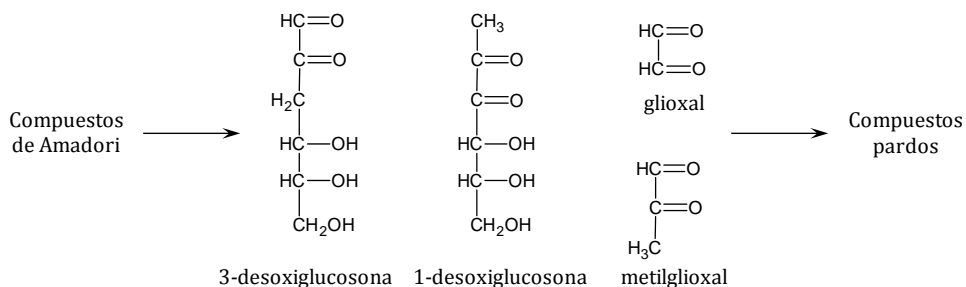


Figura 1.60. Degradación de los productos de Amadori a compuestos 1,2-dicarbonílicos.

Es especialmente notable la producción de 5-hidroximetilfurfural (5-HMF), cuya estructura se muestra en figura 1.61, a través de la 1,2-enolización del derivado Amadori de la glucosa (Ledl and Schleicher, 1990).

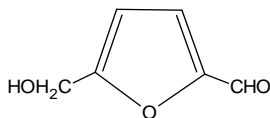


Figura 1.61. Estructura química del 5-hidroximetilfurfural.

Si, por el contrario, primero ocurre una 2,3-enolización, se favorece la disociación del resto amino en posición alílica para formar una 1-desoxihexosona, cuya descomposición daría lugar a dicetonas, furanonas o furanos (figura 1.62).

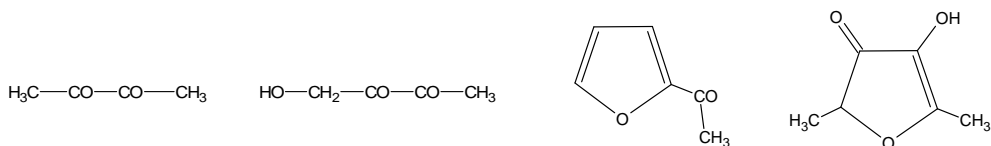


Figura 1.62. Productos resultantes tras una 2,3-enolización de un compuesto de Amadori.

La degradación de Strecker se ha descrito como un resultado de la reacción de Maillard en la que se lleva a cabo la interacción de los compuestos dicarbonilos formados con aminoácidos libres. El aminoácido se descarboxila y desamina, formando un aldehído con un átomo de carbono menos que el aminoácido de partida, conocido como “aldehído de Strecker” (Marchand *et al.*, 2000; Pripis-Nicolau *et al.*, 2000; Keim *et al.*, 2002).

Los  $\alpha$ -dicarbonilos con  $n=0$ , como el glioxal, piruvaldehído, butano-2,3-diona, y otros, son los que se han utilizado normalmente como reactivos en la degradación Strecker pero, en principio, se puede utilizar cualquier compuesto dicarbonílico con conjugación extendida ( $n>0$ ) (Rizzi, 2006). Además se podrían incluir las *o*-quinonas formadas durante el proceso de oxidación. De hecho, mediante el uso de iones de ferricianuro como oxidante en tampón fosfato de pH 7.17 a 20 °C, el ácido cafeico, ácido clorogénico, (+)-catequina y (-)-epicatequina reaccionarán con metionina y fenilalanina para producir los aldehídos de Strecker metional y fenilacetaldehído (Rizzi, 2006).

#### *Reacciones finales de Maillard: formación de compuestos finales.*

Durante las etapas intermedias de la reacción de Maillard, se generan  $\alpha$ -dicarbonilos, aldehídos, furaldehídos y furanonas, que rápidamente reaccionan con otras en una condensación aldólica. Además, la degradación de aldosas permite la formación de furaldehídos y furanonas, como el furano-2-carboxialdehído y furano-2-aldehído. La fase final implica la reacción de esas moléculas formadas con otros compuestos reactivos, como pueden ser aminas, aminoácidos, aldehídos, sulfuro de hidrogeno y amoníaco. Ocurren así ciclaciones, deshidrataciones, retro-aldolizaciones, reordenamientos, isomerizaciones y condensaciones adicionales. Finalmente, los productos intermedios formados reaccionan con aminoácidos para formar MRPs de bajo peso molecular (LMW), los cuales permiten la producción de MRPs de alto peso

molecular (HMW) mediante polimerización. Los dos principales componentes de los MRPs avanzados son las melanoidinas, responsables del pardeamiento, y los AGEs, que presentan fluorescencia. Se ha demostrado que la fluorescencia se puede observar durante la reacción de Maillard antes de que se produzca el pardeamiento, aunque los AGEs y las melanoidinas se generan en etapas similares (Chuyen, 2006).

Los AGEs pueden producirse también a partir de la modificación de los productos intermedios con proteínas (Wang *et al.*, 2011). Así, durante el calentamiento o el almacenamiento prolongado, las cadenas laterales de lisina y arginina de las proteínas puede reaccionar con los 1,2-dicarbonilos para formar derivados de aminoácidos estables como productos finales de la reacción de Maillard. Para productos de reacción resultantes de las reacciones de Maillard *in vivo*, los productos finales de glicosilación avanzada (AGEs) se pueden encontrar en la bibliografía desde mediados de los años 1980 (Brownlee *et al.*, 1984).

Aunque se han publicado numerosos estudios tratando de elucidar el aislamiento y la estructura de un gran número de posibles derivados de lisina y arginina formados durante la elaboración de alimentos o en condiciones fisiológicas, el número de compuestos que han sido identificados sin ambigüedad, cuyas estructuras se muestran en la figura 1.63, es bastante bajo (Henle, 2005). El primer derivado de aminoácidos de las reacciones de Maillard avanzadas que se detectó en alimentos fue N- $\epsilon$ -carboximetil-lisina (Drusch *et al.*, 1999), que se forma predominantemente a partir de la escisión oxidativa de productos Amadori, aunque otros mecanismos son también posibles (Ahmed *et al.*, 1986; Fu *et al.*, 1996). El compuesto formado a partir de la reacción del grupo  $\epsilon$ -amino de la lisina y la 3-desoxiglucosona, denominado pirralina, fue aislado en sistemas modelo (Nakayama *et al.*, 1980) y después cuantificado en varios alimentos, como leche o productos de panadería y pasta, mediante un análisis de aminoácidos o RP-HPLC tras una hidrólisis enzimática (Henle *et al.*, 1994; Rufián-Henares *et al.*, 2004). Otro derivado de la lisina, prnilisina, resultante de la reacción de las cadenas laterales de la lisina y un producto de deshidratación de la 1-desoxi-2,3-hexodiulosa, se ha detectado y cuantificado en pan (Lindenmeier *et al.*, 2002; Lindenmeier and Hofmann, 2004). Asimismo, dímeros de lisina resultantes de la reacción entre dos cadenas laterales de lisina y dos moléculas de glioxal, metilglioxal o 3-desoxiglucosona, llamados GOLD, MOLD o DOLD, respectivamente, fueron encontrados en hidrolizados enzimáticos de productos de panadería.



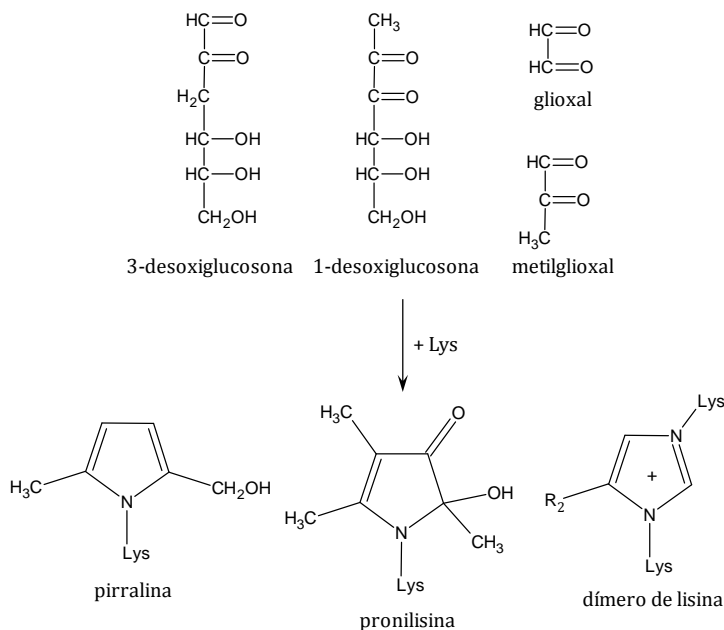


Figura 1.63. Derivados de lisina formados durante las reacciones de Maillard avanzadas.

Además de la lisina, la cadena lateral de la arginina también puede reaccionar con los 1,2-dicarbonilos. Así, en productos de panadería y café tratados con álcali, Henle *et al.* (1994) cuantificaron el compuesto imidazolinona (figura 1.64) resultante de la reacción entre el enlace peptídico de arginina y metilgloxal, que puede reaccionar con una cadena de lisina para dar lugar al compuesto conocido como MODIC. Además de las imidazolinonas, que representan los compuestos mayoritarios derivados de arginina en alimentos, en cerveza se detectó argipirimidina, producto de reacción formado a partir de dos moléculas de metilgloxal y arginina (Glomb *et al.*, 2001).

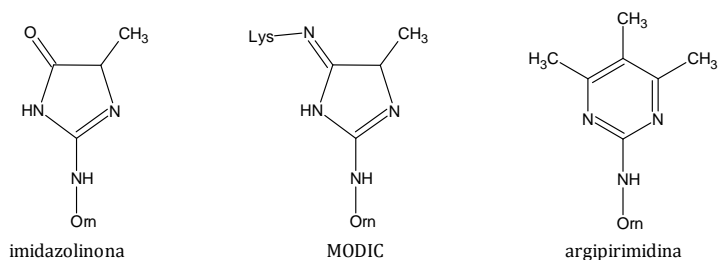


Figura 1.64. Derivados de arginina formados durante las reacciones de Maillard avanzadas.

En alimentos se han detectado otros derivados de aminoácidos resultantes de las reacciones de Maillard, como la monolisilamida del ácido glicoxálico (Henle, 2005) o la aminoreductona (Pischetsrieder *et al.*, 1998), cuyas estructuras se muestran en la figura 1.65. En este sentido, Mavric *et al.* (2004) vieron que la propil-imidazolinona-

ornitina (PIO) era el producto de la reacción de arginina con C<sub>5</sub>-dicarbonilos, los cuales serían los productos de degradación exclusivos resultantes de disacáridos con enlaces glicosídicos 1,4. Finalmente, según Krause *et al.* (2004), el grupo α-amino terminal de los péptidos se modificaba por compuestos 1,2-dicarbonílicos hasta pirazinonas, una nueva clase de AGEs fluorescentes.

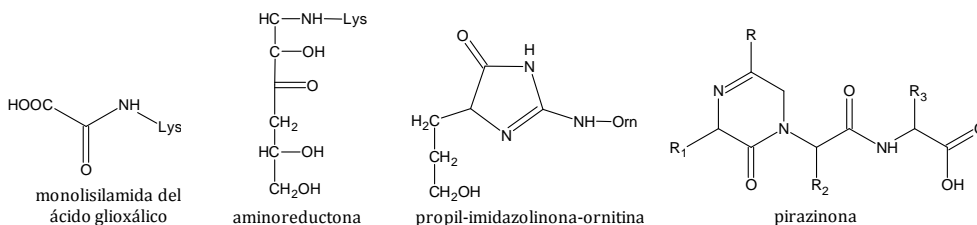


Figura 1.65. Derivados de aminoácidos formados durante las reacciones de Maillard avanzadas.

Los últimos productos formados durante la reacción de Maillard se denominan melanoidinas y son pigmentos marrones heterogéneos que contienen nitrógeno y que presentan un máximo de absorción a 420 nm y por este hecho son muy interesantes en la industria alimentaria, ya que son responsables del color de alimentos como el café, el cacao, el pan, la malta o la miel. La formación de melanoidinas es fuertemente dependiente del tipo de alimento, además de las condiciones tecnológicas (Martins and Van Boekel, 2003), como temperatura y tiempo (Borelli *et al.*, 2002; Ramonaityte *et al.*, 2009), pH (Kim and Lee, 2008b; Eun *et al.*, 2005), así como de la composición en aminoácidos y en azúcares reductores (Kim and Lee, 2008a).

Se han descrito tres teorías sobre la formación de melanoidinas, la primera de las cuales mantiene que las estructuras de las melanoidinas se forman por polimerización de intermedios de la reacción de Maillard de bajo peso molecular, como furanos, pirroles, pirrolopirroles y/o sus derivados (Hayase *et al.*, 2006), de modo que el peso molecular de las melanoidinas finales depende del tiempo de calentamiento.

Hoffmann (1998a, 1998c) postuló que las melanoidinas derivaban de un entrecruzamiento de MRPs cromóforos de bajo peso molecular y cadenas de aminoácidos reactivos, como lisina, arginina o cisteína. A este respecto, se han descrito varios compuestos melanoidina-aminoácido, como un compuesto cromóforo rojo-marrón con la subestructura de un dímero furil-imidazolidina unido a dos argininas (figura 1.66), detectado en una disolución de N-acetil-arginina con glioxal y furfural (90 °C durante 80 min y pH 7) (Hofmann, 1998a). En una disolución acuosa calentada de caseína y furfural (70 °C durante 60 min, pH 7), se detectaron melanoproteínas de color marrón-anaranjado, formadas por la unión de cromóforos trifuril-pirrolinona con el grupo ε-amino de un residuo de lisina (Hofmann, 1998b).

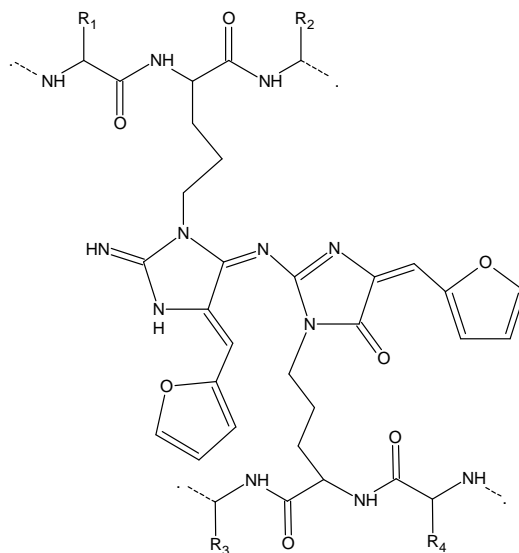


Figura 1.66. Estructura química del dímero furil-imidazolidina-proteína.

La tercera teoría sobre la formación de melanoidinas propone que su esqueleto se forma principalmente a partir de productos de degradación de azúcares ramificados con compuestos amino, como aminoácidos. En sistemas acuosos se ha demostrado que las melanoidinas se forman por condensación aldólica de compuestos  $\alpha$ -dicarbonilo altamente reactivos y parcialmente ramificados por compuestos amino (Wang *et al.*, 2011), mientras que en condiciones de reacción ausentes de agua, se ha visto que las reacciones de transglucosilación que forman el esqueleto carbohidrato de las melanoidinas ocurren durante las primeras etapas de la reacción de Maillard (Cammerer *et al.*, 2002).

## PROCESO DE SECADO DE LAS UVAS

El secado de las uvas es un proceso complejo que induce numerosos cambios en las características físico-químicas de las bayas. Se han llevado a cabo numerosos estudios acerca de estos cambios durante la producción de uvas pasificadas (Angulo *et al.*, 2007), estudiando el método y las condiciones de secado, las características específicas de la uva o incluso la utilización de pretratamientos químicos (Gabas *et al.*, 1999).

Para el sector enológico, el proceso de secado es muy importante, ya que muchos tipos de vinos secos y dulces se producen utilizando parcial o totalmente uvas sobremaduras y/o deshidratadas. El secado al sol sigue siendo el método más común utilizado para la deshidratación de las uvas en las regiones mediterráneas, aunque en otras regiones se están utilizando también sistemas de secado alternativos, como ocurre durante la producción de vinos como el “Amarone”, el “Recioto” o el “Passito”. En estos casos se lleva a cabo la pasificación de las uvas en locales, con o sin tecnología artificial para controlar la temperatura, la humedad relativa o el flujo de aire (Bellicontro *et al.*, 2004; Barbanti *et al.*, 2008; Bellicontro *et al.*, 2009). Se han llevado a cabo muchos estudios sobre las modificaciones que ocurren en el color y la composición aromática y fenólica de las uvas debido a estos sistemas de secado (Constantini *et al.*, 2006; Chkaiban *et al.*, 2007; Frangipane *et al.*, 2007a).

### 1. Secado tradicional al sol

El secado de frutas al sol se practica en gran medida sin cambios desde tiempos antiguos en muchos países tropicales y subtropicales. Históricamente, la producción de pasas por secado de las uvas al sol se remonta a 1490 a.C. en Grecia (Jairah *et al.*, 2009) y hasta la actualidad es utilizado con éxito en países productores de uva (Pangavhane and Sawhney, 2002). La pasificación al sol se ha utilizado tradicionalmente debido a que no es necesario realizar una inversión inicial como ocurriría con otros métodos de deshidratación, si bien hay que tener en cuenta que el costo de extensión y volteo de las uvas es considerable.

#### 1.1. Secado de las uvas al sol sin recubrimiento

El secado directo de las uvas al sol, parte de que la radiación solar puede penetrar en las bayas y ser absorbida dentro del propio producto, generando un aumento de temperatura tanto en el interior como en su superficie, y mejorando con ello la transferencia de calor. El grado de absorción de la radiación solar por parte del producto es un factor importante a tener en cuenta (Ekechukwu, 1999).

En la Denominación de Origen Montilla-Moriles, la pasificación de las uvas Pedro Ximénez para la elaboración del vino dulce del mismo nombre se realiza por exposición directa de las uvas al sol o “asoleo”. Tradicionalmente, los racimos se extendían al sol en capachos, aunque actualmente se utilizan largas tiras de malla de plástico alimentario, realizándose la pasificación en lugares especialmente destinados para ello por su orientación y ligera pendiente (Ruiz, 2011). Las uvas se voltean diariamente durante el proceso de secado, con el fin de obtener una concentración de

los componentes uniforme en toda la baya. Es importante que la deshidratación se lleve a cabo de manera moderada, con el fin de evitar una evaporación excesiva de la humedad de la pulpa, que dificultaría posteriormente el prensado de los granos. Dependiendo de las condiciones climáticas del año en particular, el proceso de pasificación puede tardar 7-10 días, con temperaturas diurnas que pueden superar los 40 °C y valores nocturnos que con frecuencia caen por debajo de 18 °C (Serratosa *et al.*, 2008a).



Las uvas secadas con este método presentan un alto riesgo de deterioro como consecuencia del ataque de insectos, posibles lluvias y rocíos nocturnos, lo que unido a los largos tiempos de secado da lugar en ocasiones a la producción por determinados hongos productores de toxinas, como puede ser la ocratoxina A, que deterioran la uva. El producto final son uvas pasas de las que se obtienen unos mostos muy oscuros debido al fuerte pardeamiento que tiene lugar durante el secado al sol, y un contenido alto de azúcar (por encima de 400 g/L) debido a la pérdida de peso de un 50% aproximadamente como consecuencia de la evaporación de agua (Ruiz *et al.*, 2010).

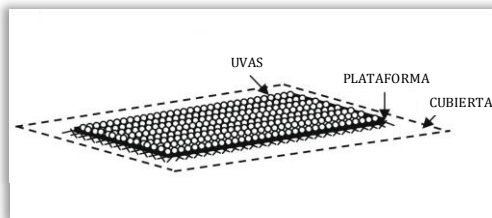
El sistema de secado de las uvas por exposición directa al sol es también utilizado en países como Australia o India, siendo éste último muy conocido por la producción de uvas pasas para consumo directo. El tiempo de secado necesario para estas uvas es de unos 20 días (Jairaj *et al.*, 2009), que en el caso de que hayan sido previamente tratadas disminuiría hasta 8-10 días (Pangavhane and Sawhney, 2002).

Otros métodos utilizan la exposición directa al sol manteniendo los racimos alejados del suelo mediante el uso de bandejas o cables en las que éstos se cuelgan (Yaldiz *et al.*, 2001), intentando de esta forma reducir la contaminación de las uvas durante su secado.



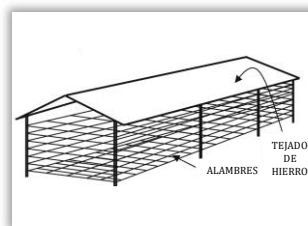
## 1.2. Secado de las uvas al sol con recubrimiento

El secado de las uvas al sol puede también realizarse cubriendo los racimos con plásticos transparentes que las protegen en cierta medida de las contaminaciones y reducen el daño causado por las condiciones meteorológicas. Los racimos se voltean manualmente a intervalos de tiempo uniforme, consiguiendo con este método pasas de mejor calidad, a la vez que el tiempo de secado se suele reducir en un día (Pangavhane and Sawhney, 2002).



## 2. Secado a la sombra

El secado de las uvas a la sombra se realiza en unas estructuras construidas para este fin, de unos 45 metros de longitud y aproximadamente 1.2 metros de ancho. Estas estructuras se orientan normalmente de norte a sur y están recubiertas por una chapa de hierro un poco más ancha, para proteger de la lluvia y la radiación solar excesiva. Con alambre galvanizado, se forma una especie de malla donde se colocan los racimos en capas delgadas, que en algunos lugares se protegen colocando cortinas laterales. Se intenta que la ubicación de estas estructuras sea en terrenos abiertos, sin ningún obstáculo para que el aire circule libremente. Cada capa de alambres se carga con unos 15-20 Kg/m<sup>2</sup> de uva, que se secan hasta un contenido de humedad de aproximadamente el 13% en un periodo de 9-15 días (Jairaj *et al.*, 2009). El aire ambiente actúa como fuente de calor para el secado de las uvas, que se colocan de tal manera que estén expuestas a la radiación solar durante la mañana y las últimas horas de la tarde. Durante las horas centrales del día, las uvas quedarían a la sombra de la cubierta o de las capas superiores (Pangavhane and Sawhney, 2002).



## 3. Secaderos solares

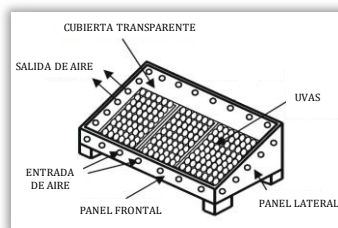
El secado solar se diferencia del secado al sol por el uso de un equipo que recoge la radiación solar, con el fin de aprovechar al máximo la energía. La utilización de secaderos solares reduce las pérdidas de cosecha por las inclemencias meteorológicas y ayuda a mejorar la calidad del producto desecado cuando se compara con los métodos tradicionales (Yaldiz *et al.*, 2001).

Actualmente existen numerosos tipos de secaderos solares diferentes según el alimento a secar, el país en el que se utiliza y el funcionamiento (Sharma *et al.*, 2009; Belessiotis and Delyannis, 2011; VijayaVenkataRaman *et al.*, 2012).

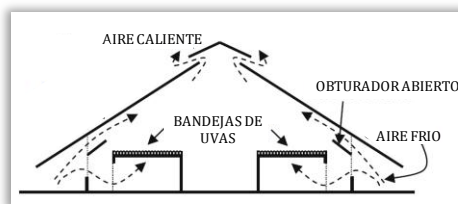
### 3.1. Secaderos solares de tipo directo

En este tipo de sistemas, la radiación solar pasa a través de una cubierta transparente, normalmente de vidrio, para incidir en las uvas colocadas en el interior. El vidrio reduce las pérdidas por convección directa con el entorno, y aumenta la temperatura en el interior del secadero.

Dentro de este tipo de equipos, se puede hablar de cabinas de secado solar, que consisten en unas especies de cajas fabricadas normalmente de madera, cuyos laterales están pintados interiormente de negro para absorber la radiación solar que entra por la cubierta de vidrio o de plástico, pudiéndose alcanzar temperaturas de hasta 80 °C en el interior. Por unos orificios realizados en el secadero entra el aire, ocurriendo así una convección natural.



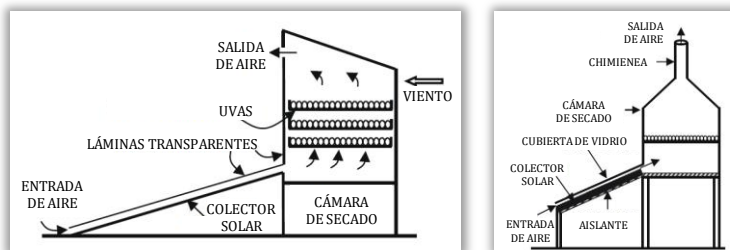
Otro tipo de secadero sería el de techo de vidrio, que está cubierto por dos láminas de vidrio inclinadas y alineadas longitudinalmente en dirección norte-sur. Existe una ranura longitudinal en el techo que permite la salida de aire caliente húmedo, creándose un vacío parcial en el interior gracias al cual entra aire fresco por los orificios situados en las paredes laterales. Las uvas se colocan en bandejas y se calientan gracias a la radiación solar que entra por el techo, llegando a temperaturas interiores que suelen ser el doble que la exterior (Nair and Borgirwar, 1994).



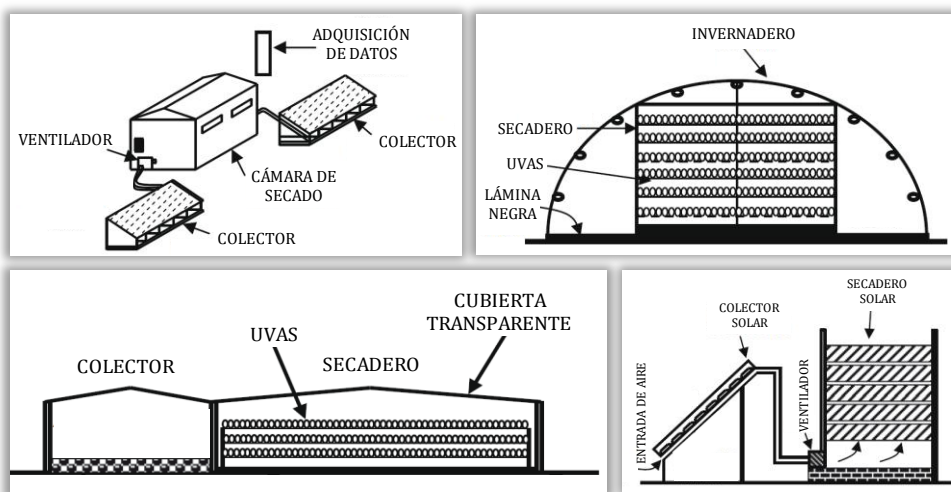
### 3.2. Secaderos solares de tipo indirecto

Estos sistemas se basan en que las uvas no están expuestas directamente a la radiación solar y como consecuencia, las temperaturas de secado son más bajas y la deshidratación más lenta. Dentro de estos sistemas se pueden distinguir secaderos con circulación natural o forzada.

En los primeros, las uvas se calientan debido a la absorción de calor o a las altas temperaturas dentro del secadero, y la humedad que se evapora, escapa gracias a la circulación natural del aire. Existen diferentes diseños para este tipo de secaderos, pero todos presentan una cámara de secado donde se sitúan las bandejas con las uvas y un colector solar en la parte inferior que calienta el aire. Este aire caliente entra en la cámara de secado y pasa a través de las uvas, arrastrando la humedad, que sale por la parte superior. El diseño de este sistema de secado se puede mejorar acoplándole una chimenea en la parte superior, aumentando así el flujo de aire y la velocidad de eliminación de humedad (El-Sebaili *et al.*, 2002).

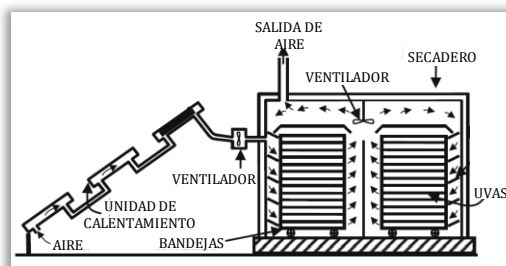


En cuanto a los secaderos con circulación forzada, actualmente existen numerosos diseños de sistemas con estas características, muchos de ellos con estructura de invernadero o túnel. Todos presentan un calefactor o ventilador eléctrico o mecánico, que da lugar al movimiento del aire.

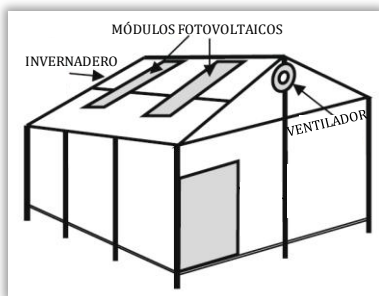


### 3.3. Secaderos solares mixtos

Los secaderos solares mixtos combinan energía de la radiación solar con una fuente auxiliar de energía convencional, de forma que podrían funcionar solamente con energía solar, sólo con las fuentes de energía convencionales o con ambas. En la mayoría de los casos, estos sistemas solares de secado se utilizan en instalaciones de gran capacidad y con una importante producción. Como fuente de energía auxiliar se puede utilizar gas, biomasa o el uso de calefactores eléctricos.





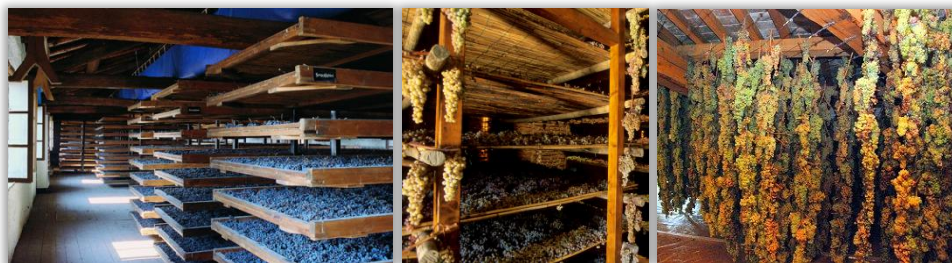


#### 4. Secado en recintos cubiertos

Para la elaboración de algunos tipos de vinos especiales, las uvas se secan dentro de unos recintos protegidos del sol y de la humedad, y bien aireados. Es el caso de los vinos Amarone (Paronetto and Dellaglio, 2011) o Recioto, los Passito, vinos de paja o Vin Santo (Domizio and Lencioni, 2011), entre otros. En todos los casos ocurre una deshidratación lenta de las uvas, aumentando la concentración de azúcares de las mismas.

Esta técnica ofrece la posibilidad de un mejor control del proceso respecto al secado al sol, pero es necesario seleccionar las uvas en mejor estado sanitario y sin daños en los hollejos para evitar el desarrollo de contaminaciones microbianas durante el largo proceso de secado. Las uvas se pueden colocar sobre bandejas, estereras, cajas perforadas, rejillas de madera o incluso colgadas, pero en todos los casos es necesario que estén bien esparcidas y en pequeñas capas, para prevenir el desarrollo de la *Botrytis cinerea* (Cortés *et al.*, 2010). El secado se prolonga durante 3 ó 4 meses, generalmente en otoño e invierno, aumentando la concentración de azúcares hasta al menos 300 g/L.

Los principales inconvenientes que presenta este tipo de secado son un bajo rendimiento, largo tiempo de secado y dificultad para alcanzar de forma homogénea niveles de humedad que garanticen la estabilidad química y microbiológica del producto.



#### 5. Secados en cámara

Los métodos basados en secado en cámara son seguros, rápidos y controlables, aunque requieren un alto rendimiento para ser rentables, ya que la

energía necesaria para su funcionamiento no es barata. Su principal ventaja es que acorta mucho los tiempos de secado con respecto a todos los tipos de deshidratación vistos anteriormente, lográndose uniformidad en los procesos industriales de secado de alimentos, además de aportar la higiene necesaria.

La deshidratación postvendimia mediante el uso de cámara de secado también puede usarse para conseguir estados de madurez adecuados de la uva, ya que se ha demostrado que permite la obtención de un contenido adecuado de azúcares y el desarrollo positivo del flavor, acorde con los producidos de manera natural durante la extensión de la maduración en la viña (Moreno *et al.*, 2008).

Entre los últimos métodos de secado desarrollados, estaría el secado con microondas a vacío, que había sido propuesto en California para la obtención de pasas infladas (puffy dried grapes) (Esmaili *et al.*, 2007). En este sentido, se ha desarrollado un proyecto a escala piloto que convierte un secador de aire convencional en un secador de microondas a vacío (Vega-Mercado *et al.*, 2001). Esta metodología conlleva las ventajas del vacío y del secado por microondas, resultando un proceso rápido, uniforme y eficiente (Sunjka *et al.*, 2004). La radiación microondas penetra dentro de la pulpa y se crea una presión de vapor interna en función de la potencia utilizada, a la vez que el vacío induce una salida rápida del agua de todas las partes del producto simultáneamente (Clary *et al.*, 2005). De esta forma se consigue una vaporización rápida y a baja temperatura, ya que el punto de ebullición del agua se consigue a temperaturas más bajas que a presión atmosférica (Clary *et al.*, 2007), conservando la forma original del producto. Utilizando potencias bajas, se puede conseguir el secado de uvas con contenidos finales de humedad inferiores al 5% (en base seca), pero que conservan el color, flavor y aroma iniciales frente a otros métodos de secado (Clary *et al.*, 2005). En este sentido, Clary *et al.* (2006), concluyeron que el secado de uvas mediante microondas a vacío puede ofrecer una alternativa para la elaboración de vinos de hielo, ya que se consigue una concentración adecuada de los compuestos del aroma, independientemente de las condiciones climáticas necesarias para la congelación de las uvas en el viñedo.

## VINOS DULCES

---

Los vinos dulces se caracterizan por contener una concentración de azúcares residuales superior a 50 g/L, que se pone de manifiesto en un dulzor al paso por la boca. Asimismo, los vinos dulces suelen presentar grados alcohólicos elevados que se utilizan como protección frente a diferentes tipos de ataques bacterianos.

En el mundo existen muchos vinos dulces diferentes, obtenidos con sistemas de elaboración muy diversos. En una primera clasificación pueden distinguirse los vinos naturalmente dulces, los vinos dulces naturales y las mistelas.

- Los vinos naturalmente dulces (VND) son aquellos en los que, tanto el contenido alcohólico como los azúcares residuales, provienen exclusivamente de la uva. Se consiguen bayas con una concentración de azúcares muy elevada debido a una sobremaduración o deshidratación en la propia cepa o una pasificación posterior, que dan lugar a mostos con más de 300 g/L de azúcares. Durante la vinificación se lleva a cabo una fermentación parcial de estos azúcares, finalizando la misma antes de agotarlos completamente, resultando vinos dulces, entre los que se encuentran los vinos de podredumbre noble, los vinos de hielo o los vinos de vendimia tardía, entre otros.

- Los vinos dulces naturales (VDN) provienen de uvas que han sufrido un proceso de sobremaduración o deshidratación por “asoleo”, alcanzando concentraciones de azúcares muy elevadas. Con los mostos que se obtienen de estas uvas se lleva a cabo una fermentación parcial, la cual se detiene antes de agotar todos los azúcares disponibles gracias a la adición de alcohol vínico o destilados vínicos. Así se obtienen vinos con elevadas concentraciones de azúcares y alta graduación alcohólica, como los vinos de Oporto, los moscateles o los Pedro Ximénez.

- Las mistelas se obtienen cuando se añade alcohol vínico a un mosto de uva, en el que no ha comenzado aún la fermentación alcohólica, hasta alcanzar una graduación elevada de alrededor de 16 °Alc. Debido a la ausencia de fermentación, las mistelas no se han considerado tradicionalmente como vinos de acuerdo a la legislación. Sin embargo, en el año 2008 el Reglamento (CE) 479/2008 definió “vino de uvas pasificadas” como el producto con un grado alcohólico natural de al menos 16 % (v/v) o un contenido de azúcar de 272 g/L (Comunidad Europea, 2008), por lo que según esta definición, en este tipo de vinos no tiene que ocurrir proceso de fermentación. Asimismo, en el Reglamento de funcionamiento de la Denominación de Origen Montilla-Moriles (BOJA 249/2011), se define el vino Pedro Ximénez como el resultante de un mosto obtenido de uva asoleada, que se encabeza inicialmente hasta alcanzar los 9% (v/v) y que es objeto de un posterior reajuste mediante encabezado y/o adición de vinos generosos de la DOP Montilla-Moriles, hasta situarlo dentro del rango correspondiente a este tipo de vino (15-22 °Alc).

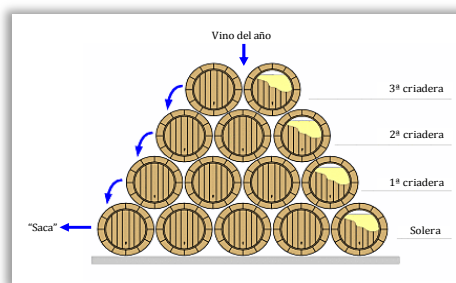
Actualmente existen en el mercado muchos vinos dulces diferentes, que se elaboran mediante técnicas de vinificación muy diversas.

## 1. Vinos dulces de uvas pasificadas

### 1.1 Vinos Pedro Ximénez

Citando en primer lugar los vinos Pedro Ximénez, que se han tomado como punto de partida del presente trabajo, cabe señalar que estos vinos dulces se elaboran en las Denominaciones de Origen Montilla-Moriles y Jerez-Xérès-Sherry. Como ya se ha desarrollado anteriormente, el vino Pedro Ximénez se obtiene a partir de uvas del mismo nombre, que se someten al proceso tradicional pasificación al sol o "asoleo" hasta lograr una intensa pasificación del fruto. La deshidratación a la que se han sometido las uvas conlleva la utilización posterior de prensas verticales, para la obtención de un mosto con una concentración de azúcares superior a los 450 g/L. Estos mostos pueden, o bien ser sometidos a una fermentación alcohólica parcial, que se detiene mediante la adición de alcohol vínico cuando las levaduras no han fermentado más de algunos grados alcohólicos, o bien ser fortificados directamente.

En lo que respecta al envejecimiento, los Pedro Ximénez pueden comercializarse sin ser sometidos a crianza, o bien ser sometidos a crianza oxidativa, pudiendo ser ésta mediante el sistema de criaderas y solera durante al menos dos años, o por el sistema de añadas. El sistema de "criaderas y solera" es el más típico de las dos denominaciones de origen donde se elaboran y consiste en la extracción parcial o "saca" del vino de cada una de las botas que forman la escala inferior o "solera", y la reposición con vino de la escala o criadera superior, que es más joven. Finalmente, la reposición de la última criadera se hace con vino sin crianza. De esta forma, en cada criadera siempre queda una proporción de todos los vinos de las sucesivas añadas con las que se ha ido reponiendo, consiguiendo una homogeneización del producto con el tiempo.



### 1.2 Vinos Passito

Los vinos Passito se producen en numerosas regiones de Italia a partir de uvas que se deshidrataban al sol durante 8-15 días en grandes esteras de bambú, aunque actualmente se suele hacer en túneles recubiertos de polietileno transparente, con aberturas laterales para hacer circular el aire. Los racimos se van volteando para garantizar una rápida y homogénea pasificación, que se da por finalizada cuando el volumen en peso se ha reducido en un 35%, aumentando la concentración de azúcar entre el 25 y 40% (Torelli *et al.*, 2006).

El mosto obtenido de las uvas deshidratadas se añade a otro que haya comenzado la fermentación, pudiéndose prolongar el proceso de fermentación desde unas pocas semanas hasta dos meses. El vino se envejece en barricas de roble durante un mínimo de 6 meses y un máximo de 2-3 años.

Dentro de los vinos passito, el "Malvasia delle Lipari" está elaborado con una mezcla de la variedad que le da nombre (máximo 95%) y Corinto negro (5-8%), con

un grado alcohólico mínimo de 18 °Alc y azúcares residuales no inferiores al 6%, de acuerdo al Decreto del Presidente della Repubblica (20/09/1973). Asimismo, el “Moscato di Noto” debe elaborarse exclusivamente con uvas de la variedad blanca Moscatel, tener un grado alcohólico mínimo del 11.5% (v/v) y una concentración mínima de azúcares residuales del 8 % (Decreto del Presidente della Repubblica, 30/07/1974) (Guarrera *et al.*, 2005).

### 1.3 Vino tostado

El vino tostado es un vino elaborado en la D. O. Ribeiro (Galicia, España) a partir de uvas sobremaduras que son sometidas a un proceso de secado a cubierto, resultando vinos cuyo grado alcohólico y dulzor proceden exclusivamente de la uva. Aunque el vino tostado se puede elaborar a partir de las variedades de uvas blancas Treixadura, Loureira, Torrontés, Godello y Albariño y de las tintas Caíño, Ferrón, Sousón, Brancellao y Mencía, la variedad por excelencia empleada suele ser la Treixadura.

Tras la vendimia, los racimos sanos son colgados en varas de acacia o se depositan en superficies horizontales dentro de locales con buena ventilación durante al menos 3 meses, llevándose a cabo un lento proceso de pasificación durante el cual las uvas pierden agua y se produce una concentración de los compuestos presentes en la baya. Cuando se finaliza el proceso de secado, el mosto proveniente de las uvas debe contener una concentración de azúcares reductores igual o superior a 300 g/L y tras la fermentación, los vinos deben presentar un contenido mínimo de etanol del 13% (v/v), azúcares reductores no inferiores a 70 g/L y un valor de acidez volátil no superior a 2.1 g/L (expresada en ácido acético). Posteriormente, los vinos son sometidos a un proceso de envejecimiento en madera de roble o cerezo durante al menos 6 meses y una estabilización posterior en botella mínima de 3 meses, antes de salir al mercado (Vilanova *et al.*, 2009).

### 1.4 Vin Santo

El Vin Santo es un vino que se elabora especialmente en la Toscana (Italia) a partir de uvas deshidratadas. El nombre del vino tiene su origen en la tradición de dejar deshidratar las uvas durante 3 ó 4 meses, hasta la primera luna llena de primavera, inicio de la Semana Santa. Este periodo de deshidratación es superior a la mayoría del resto de vinos dulces con una elaboración parecida y se debe a que los racimos se mantienen colgados del techo en locales cubiertos. El resultado son mostos con altas concentraciones de azúcares, con los que se llenan barricas que contienen un 5-10 % de los sedimentos recogidos de la producción del Vin Santo anterior, y que son una fuente de lípidos para el crecimiento de levaduras (Gómez *et al.*, 2004).



De acuerdo con el proceso tradicional de elaboración, la fermentación y posterior envejecimiento biológico se lleva a cabo en una sala especial conocida como la “vinsantaia”, a temperatura ambiente y bajo condiciones de microaireación natural

debido a que las barricas no se llenan completamente (Dominizio *et al.*, 2007). Las bruscas variaciones en la temperatura durante el proceso de fermentación influyen en el crecimiento y la capacidad fermentativa de las levaduras del vino. La fermentación y envejecimiento del Vin Santo puede durar dos o más años (Dominizio *et al.*, 2009).

### **1.5 Recioto**

El Recioto es un vino dulce elaborado en la región italiana de la Valpolicella, a partir de uvas tintas deshidratadas, para lo cual los racimos se colocan sobre esteras, cajas o bandejas, en una sola capa para evitar el desarrollo de la podredumbre, y se almacenan a temperatura y humedad ambiente (2-20 °C; 40-90% H.R.) en locales conocidos como “fruttai” durante 90-120 días. Debido a la pérdida de agua se consigue una concentración de los azúcares de un 40 % (Barbanti *et al.*, 2008).

La fermentación se realiza a baja temperatura (3-5 °C), por levaduras procedentes de la uva y no se completa, manteniéndose con ello una concentración de azúcares residuales de entre 20-50 g/L en los vinos finales. Posteriormente se pasa a un envejecimiento en barricas de roble durante al menos dos años (Dellaglio *et al.*, 2003).

### **1.6 Vino de paja (Vin de paille)**

Este vino dulce se elabora en la región del Jura (Francia) a partir principalmente de las variedades blancas Savagnin y Chardonnay. Una vez vendimiadas, las uvas son sometidas a un proceso de secado en locales bien ventilados pero sin calor artificial, durante al menos 6 semanas. Tradicionalmente, las uvas eran colocadas sobre lechos de paja para su deshidratación, práctica de la que proviene su nombre, aunque actualmente se utilizan cestos de mimbre, esteras o cajas de plástico perforadas, por razones de salubridad.

Cuando la concentración de azúcares es superior a los 300 g/L, las uvas son prensadas y los mostos se almacenan en barricas donde al final del invierno comienzan espontáneamente un lento proceso de fermentación, que se detiene naturalmente cuando se alcanzan grados alcohólicos entre 14.5 y 17 °Alc, quedando aún gran cantidad de azúcares residuales. Después, los vinos deben ser sometidos a un envejecimiento en barricas de al menos 3 años antes de ser embotellados.

## **2. Vinos dulces fortificados**

### **2.1. Vinos de Oporto**

Los vinos de Oporto son vinos dulces fortificados elaborados a partir de uvas de la región del Duero, en el norte de Portugal. Las variedades autorizadas para elaborar este tipo de vino son Touriga Nacional, Tinta Barroca, Tinta Roriz, Touriga Francesa, Tinto Cão y/o Tinta Amarela (Pinho *et al.*, 2012). La característica de la elaboración de los vinos de Oporto es que se lleva a cabo una parada fermentativa mediante la adición de aguardiente (77 °Alc) a las 36-48 horas del comienzo de la fermentación, cuando el grado Baumé alcanza un valor aproximado de 6.2. De esta

forma, se consiguen vinos con contenidos de etanol de 18-20% (v/v), quedando además azúcares residuales sin fermentar (Cunha *et al.*, 2011).

Existen diferentes tipos de vinos de Oporto, algunos vinos de añada como el “vintage” o el “late bottled vintage” (LBV). El primero es un vino que se elabora sólo con los mejores vinos de añadas excepcionales, con un envejecimiento entre 2 y 3 años en madera para estabilizar su color, seguido de una larga crianza reductora en botella, a veces de más de 20 años. El LBV es un vino algo inferior, con un envejecimiento en madera de 4 a 6 años y una posterior crianza en botella. Asimismo, se elaboran también vinos de mezcla, existiendo diferentes términos dependiendo del envejecimiento de los mismos, pudiendo hablar de “Tawny Reserva”, “Tawny 10 años” o “Tawny 20 años”. Estos vinos se envejecen en barriles de roble y están expuestos a una oxidación y evaporación gradual, que les confieren unos colores dorados-marrones. Gradualmente se van haciendo mezclas con vinos de diferentes edades y se obtiene finalmente un producto más o menos homogéneo con los años, y cuya edad se indica como la edad media de los vinos que se han mezclado. Un “Tawny Reserva” se obtendría tras un envejecimiento de 2 años en barrica, aunque la edad que figura en la botella de este tipo de vinos sería mucho mayor.

Consecuentemente a las diferentes técnicas de vinificación dependiendo del producto deseado, la composición y el color de los vinos finales difiere considerablemente dependiendo del proceso de elaboración (Pinho *et al.*, 2012).



## 2.2. Vinos de Madeira

Los vinos de Madeira son vinos fortificados que presentan un contenido de etanol entre el 18 y el 20 % y que se elaboran en la isla del Atlántico que le da su nombre. La elaboración de este tipo de vinos conlleva una parada fermentativa por adición de destilados de origen vínico del 95 % (v/v) de etanol, para obtener vinos con cantidades de azúcares entre 25 y 110 g/L, dependiendo de la variedad (Campo *et al.*, 2006). De acuerdo a esto, existen cuatro tipos de vinos de Madeira cuyo nombre se debe a la variedad de uva con la que están elaborados: el vino seco Sercial, fermentado hasta unos 25 g/L de azúcares reductores; el vino semiseco Boal, obtenido tras parada fermentativa con 65 g/L de azúcares reductores; el vino semidulce Verdelho, con 90 g/L de azúcares reductores; y el vino dulce Malvasía, que tradicionalmente no fermenta y cuya concentración de azúcares reductores es de 110 g/L (Oliveira E Silva *et al.*, 2008).

En este momento se pasa a la etapa de “estufagem”, que es la más característica de la elaboración de los vinos de Madeira. Para ello, el vino se almacena en grandes cubas revestidas, aumentando la temperatura lentamente (unos 5 °C al día) y manteniéndose a 45-50 °C durante 3 meses. Tras este tratamiento, el vino pasa a una etapa de envejecimiento en barricas de roble durante al menos tres años, pudiendo extenderse hasta más de 20 años para los mejores vinos y existiendo diferentes categorías dependiendo del tiempo de envejecimiento en barrica (Nogueira and Nascimento, 1999). Este envejecimiento se realiza en zonas de las

bodegas donde las temperaturas aumentan hasta los 30-35 °C por incidencia del sol, con grados de humedad superiores al 70 %. El tratamiento térmico genera la degradación de algunos compuestos y se producen numerosos compuestos aromáticos y volátiles, pudiendo relacionar las características sensoriales de los vinos con las temperaturas y nivel de humedad de almacenamiento (Câmara *et al.*, 2006).



Tradicionalmente, estos vinos se envejecen en barricas de diferentes tamaños para facilitar la difusión de oxígeno, el cual da lugar a reacciones de oxidación de algunos compuestos fenólicos del vino (antocianos, flavonoides y ésteres tartáricos de los ácidos hidroxicinámicos), además de fenoles extraídos de la madera. Los resultados de esta oxidación son unas modificaciones organolépticas que describen los vinos como “oxidados” en el caso de vinos secos, “rancios” en los vinos tintos dulces fortificados y “maderizados” en los vinos blancos dulces fortificados (Câmara *et al.*, 2006).

### 3. Vinos de hielo

En el caso de los llamados vinos de hielo, Eiswein (en Alemania) o Icewine (Canadá), ocurre una congelación de las uvas en la propia cepa, llevándose a cabo el posterior prensado también en estado congelado. Las condiciones necesarias para la producción de este tipo de vinos sólo se consiguen naturalmente en regiones determinadas de unos pocos países, como Alemania, Canadá o Austria, aunque actualmente se producen también en otras zonas (como Estados Unidos y Nueva Zelanda), utilizando normalmente un proceso criogénico para asegurar la congelación de las uvas. Para la elaboración de los vinos de hielo se requiere suficiente sol y calor durante el verano y el otoño que permita madurar las uvas y acumular azúcares, y temperaturas frías durante el final del otoño y el invierno, para congelarlas.



Las normas alemanas establecen que la uva tiene que congelarse de forma natural a temperaturas -7 °C o inferiores y su concentración de azúcares, medida en grados Oechsle, debe ser de 125 °Oe. En el caso de las normas canadienses, se establece que las uvas deben congelarse naturalmente en la vid a temperaturas de -8 °C o inferiores, manteniéndose durante todo el proceso de prensado sin refrigeración artificial (Cliff *et al.*, 2002). Asimismo, se fija que la concentración final de azúcares en el mosto debe ser al menos 35 °Brix y hasta aproximadamente 42 °Brix (Kontkanen *et al.*, 2004).

Como consecuencia de las bajas temperaturas, parte del agua de la pulpa se congela y se procede al prensado de las uvas antes de que se deshagan estos cristales de hielo, que se eliminan con los hollejos. Se obtiene así un mosto muy concentrado en



todos los sólidos solubles, incluyendo glucosa y fructosa, ácidos tartárico y málico y compuestos nitrogenados (Pigeau *et al.*, 2007) el cual, a pesar de la elevada concentración de azúcares, queda equilibrado gracias a su gran acidez (Nurgel *et al.*, 2004). En ocasiones, la fermentación ocurre con dificultad debido al estrés hiperosmótico al que se encuentran sometidas las levaduras, pudiendo llegar a tardar varios meses para alcanzar el grado alcohólico deseado (Kontkanen *et al.*, 2004). Generalmente, la fermentación se detiene cuando aún queda una concentración de azúcares residuales importantes, pero esta parada fermentativa puede favorecerse mediante deslíos, sulfitado y frío.

#### 4. Vinos de podredumbre noble

Este tipo de vinos se elaboran a partir de uvas que han sido atacadas por el hongo *Botrytis cinerea*, el cual induce una pasificación parcial de las bayas. El desarrollo de la podredumbre noble en las uvas en lugar de la podredumbre gris también originada por el mismo hongo, se alcanza sólo en determinadas regiones y bajo condiciones climáticas muy específicas (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1998) que incluyen periodos húmedos y secos alternadamente, debidos bien a nieblas matinales y mediodías cálidos, o



bien a un corto periodo lluvioso seguido de un tiempo soleado y ventoso de baja humedad. Dentro de las regiones de elaboración de este tipo de vinos estarían la zona de Sauternes-Barsac (Francia) donde se elaboran los vinos licorosos conocidos como Sauternes, la zona Tokaj-Hegyalja entre Hungría y Eslovaquia, elaboradora de los Tokay o Tokaj y algunas regiones de Alemania de donde provienen los vinos Beerenauslese o Trockenbeerenauslese.

Durante la maduración de las uvas, las paredes celulares de la pulpa y el hollejo se vuelven más delgadas y se desestructuran progresivamente. La baya pierde su resistencia mecánica y es entonces cuando la *Botrytis cinera* la atraviesa y crece sin penetrar dentro de las células de la pulpa. Así se crean pequeños orificios a través de los cuales se evapora el agua, concentrando los azúcares y todos los sólidos solubles (Thibon *et al.*, 2009).

La vendimia sufre una importante reducción de volumen, del orden del 50%, obteniéndose unos rendimientos de mosto por superficie de viñedo bastante bajos y produciéndose al mismo tiempo una modificación profunda de la composición del mosto. Aunque la *Botrytis cinerea* consume del orden del 50% de los azúcares de la pulpa, la concentración por evaporación de agua hace que finalmente se obtengan valores entre 250-350 g/L de azúcares reductores. Asimismo, los mostos presentan también concentraciones importantes de glicerina y algo de ácido glucónico formado por la oxidación que el hongo ocasiona de la glucosa. Disminuye la acidez, el contenido en nitrógeno mineral y las vitaminas del grupo B, a la vez que algunos polifenoles son oxidados a quinonas por la enzima lacasa formada por la *Botrytis cinerea*. Los aromas varietales descienden por hidrólisis de los terpenos glicosilados, pero aparecen nuevas sustancias aromáticas propias de la podredumbre noble.

Las uvas afectadas por la podredumbre noble se vendimian cuidadosamente y tras su prensado, los mostos deben ser sulfitados para impedir el desarrollo de contaminaciones microbianas. La fermentación se lleva a cabo tradicionalmente en barricas de roble, siendo preferible la inoculación con levaduras seleccionadas y, cuando se alcanza el grado alcohólico deseado, se detiene normalmente por métodos físicos. Los vinos son sometidos a una crianza en madera antes de pasar a un envejecimiento reductor en botella.



## *Métodos experimentales*

---



## DETERMINACIONES ENOLÓGICAS GENERALES

### **Grado Brix**

El grado Brix de los mostos se mide con un refractómetro modelo Master-Baumé (Atago Co, LTD Tokio, Japón).

### **pH**

La determinación de pH se realiza por media directa con un pH-metro Crison modelo micropH 2001, calibrado con disoluciones tampón de pH 7.02, 4.00 y 9.21 a 25 °C.

### **Acidez volátil**

La acidez volátil se define como el conjunto de los ácidos de cadena corta presentes en el mosto, excluyendo los ácidos láctico, succínico, carbónico y el dióxido de azufre. Esta determinación se realiza por arrastre de los ácidos volátiles con vapor de H<sub>2</sub>O, rectificación de los vapores y posterior valoración de los mismos, según el método de la OIV (2005). Para ello, una muestra de 20 mL de mosto/vino, al que previamente se ha eliminado el CO<sub>2</sub> mediante agitación durante 5 minutos a temperatura ambiente, se acidifica con 5 mL de una disolución de 100 g/L de ácido tartárico y se procede al arrastre de los ácidos volátiles, hasta recoger aproximadamente 200 mL de destilado, que se valora con una disolución de hidróxido sódico 0.1 N, con fenolftaleína como indicador. El resultado se corrige restándole la interferencia del SO<sub>2</sub>. Para ello se procede, en primer lugar, a la valoración del SO<sub>2</sub> libre con yodo 0.01 N y almidón como indicador tras la acidificación con unas gotas de HCl puro y la adición de un cristal de yoduro potásico. Posteriormente, se valora el SO<sub>2</sub> combinado con yodo 0.01 N tras la adición de 20 mL de disolución de bórax al destilado. Finalmente, la acidez volátil se expresa como g/L de ácido acético.

### **Azúcares reductores**

Se utiliza el método de Luff-Schoorl (Comunidad Europea, 1990), basado en la reducción del Cu<sup>+2</sup> de una disolución alcalina, por los azúcares reductores contenidos en la muestra (principalmente glucosa y fructosa). Para ello, se toman 10 mL de una muestra diluida 1:10 de mosto/vino defecada con Carretz I y Carretz II (disoluciones de ferrocianuro potásico y sulfato de cinc, respectivamente). Se añaden 25 mL de reactivo Luff-Schoorl (disolución cúprico-alcalina), y se lleva a ebullición a reflujo durante 10 minutos y posteriormente se enfria hasta temperatura ambiente sin agitación, para evitar la oxidación del precipitado de Cu<sub>2</sub>O formado. Tras añadir 10 mL de KI al 30% y 25 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 6 N para reducir el exceso de Cu<sup>+2</sup>, el I<sub>2</sub> formado por la acción del Cu<sup>+2</sup> se valora con una disolución de Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 0.1 N usando almidón como indicador. Se cuantifican los azúcares mediante la diferencia del volumen de Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> consumido por un blanco y por la muestra, y utilizando datos tabulados.

### ***Etanol***

Para la cuantificación de etanol se utiliza el método de Crowell and Ough (1979), basado en la oxidación del etanol, aislado por arrastre con vapor de agua, con dicromato potásico. Para ello, se procede a la destilación de 5 mL de vino con corriente de vapor de agua hasta recoger 60-70 mL. Después de equilibrar la temperatura a 20 °C, se enrasa a 100 mL, de los cuales 2 mL se hacen reaccionar con 10 mL de una disolución de dicromato potásico (34 g/L). Tras 20 minutos de reacción a 60 °C, se baja la temperatura a 20 °C y se mide la absorbancia a 600 nm, frente a un blanco preparado de igual manera, en cubetas de cuarzo de 1 cm de paso de luz. Se ha realizado una recta de calibrado con patrones de etanol de 0, 0.2, 0.4, 0.8, 1.0, 1.5 y 2.0% (v/v), que se muestra a continuación.

$$\text{Etanol (\% v/v)} = 0.06 \times \Delta A_{600} + 0.0006 \quad r = 0.9996$$

### ***Ácido pirúvico***

El ácido pirúvico se determina enzimáticamente usando un kit K-PYRUV 03/07 (Megazyme, Irlanda), basado en el cambio de absorbancia a 340 nm por la oxidación de NADH a NAD<sup>+</sup>, usado como cofactor la enzima lactato deshidrogenasa, durante la reducción del ácido pirúvico a ácido láctico.

### ***Acetaldehído***

El acetaldehído se cuantifica mediante cromatografía gaseosa, utilizando un cromatógrafo Agilent 6890 Series plus, equipado con una columna capilar de sílice fundida CP-Wax-57CB, de 60 m de longitud, 0.25 mm de diámetro interno y 0.4 µm de revestimiento. Se toman 10 mL de muestra, a los que se añade 1 mL de una disolución de 4-metil-2-pentanol a una concentración de 1 g/L, como patrón interno. Posteriormente, se inyecta un volumen de 0.5 µL.

El programa de temperaturas utilizado es el siguiente: 50 °C durante 15 minutos, con una rampa de temperatura de 4 °C/min hasta 190 °C, que se mantiene constante durante 35 minutos. El gas portador utilizado es helio, a un flujo de 0.7 mL/min durante 16 minutos en modo Split y relación 1:30. La temperatura del inyector se fija en 275 °C. La temperatura del detector de ionización de llama es de 300 °C, y los flujos de hidrógeno y aire son de 40 y 400 mL/min, respectivamente. Se utiliza el software Chemstation (Agilent Technologies).

## **DETERMINACIONES ESPECTROFOTOMÉTRICAS**

---

Las medidas espectrofotométricas se realizan en un espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 25, tras filtración por papel HA-0.45 µm (Millipore). Para las medidas de color se utilizan cubetas de cuarzo 1 mm de paso óptico, corrigiendo posteriormente los resultados para un paso de luz de 1 cm.

### **CIELAB**

Se obtiene el espectro UV-Visible en un rango de 250-780 nm, usando agua como blanco de referencia y se determinan los parámetros CIELAB  $a^*$  (rojo-verde),  $b^*$  (amarillo-azul),  $L^*$  (claridad),  $h_{ab}$  (tonalidad) y  $C^*_{ab}$  (cromaticidad) de acuerdo a las recomendaciones de la Comisión Internacional de la Iluminación (CIE, 2004), utilizando el iluminante  $D_{65}$  y el observador estándar  $10^\circ$ . Los datos se calculan mediante software Colvin (v.1.00.04) de Perkin Elmer.

### **Absorbancias a 420, 520 y 620 nm**

Se miden las absorbancias a 420 nm (como contribución de tonos pardos), a 520 nm (como contribución de color rojo) y a 620 nm (como contribución de tonos azul-violáceos).

### **Intensidad colorante y tonalidad**

Se obtiene la intensidad colorante como suma de las correspondientes absorbancias medidas a 420, 520 y 620 nm. La tonalidad se define como la relación entre las absorbancias medidas a 420 y 520 nm.

### **Color total de pigmentos**

El color total de pigmentos (WCA) se obtiene diluyendo 1 mL de muestra con HCl 1M hasta 10 mL, y midiendo la absorbancia correspondiente a 520 nm tras 45 min de reacción a 25 °C. Para esta medida, el pH del mosto/vino se modifica hasta un valor inferior a 1, al cual todos los antocianos se encuentran en la forma coloreada de ion flavilio (Blouin, 1992).

### **Color de pigmentos poliméricos**

El color de pigmentos poliméricos (PPC) se obtiene mediante la absorbancia a 520 nm de 5 mL de muestra después de añadir 15 mg de  $Na_2S_2O_5$  y transcurridos 45 min a 25 °C tras la adición. Los antocianos monómeros son inmediatamente decolorados por la adición de  $Na_2S_2O_5$  en exceso al pH del mosto/vino, por lo que el color residual después del tratamiento se debe a las formas poliméricas de estos pigmentos (Somers and Evans, 1977).

### **Índice de polifenoles totales**

El índice de polifenoles totales (IPT) se obtiene midiendo la absorbancia a 280 nm de 1 mL de muestra diluida con HCl 1M hasta 10 mL y transcurridos 45 min a 25 °C (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1998).

### **Taninos totales**

Los taninos del vino están constituidos por cadenas de flavanoles (proantocianidinas) más o menos polimerizadas. Su concentración se determina



mediante la reacción de Bate-Smith, basada en un calentamiento en medio ácido que conduce a la ruptura de los enlaces interflavanos de estas estructuras y a la formación de carbocationes que se transforman parcialmente en antocianidinas si el medio es lo suficientemente oxidante (Ribéreau-Gayon and Stonestreet, 1966). Se toman 2 mL de mosto/vino diluido 1:50 y se añade 1 mL de agua destilada y 6 mL de HCl 12N. Tras cerrar herméticamente y proteger de la luz, se calienta al baño maría durante 30 min, se enfria rápidamente hasta temperatura ambiente y se añade 1 mL de etanol. Tras homogeneizar la mezcla, se mide la absorbancia a 550 nm en una cubeta de cuarzo de 1 cm de paso de luz, corrigiendo este valor de absorbancia con el correspondiente de un ensayo en blanco sin calentamiento. Los taninos totales, en g/L, se calculan según la ecuación:

$$\text{Taninos totales (g/L)} = (A_{\text{muestra}} - A_{\text{blanco}}) \times 19.33$$

La constante 19.33 corresponde al coeficiente de extinción molar de la cianidina obtenida por la hidrólisis ácida de una disolución de procianidinas oligómeras de referencia (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1998).

### **Actividad antioxidante**

Para la medida de la actividad antioxidante de los mostos y vinos se utiliza un análisis de DPPH (2,2-difenilpicrilhidrazilo) de acuerdo al método usado por Alen-Ruiz *et al.* (2009). Para ello, se prepara diariamente una disolución de DPPH de concentración 45 mg/L en metanol, almacenándola en un frasco opaco durante su utilización y se utiliza como estándar una disolución de 80 mg/L de Trolox (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilchroman-2-carboxílico, un análogo de la vitamina E).

Las muestras de mostos/vinos se diluyen 10 veces previamente a su análisis, con una disolución de etanol 12% en agua, de las cuales se toman alícuotas de 200  $\mu$ L que se añaden en cubetas de 1cm de paso óptico, que contienen 3 mL de la disolución de DPPH 45 mg/L en metanol. Paralelamente se prepara un blanco (200  $\mu$ L de muestra diluida en 3 mL de metanol), un control (200  $\mu$ L de etanol 12% en agua en 3 mL de la disolución de DPPH) y un estándar (200  $\mu$ L de la disolución de Trolox en 3 mL de la disolución de DPPH). Se mide la absorbancia a 517 nm, del control y del blanco a temperatura ambiente, y tras 10 minutos de incubación, se mide la absorbancia a la misma longitud de onda del estándar y de la muestra.

Los resultados, expresados en mmoles de Trolox (mmol T.E.) por litro, se calculan de acuerdo a las siguientes ecuaciones:

$$A_{\text{muestra}} = A_{\text{muestra}(t=10 \text{ min})} - A_{\text{blanco}}$$

$$A_1 = A_{\text{control}(t=0)} - A_{\text{muestra}}$$

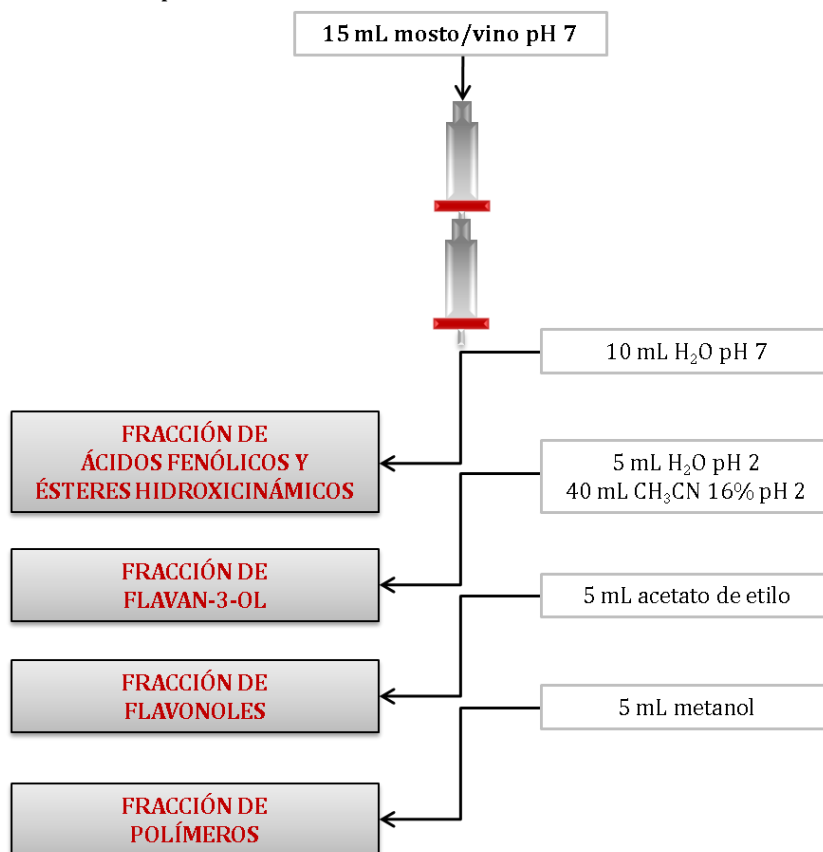
$$A_2 = A_{\text{control}(t=0)} - A_{\text{estándar}(t=10 \text{ min})}$$

$$A.A. (\text{mmol T.E./L}) = \frac{0.32 * A_2 * \text{factor dilución}}{A_1}$$

## DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS

### Extracción en fase sólida

Para la separación de las diferentes familias de compuestos fenólicos se lleva a cabo una extracción en fase sólida, SPE, de acuerdo con el esquema siguiente, para lo cual se utilizan dos cartuchos Sep-Pak C18, con 900 mg de relleno (Long Body Sep-Pak Plus; Waters Associates, Milford, MA) para asegurar una completa retención de todos los compuestos fenólicos, los cuales se activan con 5 mL de metanol y se acondicionan con agua destilada a pH 7.0.



En primer lugar, se toman 15 mL de mosto/vino que se hacen pasar por los cartuchos, tras ajustar su pH hasta un valor de 7.0. El eluido recogido, junto al proveniente de un lavado posterior con 10 mL de agua a pH 7.0, contiene la fracción de ácidos fenólicos y ésteres de ácidos hidroxicinámicos, quedando las demás familias fenólicas retenidas en la fase sólida. Esta primera fracción se evapora a vacío y se concentra hasta un volumen de 10 mL.

A continuación, el cartucho se acondiciona con 5 mL de agua a pH 2, y se recoge la fracción de derivados del flavan-3-ol, eluyendo con 40 mL de acetoneitrilo 16% en agua y pH 2.0. Esta fracción se evapora a presión reducida hasta sequedad, redisolviendo en 2 mL del mismo disolvente.

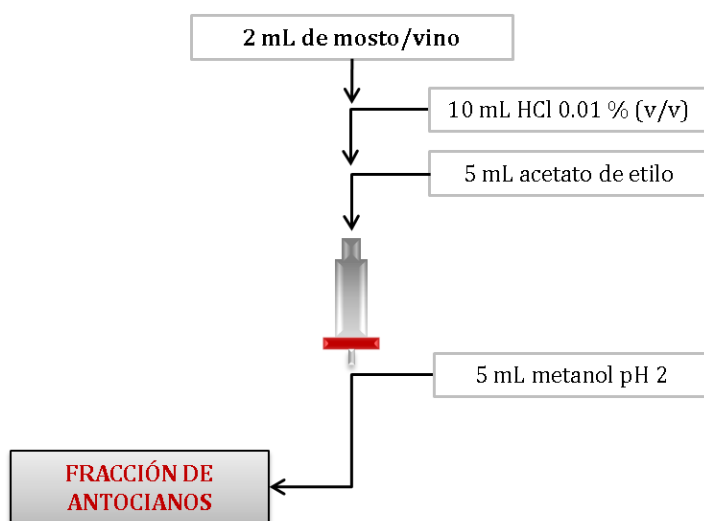
Para eluir la fracción de flavonoles se pasan por los cartuchos 5 mL de acetato de etilo, evaporando a sequedad y redisolviendo en 1 mL de metanol.

Finalmente, se pasan 10 mL de metanol a través de los cartuchos, eluyendo el resto de compuestos fenólicos retenidos, que corresponden a compuestos de alto peso molecular, o familia de polímeros. Esta fracción se concentra hasta 5 mL con el mismo disolvente.

En la extracción anterior, los compuestos antociánicos quedarían repartidos en todas las fracciones, siendo muy difícil su identificación y cuantificación. Consecuentemente, se realizó una extracción paralela para esta familia fenólica, de acuerdo al procedimiento utilizado por Chinnici *et al.* (2009).

Para ello, un volumen de 2 mL de mosto/vino se pasa por un cartucho Sep-Pak C18 similar a los utilizados en la extracción anterior, previamente activado con 5 mL de metanol y acondicionado con HCl 0.01% (v/v) en H<sub>2</sub>O. Tras pasar la muestra de mosto/vino, el cartucho se lava con 10 mL de HCl 0.01% (v/v) en H<sub>2</sub>O y 5 mL de acetato de etilo, eluyendo la fracción de antocianos con 5 mL de metanol a pH 2.0. La fracción de compuestos antociánicos se evapora a sequedad y su volumen se ajusta a 1 mL con metanol pH 2.0.

Todas las fracciones se concentraron a vacío en un rotavapor termostatzado a 30 °C, pasándolas por filtros de nylon de 0.45 µm antes de su inyección en HPLC.



### Identificación y análisis en HPLC

La identificación y cuantificación de los compuestos fenólicos se lleva a cabo en un cromatógrafo de líquidos (Spectra-Physics UV6000LP) con una columna LiChrospher 100 RP-18 (250 mm × 4.6 mm, 5 µm de tamaño de partícula). Como fase móvil se utiliza ácido fórmico al 10% en agua (disolvente A) y acetonitrilo/agua/ácido fórmico (45:45:10) (disolvente B), con un flujo de 1 mL/min.

La identificación se realiza por comparación de los correspondientes tiempos de retención, así como de los espectros UV-Vis obtenidos por un sistema de detección Diodo-Array, con patrones estándar. Dicha identificación ha sido confirmada por HPLC/ESI-MS (espectrómetro de masas cuadrupolo TermoQuest Finnigan AQA), operando en modos negativo y positivo. El voltaje de spray de iones fue -4000 V y el voltaje de entrada, -60 V. Los datos de masa se adquieren en dos modos diferentes, modo scan (mediante scanning de  $m/z$  en el rango 150-1066 a intervalos de 1.2) y modo de ion múltiple (usando rangos de masas cercanos a los valores específicos  $m/z$ ).

Los programas de elución utilizados para las distintas fracciones, así como la longitud de onda de detección se muestran a continuación:

Fracción	$\lambda$ (nm)	Tiempo (min)	Disolvente A (%)	Disolvente B (%)
		0	95	5
Ácidos hidroxibenzoicos	280	35	90	10
		45	80	20
		55	70	30
Ésteres de los ácidos hidroxicinámicos	315	65	0	100
		70	0	100
		71	95	5
Flavanoles	280	0	95	5
		25	90	10
		35	80	20
		45	70	30
		60	0	100
		70	0	100
Flavonoles	360	71	95	5
		0	95	5
		5	90	30
		19	80	40
		30	70	80
		31	0	100
Compuestos poliméricos	280	35	0	100
		36	95	5
		0	95	5
		5	90	10
		15	80	20
		25	70	30
Compuestos poliméricos coloreados	520	40	0	100
		50	0	100
		51	95	5
Antocianos	520	60	95	5
		0	85	15
		17	70	30
		45	27	73
		48	0	100
		50	85	15

La identificación de los piranoantocianos y aductos de condensación antociano-metilmileno-flavanol se ha realizado en un cromatógrafo de líquidos Hewlett-Packard series 1100 (Agilent Technologies, Waldbronn, Germany). La separación se lleva a cabo en una columna C18 AQUA® (Phenomenex, Torrance, CA) en fase reversa (150 mm × 4.6 mm, 5 µm de tamaño de partícula) termostaticada a 35°C. Como disolventes se utilizan ácido trifluoroacético 0.1% en agua (disolvente A) y acetonitrilo 100% de pureza HPLC (disolvente B), con un flujo de 0.5 mL/min (García-Marino et al., 2010). El gradiente empleado para la separación fue el siguiente:

Tiempo (min)	Disolvente A (%)	Disolvente B (%)
0	90	10
3	90	10
15	85	15
20	85	15
25	82	18
45	70	30
50	65	35
51	90	10
55	90	10

Se utiliza un detector de Diodo-Array (DAD) a longitudes de onda de 520 y 505 nm y un espectrómetro de masas (MS) conectado al sistema de HPLC mediante la célula de salida del DAD. La detección por masas se realiza en un sistema API 3200 Qtrap (Applied Biosystems, Darmstadt, Germany), equipado con una fuente ESI y un analizador de masas de triple cuadrupolo-trampa de iones controlado por el software Analyst 5, con aire como gas nebulizador (40 psi) y gas turbo (600 °C) para evaporar el disolvente (50 psi). Se utiliza nitrógeno como cortina (100 psi) y como gas de colisión, y se trabaja con un voltaje de spray de iones a 5000 V en modo positivo. Los parámetros utilizados son los siguientes: potencial de declustering (DP), 41 V; potencial de entrada (EP), 7.5 V; energía de colisión (CE), 10 V. Adicionalmente, se utiliza el modo EPI (Enhanced product ion) para obtener la fragmentación de los iones padres, utilizando para ello los siguientes parámetros: DP 41 V, EP 7.5 V, CE 10 V y energía de colisión (CES) 0 V.

### **Cuantificación de compuestos fenólicos**

Para la cuantificación de los compuestos fenólicos se compara el área de pico obtenido para cada uno de ellos con las rectas de calibrado de patrones comerciales, suministrados por Sigma-Aldrich Chemical Co. (Madrid, España) y Extrasynthese Co. (Genay, Francia), con una pureza del 95-99%.

De cada uno de los patrones usados se preparan disoluciones de diferentes concentraciones que se sometieron al mismo procedimiento de extracción en fase sólida que las muestras y se inyectan en HPLC-DAD-MS con el programa cromatográfico correspondiente. Se construyen las respectivas rectas de calibrado, cuyas ecuaciones y coeficientes de regresión se presentan en la siguiente tabla:

<i>Antocianos</i>	<i>Conc. (mg/L)</i>	<i>Ecuación</i>	<i>r</i>
Delfinidín-3- <i>O</i> -glucósido	Como malvidín-3- <i>O</i> -glucósido		
Cianidín-3- <i>O</i> - glucósido	Como malvidín-3- <i>O</i> -glucósido		
Petunidín-3- <i>O</i> - glucósido	Como malvidín-3- <i>O</i> -glucósido		
Peonidín-3- <i>O</i> - glucósido	Como malvidín-3- <i>O</i> -glucósido		
Malvidín-3- <i>O</i> - glucósido	0 - 100	$y = 530375x - 10^6$	0.9968
Delfinidín-3- <i>O</i> -acetilglucósido	Como malvidín-3- <i>O</i> -glucósido		
Cianidín-3- <i>O</i> -acetilglucósido	Como malvidín-3- <i>O</i> -glucósido		
Petunidín-3- <i>O</i> -acetilglucósido	Como malvidín-3- <i>O</i> -glucósido		
Peonidín-3- <i>O</i> -acetilglucósido	Como malvidín-3- <i>O</i> -glucósido		
Malvidín-3- <i>O</i> -acetilglucósido	Como malvidín-3- <i>O</i> -glucósido		
Cianidín-3- <i>O</i> -cumarilglucósido	Como malvidín-3- <i>O</i> -glucósido		
Petunidín-3- <i>O</i> -cumarilglucósido	Como malvidín-3- <i>O</i> -glucósido		
Peonidín-3- <i>O</i> -cumarilglucósido	Como malvidín-3- <i>O</i> -glucósido		
Malvidín-3- <i>O</i> -cumarilglucósido	Como malvidín-3- <i>O</i> -glucósido		
Malvidín-3- <i>O</i> -cafeoilglucósido	Como malvidín-3- <i>O</i> -glucósido		

<i>Derivados antociánicos</i>	<i>Conc. (mg/L)</i>	<i>Ecuación</i>	<i>r</i>
Como malvidín-3- <i>O</i> -glucósido	0 - 25	$y = 468620x - 50800$	0.9999
Vitisina A Mv-3- <i>O</i> -acetglc	Como malvidín-3- <i>O</i> -glucósido		
Vitisina A Pn-3- <i>O</i> -acetglc	Como malvidín-3- <i>O</i> -glucósido		
Vitisina B Mv-3- <i>O</i> -glc	Como malvidín-3- <i>O</i> -glucósido		
Vitisina B Pn-3- <i>O</i> -glc	Como malvidín-3- <i>O</i> -glucósido		
Vitisina B Pn-3- <i>O</i> -acetglc	Como malvidín-3- <i>O</i> -glucósido		
Mv-3- <i>O</i> -glc-metilmetileno-(epi)cat	Como malvidín-3- <i>O</i> -glucósido		
Mv-3- <i>O</i> -glc-metilmetileno-(epi)cat	Como malvidín-3- <i>O</i> -glucósido		
Mv-3- <i>O</i> -glc-metilmetileno-(epi)cat	Como malvidín-3- <i>O</i> -glucósido		
Pn-3- <i>O</i> -glc-metilmetileno-(epi)cat	Como malvidín-3- <i>O</i> -glucósido		
Pn-3- <i>O</i> -glc-metilmetileno-(epi)cat	Como malvidín-3- <i>O</i> -glucósido		
Mv-3- <i>O</i> -acetglc-metilmetileno-(epi)cat	Como malvidín-3- <i>O</i> -glucósido		
Mv-3- <i>O</i> -acetglc-metilmetileno-(epi)cat	Como malvidín-3- <i>O</i> -glucósido		

<i>Ácidos hidroxibenzoicos</i>	<i>Conc. (mg/L)</i>	<i>Ecuación</i>	<i>r</i>
Ácido gálico	0 - 40	$y = 316113x - 467108$	0.9798
Ácido protocatéquico	0 - 50	$y = 155375x + 4488$	0.9999
Ácido vanílico	0 - 50	$y = 185632x + 47096$	0.9999
Ácido sirínico	0 - 50	$y = 338041x - 19144$	0.9999

<i>Ácidos hidroxicinámicos</i>	<i>Conc. (mg/L)</i>	<i>Ecuación</i>	<i>r</i>
Ácido cafeico	0 - 50	$y = 560410x - 176646$	0.9995
Ácido <i>p</i> -cumárico	0 - 50	$y = 873905x - 858791$	0.9942
Ácido ferúlico	0 - 50	$y = 483549x + 39878$	0.9999

<i>Ésteres de ácidos hidroxicinámicos</i>	<i>Conc. (mg/L)</i>	<i>Ecuación</i>	<i>r</i>
Ácido <i>c</i> -caftárico	Como ácido cafeico		
Ácido <i>t</i> -caftárico	Como ácido cafeico		
Ácido <i>c</i> -cutárico	Como ácido <i>p</i> -cumárico		
Ácido <i>c</i> -cutárico	Como ácido <i>p</i> -cumárico		
Ácido <i>c</i> -feftárico	Como ácido ferúlico		
Ácido <i>c</i> -feftárico	Como ácido ferúlico		

<i>Flavan-3-oles</i>	<i>Conc. (mg/L)</i>	<i>Ecuación</i>	<i>r</i>
(+)-Catequina	0 - 100	$y = 59582x - 11735$	0.9999
(-)-Epicatequina	0 - 200	$y = 56424x + 54.7$	0.9999
Procianidina B1	Como (+)-catequina		
Procianidina B2	Como (+)-catequina		
Procianidina B3	Como (+)-catequina		
Procianidina B4	Como (+)-catequina		
Epigallocatequín galato	0 - 25	$y = 107832x - 14218$	0.9999
Epicatequín galato	0 - 20	$y = 97627x - 14766$	0.9998
B2-3- <i>O</i> -galato	Como (+)-catequina		
B2-3- <i>O'</i> -galato	Como (+)-catequina		
B1-3- <i>O</i> -galato	Como (+)-catequina		
Trímero 1	Como (+)-catequina		
Trímero 2	Como (+)-catequina		
Trímero 3	Como (+)-catequina		
Trímero 4	Como (+)-catequina		
Tetrámero 1	Como (+)-catequina		
Tetrámero 2	Como (+)-catequina		

<i>Flavonoles</i>	<i>Conc. (mg/L)</i>	<i>Ecuación</i>	<i>r</i>
Miricetina	0 - 40	$y = 189285x - 30929$	0.9988
Quercetina	0 - 40	$y = 233575x - 188180$	0.9988
Laricitrina	Como quercetín-3- <i>O</i> -glucósido		
Kaempferol	0 - 34	$y = 258511x - 472080$	0.9756
Isorhamnetina	Como quercetín-3- <i>O</i> -glucósido		
Siringetina	Como quercetín-3- <i>O</i> -glucósido		
Quercetín-3- <i>O</i> -glucósido	0 - 42	$y = 115173x - 46517$	0.9996
Quercetín-3- <i>O</i> -galactósido	0 - 32	$y = 54297x - 4294$	0.9999
Quercetín-3- <i>O</i> -glucurónido	Como quercetín-3- <i>O</i> -glucósido		
Kaempferol-3- <i>O</i> -glucósido	Como kaempferol		
Kaempferol-3- <i>O</i> -glucurónido	Como kaempferol		
Isorhamnetín-3- <i>O</i> -glucósido	Como quercetín-3- <i>O</i> -glucósido		
Miricetín-3- <i>O</i> -glucósido	Como miricetina		
Laricitrín-3- <i>O</i> -glucósido	Como quercetín-3- <i>O</i> -glucósido		
Siringetín-3- <i>O</i> -glucósido	Como quercetín-3- <i>O</i> -glucósido		

<i>Compuestos Poliméricos</i>	<i>Conc. (mg/L)</i>	<i>Ecuación</i>	<i>r</i>
Como ácido gálico	0 - 100	$y = 151758x - 175259.3$	0.9988

<i>Polímeros Coloreados</i>	<i>Conc. (mg/L)</i>	<i>Ecuación</i>	<i>r</i>
Como malvidín-3- <i>O</i> -glucósido	0 - 100	$y = 275756x - 350112$	0.9993

## PROCEDIMIENTOS ESTADÍSTICOS

Se han realizado sobre el triplicado de las muestras análisis de correlación y análisis multivariantes de componentes principales y discriminantes, usando el programa estadístico Statgraphics Statistical (Statistical Graphics Corp. V 5.0).

## ANÁLISIS SENSORIAL

Para evaluar la calidad de los vinos dulces obtenidos en el presente trabajo, se ha realizado un análisis sensorial de los mismos basado en las tres pruebas que se describirán a continuación. Se sometieron a análisis los vinos dulces de las cuatro variedades estudiadas tras un proceso de maceración de 48 horas, con y sin tratamiento de envejecimiento acelerado con virutas de roble, a tiempo cero y tras un año de estabilización en botella.

El jurado estuvo compuesto por 14 catadores, dos de ellos jueces expertos especializados en la cata de vinos dulces. Previamente a la realización de las pruebas se expuso a los catadores el problema a resolver, disponiendo cada uno de una ficha similar a la que se muestra a continuación.

**CATA DE VINOS TINTOS DULCES**

Nombre: \_\_\_\_\_

Fecha: \_\_\_\_\_

**Prueba 1:** Puntúe cada uno de estos vinos por su aroma y por su sabor.

a) *Aroma*

	<i>Indeseable</i>	<i>Aceptable</i>	<i>Deseable</i>			
221	1	2	3	4	5	6
682	1	2	3	4	5	6
172	1	2	3	4	5	6
334	1	2	3	4	5	6
280	1	2	3	4	5	6
133	1	2	3	4	5	6
025	1	2	3	4	5	6
737	1	2	3	4	5	6

b) *Sabor*

	<i>Indeseable</i>	<i>Aceptable</i>	<i>Deseable</i>			
221	1	2	3	4	5	6
682	1	2	3	4	5	6
172	1	2	3	4	5	6
334	1	2	3	4	5	6
280	1	2	3	4	5	6
133	1	2	3	4	5	6
025	1	2	3	4	5	6
737	1	2	3	4	5	6

**Prueba 2:** Puntúe cada uno de estos vinos por su color.

	<i>Indeseable</i>	<i>Aceptable</i>	<i>Deseable</i>			
534	1	2	3	4	5	6
098	1	2	3	4	5	6
122	1	2	3	4	5	6
378	1	2	3	4	5	6
220	1	2	3	4	5	6
304	1	2	3	4	5	6
056	1	2	3	4	5	6
889	1	2	3	4	5	6

**Prueba 3:** Examine cada grupo de tres vinos. Rodee con un círculo la clave del vino que considera distinto. Es indispensable que señale uno de los tres.

**Grupo 1**

A	B	C
---	---	---

**Grupo 2**

A	B	C
---	---	---

**Grupo 3**

A	B	C
---	---	---

**Grupo 4**

A	B	C
---	---	---

**Grupo 5**

A	B	C
---	---	---

**Grupo 6**

A	B	C
---	---	---



El análisis sensorial se llevó a cabo en una sala termostaticada a 20 °C, utilizando catavinos homologados según la norma UNE 87022:1992. Durante todo el estudio, los catavinos estuvieron perfectamente señalizados y tapados para evitar la pérdida de propiedades organolépticas de los vinos. Las pruebas se realizaron a media mañana, fuera del horario de las comidas. Las muestras se conservaron a 20 °C hasta el momento de su análisis.

**Prueba 1.** Se llevó a cabo una prueba de aceptación y evaluación de aroma y sabor utilizando el método de escalas, conforme a la norma UNE-ISO 4121:2006 (Análisis sensorial. Directrices para la utilización de escalas de respuestas cuantitativas). Para ello, se utilizó una escala de tres grados y seis puntuaciones: indeseable (1-2), aceptable (3-4) y deseable (5-6). Los vinos se presentaron en catavinos negros, para evitar que el color de los mismos pudiera influir sobre la puntuación de aroma y sabor. En primer lugar se analizaron los vinos de las cuatro variedades que no habían sido sometidos a envejecimiento acelerado con virutas de roble y posteriormente los cuatro vinos envejecidos, intentando de esta forma que las percepciones organolépticas debidas a la madera no enmascarasen otros atributos del resto de muestras.

**Prueba 2.** Se efectuó una evaluación del color de acuerdo a la norma anterior, utilizando para ello las mismas puntuaciones de la prueba 1. En este caso, las muestras se presentaron en catavinos transparentes, en distinto orden y con diferente código a la prueba anterior, con el fin de que los catadores no estuviesen predispuestos por los resultados obtenidos antes.

**Prueba 3.** Se realizó una prueba triangular según la norma UNE-EN ISO 4120:2008 (Análisis sensorial. Metodología. Prueba triangular), donde los catadores fueron preguntados por la similitud entre muestras (encontrar la diferente). En este caso sólo se compararon los vinos que no habían estado en contacto con virutas, intentando encontrar las diferencias de acuerdo a las características varietales de cada uno de los ellos.

*Séchage des raisins rouges en  
chambre en conditions contrôlées*

---



## INTRODUCTION

Le processus de séchage des raisins provoque leur brunissement, à travers deux voies, des réactions enzymatiques et non enzymatiques (Ramshaw and Hardy, 1969; Karadeniz *et al.*, 2000). Les enzymes polyphénoloxydases (PPO) provoquent la formation de pigments bruns appelés mélanines, formés lorsque les enzymes sont en contact avec leurs substrats, les composés phénoliques, en particulier les esters des acides hydroxycinnamiques (Gunata *et al.*, 1987). Dans les raisins sains, les PPO sont séparées des polyphénols, mais avec les dommages, comme les dégradations physiques dans les tissus produits pendant le séchage des raisins, les enzymes sont mises en contact avec leurs substrats, et les réactions de brunissement commencent (Cheynier and Moutounet, 1992).

De plus, on connaît le brunissement produit par la réaction de Maillard, réaction non enzymatique qui induit la formation de composés colorés appelés mélanoïdines à partir de groupes carbonyles et d'amines libres (Kim and Lee, 2008a). La présence d'acides aminés dans les raisins et l'augmentation de concentration de monosaccharides pendant le passerillage induit un changement de couleur due à la formation de ces composés, particulièrement effectif à des températures supérieures à 50 ° C (Morales and Jiménez-Pérez, 2001).

Le passerillage au soleil est une technique qui a toujours été utilisée dans l'appellation d'origine Montilla-Moriles pour l'élaboration des vins blancs doux Pedro Ximénez (Ruiz *et al.*, 2010). Ces vins sont caractérisés par une couleur acajou foncé résultante de réactions de brunissement qui se produisent pendant les 5-10 jours du passerillage des raisins au soleil (Serratos *et al.*, 2008a).



Récemment, dans cette zone de production, on a commencé à sécher des raisins rouges avec la même méthode pour produire des vins rouges doux. L'inconvénient est que les tons bruns résultants des diverses réactions de brunissement masquent la couleur et ces vins ne sont pas bien acceptés sur le marché.

En outre, le passerillage traditionnel au soleil est fortement dépendant des conditions environnementales et quelques années, une grande partie de la récolte a été perdue à cause de la pluie. De plus, pour le séchage, les raisins sont étalés sur de longues bandes de plastique alimentaire sur le terrain, ce qui signifie que les baies sont particulièrement vulnérables à la contamination par des champignons tels que *Botrytis cinerea* et *Aspergillus Niger*. En conditions appropriées, ces champignons peuvent produire l'ochratoxine A, toxine cancérigène, néphrotoxique, immunotoxique et éventuellement neurotoxique. À cet égard, plusieurs auteurs ont constaté que certains vins doux Pedro Ximénez contiennent des concentrations d'ochratoxine A plus élevées que les valeurs autorisées (Hernández *et al.*, 2006; Valero *et al.*, 2006; Serratos *et al.*, 2010). En outre, la rotation quotidienne des grappes étendues au soleil pour obtenir un séchage uniforme entraîne un coût élevé de main-d'œuvre. Ainsi, pendant les dernières années, le passerillage contrôlé des raisins a été étudié

pour obtenir ces vins doux (Serratosa *et al.*, 2008b; Ruiz *et al.*, 2010). Bien que l'énergie nécessaire pour ces systèmes soit chère, la déshydratation des raisins en chambre à température contrôlée est une méthode rapide, facile d'utilisation et qui réduit considérablement le temps de séchage (Serratosa, 2009)

D'autre part, les raisins sont très appréciés pour leur haut contenu en composés phénoliques, qui contribuent à la qualité et à la stabilité de la couleur des vins, et sont responsables de l'amertume et l'astringence (García-Puente Rivas *et al.*, 2006; Parpinello *et al.*, 2009). Dans les dernières années, l'intérêt pour les composés phénoliques a considérablement augmenté en raison de leurs effets bénéfiques pour la santé humaine. À cet égard, il a été montré que les composés phénoliques inhibent l'oxydation des lipoprotéines de faible densité humaine (Frankel *et al.*, 1995), qu'ils possèdent des effets antioxydants et radioprotecteurs (Castillo *et al.*, 2000), et qu'ils préviennent des cataractes (Yamakoshi *et al.*, 2002), des maladies neurodégénératives, des maladies cardiovasculaires et du cancer (Germán *et al.*, 1997; Poudel *et al.*, 2008). Pendant la déshydratation des raisins, une concentration de tous les composés se produit, et finalement les raisins secs présentent des concentrations élevées de composés phénoliques (Karadeniz *et al.*, 2000) et ont ainsi des niveaux élevés de capacité antioxydante (Serratosa *et al.*, 2011).

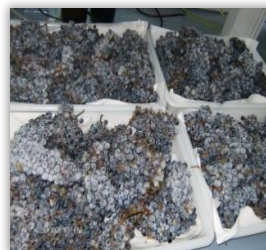
La concentration de composés phénoliques dépend du cépage de raisin, du type du sol, des conditions climatiques et des pratiques culturelles et technologiques (Pérez-Magariño and González-San José, 2004). Ces composés se retrouvent dans toutes les parties de la baie, les acides phénoliques se localisent principalement dans la pulpe et les flavonoïdes dans les pellicules, les graines et les tiges (Katalinic *et al.*, 2010). Dans les pellicules de raisins blancs, les flavanes, les proanthocyanidines et les acides hydroxycinnamiques sont les composés les plus abondantes (Rodríguez Montealegre *et al.*, 2006), tandis que dans les raisins rouges il y a aussi des flavonols et des anthocyanes (Figueiredo-González *et al.*, 2012). Les anthocyanes sont des molécules très étudiées parce qu'elles sont les responsables de la couleur rouge des vins (Glories, 1984), et elles sont extraites des pellicules au moût ou vin pendant le processus de vinification (Gambacorta *et al.*, 2011; Fragoso *et al.*, 2011). Lorsque les raisins sont séchés, les parois cellulaires les plus internes des pellicules sont touchées par la déshydratation, donnant lieu à des changements structurels irréversibles dans la structure cellulaire (Margaris et Ghiaus, 2007) facilitant la diffusion des anthocyanes jusqu'à la pulpe. En conséquence, les moûts obtenus de raisins secs ont une couleur rouge importante (Márquez *et al.*, 2012a).

L'objectif de l'étude présente est optimiser l'étape de passerillage en chambre de séchage à température et humidité contrôlées. Les cépages Merlot, Syrah, Tempranillo et Cabernet Sauvignon cultivés dans le climat chaud de l'Andalousie, pour élaborer des vins rouges doux monovariétaux, seront étudiés. Pour cela, la couleur et les composés phénoliques des moûts seront étudiés afin d'obtenir une couleur rouge typique de ces moûts en parallèle d'une diminution de la couleur brun caractéristique du séchage.

## MATÉRIEL EXPÉRIMENTAL

L'étude a été réalisée avec des raisins *Vitis vinifera* L. cv. Merlot, Syrah, Tempranillo et Cabernet Sauvignon cultivés dans la région de l'appellation d'origine Montilla-Moriles pour le millésime 2009. Ces cépages ont été choisis parce qu'ils sont les plus répandus dans la région et la plupart des vins rouges sont élaborés à partir de ceux-ci. Comme critère pour la vendange, l'état de maturité utilisé pour la vinification industrielle a été choisi. Tous les cépages de raisins ont été récoltés en Août: le 11 pour le Merlot et le Tempranillo, le 20 Août pour la Syrah, et le 24 Août pour le Cabernet Sauvignon. Les échantillons ont été homogénéisés, étiquetés et congelés à -18 °C en lots de 5 Kg.

Avant le passerillage en chambre, les raisins ont été maintenus à 25 °C pendant 24 heures afin d'assurer une complète décongélation. 30 Kg de raisins ont été ensuite introduits dans une chambre de séchage (Frisol Climatronic) répartis uniformément dans des bacs (11 Kg/m<sup>2</sup> pour le Merlot et la Syrah, 13 Kg/m<sup>2</sup> pour le Cabernet Sauvignon et 19 Kg/m<sup>2</sup> pour le Tempranillo). Bien que la répartition des grappes dans la chambre était identique pour les quatre cépages, les différences entre les valeurs précédents sont expliquées par la différent taille moyenne des grappes selon le cépage. Ce paramètre est une caractéristique ampélographique qui permet de différencier les cépages de raisins.



Le taux d'humidité à l'intérieur de la chambre a été fixé à une valeur initiale de 20% et la température de l'air a été maintenue constante à 40 °C. Cette température a été choisie parce que c'est la température ambiante lors du passerillage traditionnel au soleil. Le processus a été terminé quand la concentration de sucres réducteurs était approximativement de 320 g/L. La chambre de séchage utilisée dans l'étude ainsi qu'un schéma de son fonctionnement sont montrés ci-dessous:



Pendant le séchage des raisins, la mesure quotidienne des sucres réducteurs a été réalisée par réfractométrie et la perte de poids due à l'évaporation de l'eau a été mesurée grâce à deux échantillons de contrôle situés à différentes hauteurs de la chambre. En outre, chaque jour, un échantillon représentatif de raisins a été prélevé et pressé avec une presse verticale similaire à celles utilisées en industrie pour la production de vins doux Pedro Ximénez. Les grappes ont été étendues et deux cycles

de pressurage jusqu'à une pression maximale de 300 bar ont été réalisés, en remuant les grappes entre les deux cycles. Les rendements de volume de moût versus le poids de raisins frais ont été de 0.16 L/Kg pour le Merlot, 0.17 L/Kg pour le Tempranillo et 0.18 L/Kg pour la Syrah et le Cabernet Sauvignon. Le moût obtenu a été centrifugé à 5000 rpm pendant 5 minutes et filtré, avant de faire les différentes analyses.



Le diagramme ci-dessous montre le processus d'obtention de moûts de raisins secs des cépages Merlot, Syrah, Tempranillo et Cabernet Sauvignon.



## RÉSULTATS ET DISCUSSION

### Caractérisation des raisins

Le cépage Merlot est originaire de Bordeaux (France) mais, de nos jours, il est réparti dans toutes les régions viticoles espagnoles.

Les ceps de cette variété ont une vigueur moyenne-forte. Ils sont très fertiles et très résistants aux conditions météorologiques défavorables, bien qu'ils ne s'adaptent pas bien à la sécheresse et sont très affectés par les gelées printanières. Les baies sont généralement de petite taille, bleues foncées, avec une pulpe molle et sucrée, à partir de laquelle on peut obtenir des vins monovariétaux peu tanniques et avec une acidité faible, vieillissant assez rapidement.



L'origine du cépage Syrah a toujours été considérée ambiguë. Il n'est pas connu si elle provient de la Perse ancienne ou de la vallée du Rhône française. Récemment, des chercheurs de l'Université de Californie ont trouvé, grâce à des tests ADN, que ce cépage était à l'origine d'une croisée accidentelle entre deux cépages produits naturellement dans les Alpes: la *mondeuse blanche* et la *dureza*. Actuellement, le cépage Syrah est cultivé dans le monde entier, mais c'est en France et en Australie que leurs vins les plus célèbres se retrouvent. Dans le domaine de l'appellation d'origine Montilla-Moriles, la Syrah est le cépage rouge avec le plus d'hectares cultivés, et le deuxième dans toute la Communauté Autonome d'Andalousie.



Les ceps de Syrah ont besoin de beaucoup de soleil et de températures élevées. Bien qu'ils soient très résistants aux maladies, les rendements sont généralement faibles. Les grappes sont longues et cylindriques et sont composées de raisins de taille moyenne ou petite. La couleur s'étend du violet clair au violet-noir d'une grande intensité. Selon le climat de la zone de culture, les vins résultants ont des caractéristiques différentes. Ils présentent une acidité assez élevée et des arômes typiques de poivre noir, de cassis et de réglisse quand les ceps sont cultivés dans les régions froides. Les vins résultants de zones chaudes ont plus de structure et une grande concentration d'arômes de mûres, prunes et cassis.

L'origine du cépage Tempranillo est supposée en Bourgogne française, en raison de sa similitude avec le Pinot Noir. Actuellement le Tempranillo est le cépage le plus étendu en Espagne, cultivé dans la plupart des régions viticoles du pays et avec des synonymes différents selon la région. De plus, le Tempranillo est le cépage de raisin implanté sur le plus de superficie en Andalousie.

Les ceps de Tempranillo sont, généralement, très sensibles aux épidémies et aux maladies et peu résistants à la sécheresse et





aux températures élevées. En plus, la maturation de ce cépage est assez courte, ce qui est à l'origine de son nom. Les baies sont sphériques et de couleur pourpre-noir. Les vins produits sont alors équilibrés, aromatiques et de qualité, idéaux pour des vieillissements longs en raison de leur bonne structure tannique. En outre, grâce à leurs arômes et goûts fruités, les vins jeunes obtenus sont très demandés. Les meilleurs vins du cépage Tempranillo sont habituellement obtenus dans des zones avec une forte incidence du soleil et des températures nocturnes basses, parce que ces conditions permettent d'obtenir plus d'acidité et de degré alcoolique.

Le cépage Cabernet Sauvignon provient de Bordeaux (France), mais il est actuellement diffusé dans toutes les parties chaudes du monde, parce qu'il s'adapte bien aux climats tempérés et à humidité faible.



Les ceps sont vigoureux et avec des rendements peu élevés. Les baies sont petites, rondes, de couleur intense et avec des pellicules épaisses. Les vins qui résultent de ce cépage sont caractérisés par une concentration élevée de tanins et une couleur très stable, très appropriée pour obtenir des vins avec un potentiel de vieillissement. Dans ce cépage, l'arôme végétal des raisins et des vins est particulier, en raison de la forte concentration de pyrazines.

Tout d'abord, les quatre cépages étudiés ont été caractérisés qualitativement par un certain nombre de caractéristiques ampélographiques, qui permettent de les différencier entre eux. Les paramètres ampélographiques étudiés sont déterminés sur les différentes parties de la vigne (feuille jeune, feuille adulte, rameau, sarment, grappe et baie). Ceux de la grappe et de la baie qui peuvent influencer directement le séchage des raisins ont été sélectionnés (tableau 1.1).

		<i>Merlot</i>	<i>Syrah</i>	<i>Tempranillo</i>	<i>Cabernet Sauvignon</i>
<i>Grappe</i>	Taille	Moyenne	Moyenne	Moyenne-petite	Petite
	Compacité	Moyenne	Moyenne	Compacte	Moyenne-compacte
<i>Baie</i>	Taille	Petite	Petite-Moyenne	Petite	Petite
	Forme du profil	Elliptique-largue	Circulaire-elliptique	Circulaire	Circulaire
	Épaisseur des pellicules	Épaisse	Moyenne-grosse	Épaisse	Épaisse
	Consistance de la pulpe	Tendre-légèrement dure	Légèrement dure	Tendre	Légèrement dure

Tableau 1.1. Caractéristiques ampélographiques qualitatives de la grappe et de la baie pour les cépages rouges Merlot, Syrah, Tempranillo et Cabernet Sauvignon.

Les quatre variétés de raisins utilisées dans cette étude ont été aussi caractérisées par le mesure des paramètres de taille, d'acidité et de sucres des baies et quelques caractéristiques des pellicules, comme le pourcentage de poids par rapport au total de la baie, le teneur en eau, les sucres, l'acidité, l'indice de composés phénoliques totaux et les contenus en phénols bruns et rouges (absorbances à 420 et à 520 nm, respectivement). Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 1.2. Les raisins Tempranillo étaient le plus gros, suivis par ceux de Merlot et de Syrah, sans aucune différence significative entre eux. Les baies de Cabernet Sauvignon étaient les plus petites et avec le plus petit poids moyen. Le cépage Tempranillo a eu la plus faible concentration de sucres réducteurs (193 g/L), et les cépages Syrah et Cabernet Sauvignon ont eu le plus de sucres (215 g/L). C'était le cépage Merlot qui était le moins acide, avec des valeurs de 40.3 meq/L par rapport à 76.4, 90.4 et 160 meq/L par le Cabernet Sauvignon, la Syrah et le Tempranillo, respectivement.

	<i>Merlot</i>	<i>Syrah</i>	<i>Tempranillo</i>	<i>Cabernet Sauvignon</i>	
<i>Baie</i>	Poids moyen (g)	1.27±0.028	1.66±0.064	2.26±0.026	1.05±0.020
	Superficie (mm <sup>2</sup> )	4.54±0.070	4.56±0.228	6.51±0.212	3.77±0.066
	Volume (mm <sup>3</sup> )	0.920±0.020	0.927±0.073	1.57±0.077	0.700±0.017
	Superficie/Volume	4.92±0.030	4.93±0.125	4.13±0.072	5.40±0.028
	Sucres (g/L)	206±4.51	215±2.52	193±2.00	215±5.51
	Acidité (meq/L)	40.3±1.30	90.4±0.900	160±1.48	76.4±1.45
	<i>Peau</i>	% Poids	25.8±0.071	24.8±0.793	18.7±1.00
% Eau		71.6±0.963	75.7±0.353	74.7±0.756	75.5±0.448
Sucres (mg/g)		186±1.78	151±0.868	130±1.01	148±1.05
Acidité (meq/g)		0.051±0.001	0.072±0.002	0.036±0.042	0.065±0.001
I. Polyphénols		14.9±0.142	10.8±0.023	21.2±0.156	11.5±0.102
A <sub>420</sub> (u.a.)		0.168±0.001	0.108±0.001	0.153±0.001	0.112±0.002
A <sub>520</sub> (u.a.)		0.305±0.003	0.189±0.002	0.268±0.002	0.201±0.001

Tableau 1.2. Caractéristiques physiologiques et composition chimique de baies et de pellicules des cépages Merlot, Syrah, Tempranillo et Cabernet Sauvignon.

En ce qui concerne les caractéristiques de la pellicule, le tableau montre que le cépage plus grand (Tempranillo) avait le plus faible pourcentage de pellicule au rapport au poids total de la baie, de même pour la relation surface/volume. En outre, les pellicules de raisins Merlot contenaient une proportion légèrement inférieure d'eau (71,6% en solide sec) par rapport à 74.7-75.7% pour les trois autres variétés. C'était aussi les pellicules des raisins Merlot qui étaient significativement les plus sucrées (186 mg/g), les moins acides (0,051 meq/g), et avec la proportion plus élevée de composés bruns (A<sub>420</sub> de 0,168 u.a.) et de pigments rouges (0.305 u.a. à 520 nm). Toutefois, c'était le cépage Tempranillo qui a montré la teneur la plus élevée en polyphénols totaux (21.2 u.a.).

Une analyse en composantes principales (ACP) a été réalisée afin d'observer mieux la relation entre les paramètres mesurés (figure 1.1). Ce graphique montre le plan formé par les deux premières composantes qui, ensemble, représentent 94.7% de la variance totale du processus. Les quatre cépages de raisins ont été séparés sur la

carte en trois domaines différents, le premier constitué par les raisins Tempranillo, avec les scores les plus élevés pour la composante 1. Le Cabernet Sauvignon et la Syrah présentent les scores les plus faibles sur la composante 1 et les plus importants pour la composante 2. Un troisième groupe constitué des raisins de Merlot montrent les plus faibles scores pour la composante 2.

On peut voir que la composante 1 représente 59,8% de la variance totale du processus. Sur celle-ci, ont influé, en ordre décroissant, la surface des baies (-0.355), le volume (0.354), la relation surface/volume (-0.353), les polyphénols totaux des pellicules (0.341), le sucre des baies (-0.331), le pourcentage de poids de la peau (-0.329) et le poids de la baie (0.327). Par conséquent, cette composante est liée à la morphologie du grain, séparant les raisins Tempranillo des autres cépages.

Les variables les plus influentes sur la composante 2 (34.9% de la variance) sont l'acidité (0.461), suivie par le pourcentage d'eau de la pellicule (0.448), les sucres de la pellicule (-0.398), A<sub>520</sub> (-0.395) et A<sub>420</sub> (-0.377). Par conséquent, cette composante est principalement liée à des caractéristiques chimiques, en particulier de la pellicule, et elle est capable de différencier les cépages Merlot des autres.

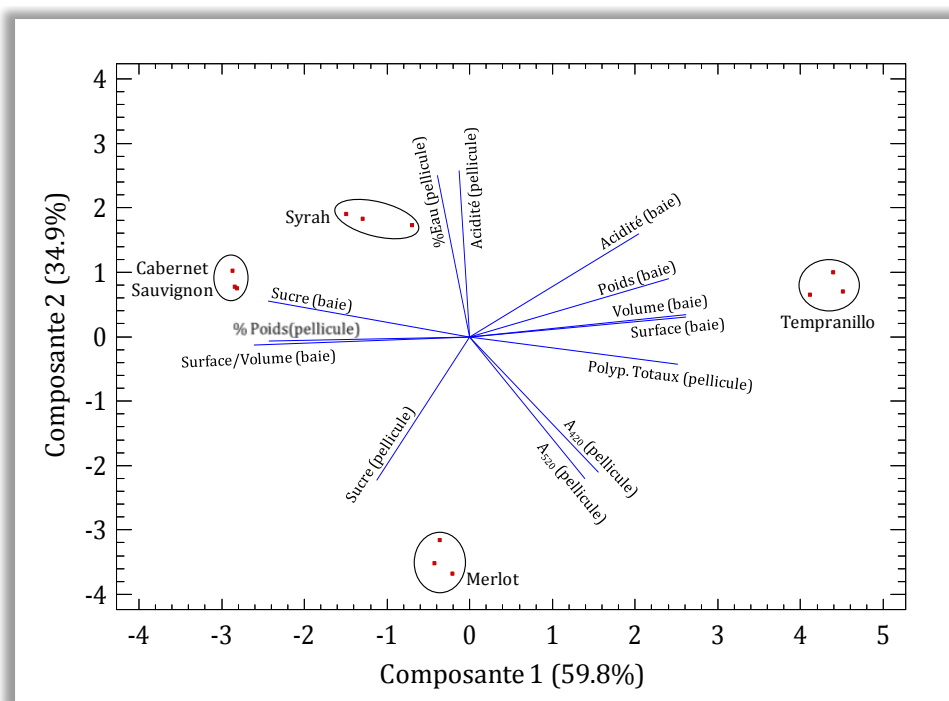


Figure 1.1. Analyse des composantes principales effectuée avec les paramètres mesurés dans les pellicules et les baies pour les cépages Merlot, Syrah, Tempranillo et Cabernet Sauvignon.

D'autre part, à travers l'angle formé par les différents vecteurs de l'ACP, on peut voir les variables qui sont les plus corrélées. Pour confirmer cette corrélation, le calcul des valeurs de r de Pearson et le degré d'importance a été fait. Ainsi, à partir d'un point de vue statistique, les raisins contenant le plus de phénols rouges dans la

pellicule ont également les plus de composés brunes ( $r=0.996$ ) et la plus faible teneur en eau ( $r=-0.857$ ). En outre, les pellicules plus sucrées ont montré moins d'acidité ( $r=-0.769$ ). D'autre part, les baies avec plus de surface avaient les plus grandes poids ( $r=0.945$ ), la relation surface/volume la plus faible ( $r=-0.992$ ), et en plus le pourcentage de pellicule le plus petit ( $r=-0.920$ ), la teneur en sucre la plus faible ( $r=-0.869$ ) et l'acidité la plus élevée ( $r=0.824$ ).

### Processus de séchage des raisins

Les moûts de raisins frais ont montré une concentration initiale de sucres réducteurs variant de 193 g/L pour le Tempranillo à 215 g/L pour la Syrah et le Cabernet Sauvignon. Ces concentrations ont augmenté progressivement au cours du séchage jusqu'à des valeurs comprises entre 309 et 335 g/L pour le Cabernet Sauvignon et pour le Merlot, respectivement (figure 1.2). L'évolution des sucres montre que le processus de séchage des quatre cépages était différent, et que les raisins Syrah et Merlot ont mis moins de temps pour arriver à la concentration finale (37 et 48 heures, respectivement) que les deux autres variétés (72 heures). Ce comportement différent pourrait s'expliquer en fonction des caractéristiques physiologiques des grappes précédentes. À ce sujet, l'épaisseur des pellicules des baies et la compacité moyenne-compacte et compacte pour le Cabernet Sauvignon et le Tempranillo respectivement, pourraient expliquer la durée plus importante pour atteindre la concentration en sucres réducteurs finale de ces deux cépages. En conséquence, l'évaporation de l'eau au cours du passerillage serait plus difficile.

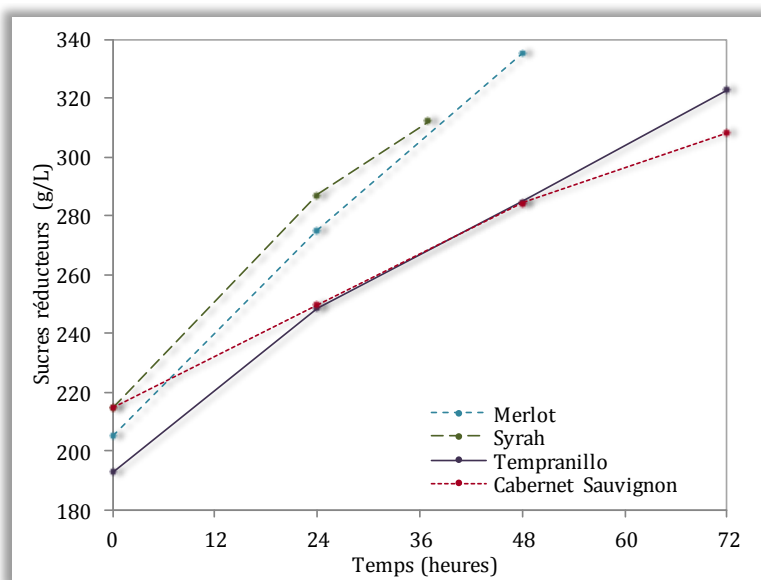


Figure 1.2. Évolution des sucres (g/L) pendant le séchage des raisins rouges Merlot, Tempranillo, Syrah et Cabernet Sauvignon à 40 °C.

Pour obtenir les courbes de séchage des raisins, les valeurs moyennes de matière sèche des raisins ont d'abord été calculées (tableau 1.3). Pour cela, une quantité exacte de raisins de chaque cépage a été introduite dans une étuve à 85 °C et la perte de poids jusqu'à une valeur constante a été mesurée.

Cépage	Matière sèche (%)
Merlot	26.6
Syrah	27.3
Tempranillo	18.3
Cabernet Sauvignon	29.5

Tableau 1.3. Pourcentages de matière sèche des raisins rouges des cépages Merlot, Tempranillo, Syrah et Cabernet Sauvignon.

La figure 1.3 montre les courbes de séchage obtenues en teneur en humidité (relation entre Kg d'eau et Kg de matière sèche) au cours du temps. Le cépage Tempranillo avait l'humidité la plus élevée pendant tout le séchage, ce qui pourrait s'expliquer par la faible teneur en matière sèche de ces raisins. Les courbes de séchage pour les trois autres cépages étaient assez similaires. Toutefois, pour le Cabernet Sauvignon, la teneur en humidité a dû beaucoup diminuer (jusqu'à 0.763 Kg d'eau/Kg de matière sèche) pour atteindre la concentration de sucres réducteurs souhaitée, et par conséquent plus de temps a été nécessaire.

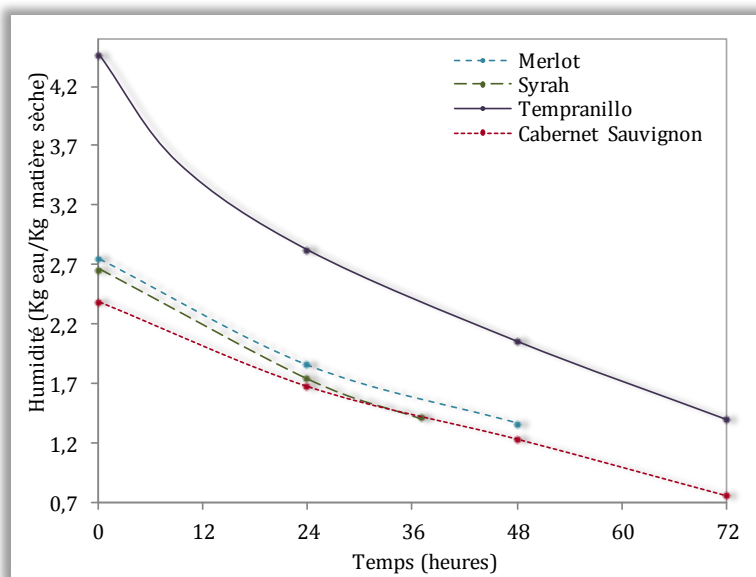


Figure 1.3. Courbes de séchage des raisins rouges Merlot, Tempranillo, Syrah et Cabernet Sauvignon à 40 °C.

Suite à la perte d'eau par évaporation, des augmentations des concentrations de sucres réducteurs se sont produites, indiquées dans le tableau 1.4. Ces facteurs de

concentration peuvent être considérés comme une référence de l'augmentation d'autres paramètres au cours du passerillage des raisins, car la diminution de leur concentration due à leur participation aux réactions de caramélisation ou à la réaction de Maillard a dû être insignifiante.

<i>Cépages</i>	<i>Facteur de concentration</i>
Merlot	1.6
Syrah	1.5
Tempranillo	2.3
Cabernet Sauvignon	1.9

Tableau 1.4. Facteurs de concentration des sucres calculés après le séchage des raisins rouges Merlot, Tempranillo, Syrah et Cabernet Sauvignon à 40 °C.

Le processus de séchage en chambre réduit le temps de séchage en comparaison au passerillage traditionnel au soleil. Toutefois, on pourrait penser que le coût économique de séchage en chambre de ces cépages pourrait dépasser le coût du passerillage traditionnel. Dans une étude antérieure réalisé par Serratos (2009), on a constaté que le coût d'un processus de séchage en chambre à 50 °C était du même ordre que si les raisins étaient séchés au soleil (1560 €/10000 Kg vs. 1640 €). Il faut également souligner que dans le passerillage au soleil le nombre de fois qu'on peut faire le séchage est limité par les conditions météorologiques et, quand un passerillage est fini, des raisins frais sont étendus une autre fois, le coût du travail est double. Cependant, les charges successives de la chambre ne comprennent que la dépense énergétique supplémentaire. Le calcul en considérant cela est beaucoup plus favorable pour le séchage en chambre que pour le passerillage au soleil (1688.8 €/20000 Kg vs. 3280 €).

### **Évolution de la couleur au cours du passerillage**

La figure 1.4 montre l'évolution de l'intensité colorante (IC), calculée comme la somme des absorbances à 420, 520 et 620 nm, des quatre cépages étudiés au cours du passerillage. Les raisins initiaux ont montré des valeurs de l'intensité colorante faibles, avec une absorbance à 420 nm supérieure à celle à 520 nm pour tous les cépages sauf pour le Merlot, qui a montré des valeurs pareils, indiquant que les moûts de raisins frais ont présenté une couleur rouge pâle correspondant à des cépages non teinturiers. En outre, les valeurs initiales de  $A_{620}$  étaient très petits (entre 0.066 u.a. pour le cépage Syrah et 0.262 u.a. pour le cépage Cabernet Sauvignon).

Au cours des premières 24 heures de séchage, l'accroissement de l'intensité colorante a été considérable, avec une augmentation de l'absorption à 520 nm en plus forte proportion que celle à 420 nm. La même tendance a été observée jusqu'à la deuxième journée de séchage pour les quatre cépages de raisins. L'augmentation de l'absorbance à 620 nm a été importante si on prend en compte les petites valeurs initiales mais, sa contribution à l'IC n'a pas été importante quelque soit le cépage considéré. Pour les cépages qui ont eu besoin de 72 heures pour le passerillage, le Tempranillo et le Cabernet Sauvignon, toutes les absorbances mesurées ont diminué à

partir de 48 heures de séchage. Cette réduction a été moins importante dans le moût de Cabernet Sauvignon, et bien que l'augmentation de l'IC ait été plus lentement au cours des premières heures, la valeur finale était quasi semblable à celle du moût de Tempranillo.

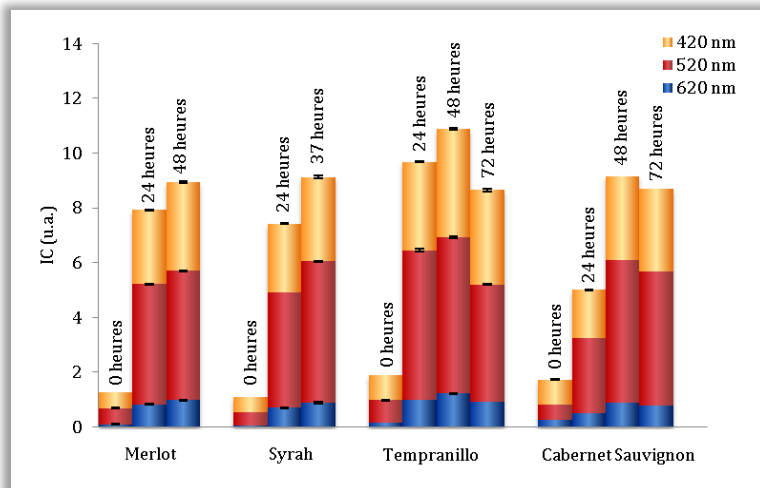


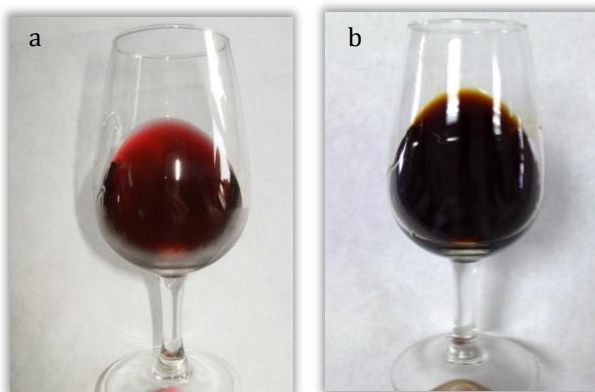
Figure 1.4. Évolution de l'intensité colorante (u.a.) des quatre cépages rouges étudiés au cours du séchage (moyenne et écart-type).

Les augmentations de la couleur rouge mesurées dans les moûts de raisins passerillés par rapport aux initiaux ont été comprises entre 5.1 fois pour le cépage Syrah et 10.6 pour le Tempranillo, indiquant une extraction des composés des pellicules. Cela pourrait s'expliquer par les dommages causés aux cellules de la pellicule pendant le séchage des raisins et la diffusion suivante de ces composés colorés de la pellicule des baies, où ils se trouvent naturellement, jusqu'à la pulpe.

En plus, le processus de séchage a produit des augmentations du brunissement des raisins mesuré par l'absorbance à 420 nm, comprises entre 3.3 fois pour le Cabernet Sauvignon et 5.7 fois pour la Syrah. Cela indique qu'une synthèse de pigments bruns aurait eu lieu, donnant une couleur brune au moût. Ces pigments sont formés par plusieurs types de réactions, comme le brunissement non enzymatique qui peut être dû à des réactions de Maillard et/ou à des réactions d'auto-oxydation, et les réactions de brunissement enzymatique qui se déroulent par l'enzyme polyphénoloxydase (PPO). De ces voies de brunissement, la réaction de Maillard a dû être dans ce cas moins importante que le reste des réactions de brunissement, parce que une température de 50 °C, à qu'elle est particulièrement favorisée (Rivero-Pérez *et al.*, 2002), n'a pas atteinte. La formation de composés bruns par le brunissement enzymatique (mélanines) est favorisée pour deux raisons. Tout d'abord, il convient de noter que les raisins étaient de cépages rouges, avec des concentrations de composés phénoliques en général, et d'acides hydroxycinnamiques en particulier, plus grande que celles des cépages blancs. En outre, en raison des modifications de la structure des pellicules au cours de la déshydratation, l'élasticité est perdue et le risque de rupture a augmenté. Comme conséquence, les cellules qui contenaient les enzymes PPO se sont

abimées, favorisant le contact entre les enzymes et leurs substrats et ainsi les réactions de brunissement.

Enfin, il faut considérer que, malgré le brunissement des raisins pendant le passerillage, la couleur rouge typique des cépages rouges n'a pas été masquée. À ce titre, les images ci-dessous comparent le moût obtenu à partir de raisins passerillés séchées en chambre (a), de couleur rouge vive, et un moût de raisins passerillés obtenus après séchage traditionnel au soleil (b), dans lequel les nuances brunes ont masqué la couleur rouge des anthocyanes.



La figure 1.5 montre l'évolution du paramètre couleur totale de pigments (WCA) au cours du processus de séchage des raisins des quatre cépages étudiés. Bien que ce paramètre soit aussi une mesure de l'absorbance à 520 nm, l'addition de HCl permet un déplacement de l'équilibre de toutes les formes d'anthocyanes présentes dans les échantillons vers la forme colorée flavylium. Par conséquent, bien que le WCA ne soit pas une mesure réelle au pH du moût, il est utile pour connaître la couleur potentielle des différents échantillons et les comparer.

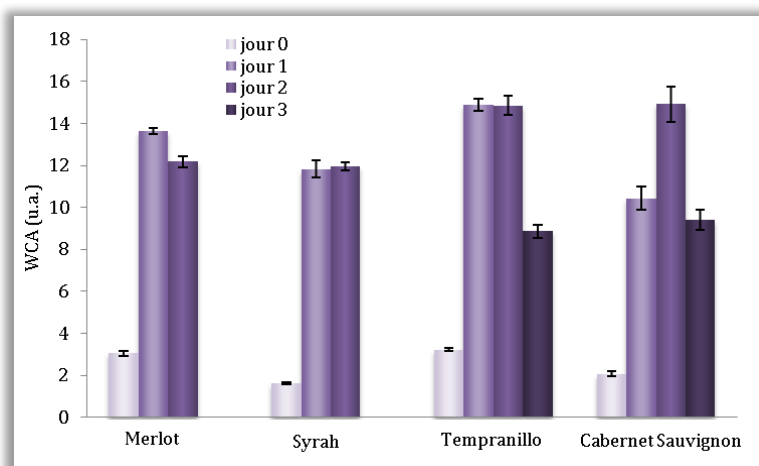


Figure 1.5. Évolution de la couleur totale des pigments (u.a.) des quatre cépages étudiés au cours du passerillage (moyenne et écart-type).



La figure 1.5 montre que tous les moûts de raisins frais ont eu une valeur faible (<3 u.a.), qui a augmenté dans les premières heures de séchage d'une manière similaire à l'évolution discutée pour l'absorbance à 520 nm. Dans les dernières heures de séchage, les valeurs de couleur totale des pigments ont diminué pour trois des variétés étudiées, tandis qu'aucun changement important n'a été observé pour la Syrah. Cette diminution peut être expliquée en raison des réactions de polymérisation et/ou dégradation dans lesquelles les composés colorés rouges auraient pu être impliqués.

L'évolution de la couleur des pigments polymérisés (PPC) des raisins au cours du processus de séchage est montrée dans la figure 1.6. Une augmentation considérable de ce paramètre des moûts des raisins initiaux et tout au long du processus de séchage peut y être vue. Ces hausses ont été plus importantes que les facteurs de concentration dus à la perte d'eau et indiqueraient que des réactions de polymérisation des composés colorés se sont produites pendant la déshydratation des baies. En ce sens, à la fin du processus, les cépages qui avaient mis plus de temps à sécher ont présenté les valeurs de PPC les plus grandes (1.27 u.a. pour le Tempranillo y 1.00 u.a. pour le Cabernet Sauvignon). Les réactions les plus probables qui ont eu lieu seraient principalement celles impliquant la polymérisation des anthocyanes avec des tanins, pour synthétiser des polymères colorés qui contribuent à la stabilité de la couleur au cours du temps (Soto-Vázquez *et al.*, 2010).

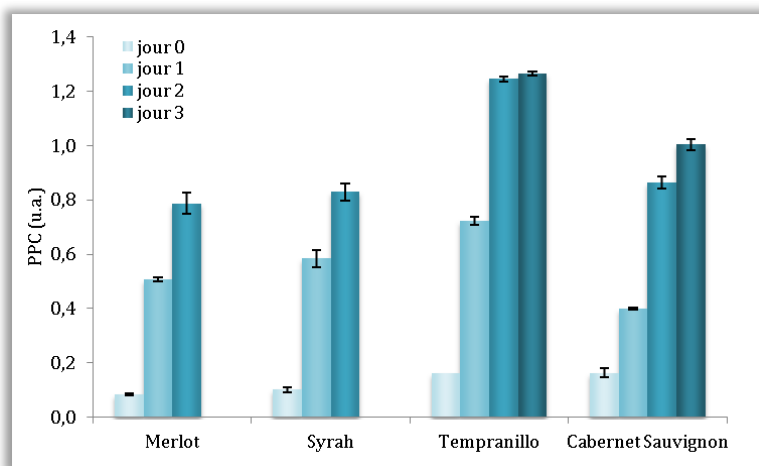


Figure 1.6. Évolution de la couleur de pigments polymériques (u.a.) des quatre cépages étudiés au cours du passerillage (moyenne et écart-type).

Afin d'observer l'influence que le processus de séchage exerce sur la couleur des raisins rouges, la figure 1.7 montre la représentation de l'espace CIELAB des moûts initiaux et finaux des quatre cépages étudiés en fonction de les coordonnées  $a^*$  (axe rouge-vert),  $b^*$  (axe jaune-bleu) et  $L^*$  (luminosité, blanc-noir). Tout d'abord, la figure présente des différences significatives entre les quatre cépages de raisins frais. Le moût Tempranillo était celui qui a montré les couleurs les plus rouges et les plus jaunes, et il était le plus sombre des quatre moûts analysés. Le processus de séchage a

causé, dans tous les cas, un rougissement important, un peu de jaunissement et un fort assombrissement des moûts, avec les changements les plus importants pendant les premières heures de séchage. En conséquence, des moûts beaucoup plus colorés sont obtenus avec les raisins passerillés, et le brunissement n'a pas été suffisant pour masquer les couleurs rouges souhaitables pour ce type de vins. Il est également important de considérer qu'avec le séchage des quatre cépages jusqu'à l'atteinte d'un même niveau de sucres, une homogénéité de leur couleur a été atteinte, même si au début leurs positions dans l'espace CIELAB étaient éloignées.

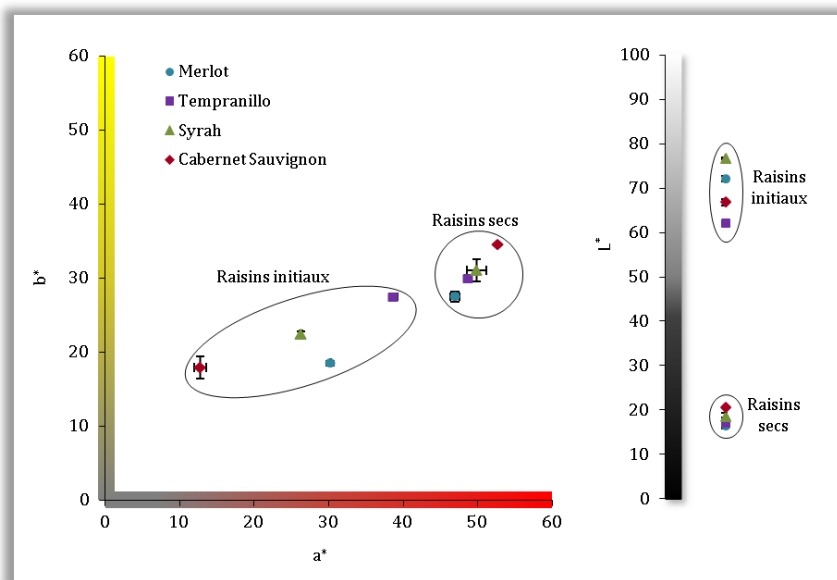


Figure 1.7. Espace CIELAB des moûts obtenus avant et après le séchage des quatre cépages étudiés (moyenne et écart-type).

Avec les valeurs des coordonnées CIELAB, la distance euclidienne ( $\Delta E$ ) entre deux points dans l'espace peut être calculée. Elle mesure les différences de couleur distinguées par l'œil humain entre les échantillons représentés par ces points. La distance euclidienne est définie en utilisant l'équation suivante :

$$\Delta E = \sqrt{\Delta a^1 + \Delta b^2 + \Delta L^2}$$

Selon certains auteurs (Martínez *et al.*, 2001; Pérez-Caballero *et al.*, 2003) deux échantillons de vins rouges peuvent être distingués par l'œil humain si la distance euclidienne calculée est supérieure à 3. À cet égard, les distances euclidiennes pour les moûts de chacun des cépages au cours du processus de passerillage ont été calculées (tableau 1.5). Pour les quatre cépages étudiés, les moûts initiaux étaient très différents aux moûts obtenus après un jour de séchage des raisins. Jusqu'à la fin du processus de séchage, les différences entre les moûts sont restées apparentes, mais de façon moins prononcée. Ainsi, pour les quatre cépages des raisins, le processus de séchage étudié a conduit, chaque jour, à des changements de couleur détectables visuellement.

Jours	0-1	1-2	2-3
Merlot	57.6	7.33	
Syrah	62.0	7.80	
Tempranillo	46.4	8.19	9.91
Cabernet Sauvignon	58.8	14.1	4.83

Tableau 1.5. Distances euclidiennes, pour les moûts des quatre cépages étudiés, obtenues les jours consécutifs au cours du passerillage.

De la même façon, les distances euclidiennes entre les moûts de cépages différents, avant et après le processus de séchage en chambre, ont été calculées (tableau 1.6). Les différences mesurées pour les moûts des raisins initiaux ont diminué en raison du passerillage. Les distances euclidiennes finales ont été inférieures à celles des moûts initiaux et, par conséquent, la couleur des moûts finaux a été plus similaire. Au vu des valeurs calculées, les moûts finaux des cépages Syrah et Tempranillo ne pourraient pas être différenciés visuellement tandis que les moûts Merlot et Tempranillo pourraient se distinguer avec difficulté.

	$\Delta E_{ab}^* initial$	$\Delta E_{ab}^* final$
Merlot-Syrah	7.13	5.07
Syrah-Tempranillo	19.8	2.15
Tempranillo-Cabernet Sauvignon	28.0	7.02
Merlot-Tempranillo	15.9	3.12
Merlot-Cabernet Sauvignon	18.2	10.0
Syrah-Cabernet Sauvignon	17.3	4.96

Tableau 1.6. Distances euclidiennes entre les moûts initiaux et finaux des quatre cépages de raisins.

Une analyse multivariable des composantes principales (ACP) a été réalisée avec tous les paramètres de couleur mesurés dans les moûts de raisins frais (moûts initiaux) et de raisins passerillés (moûts finaux) (figure 1.8). Les deux premières composantes ont représenté 96% de la variance totale du processus. La composante 1 a expliqué le plus de variance (89.9%) et tous les paramètres inclus dans cette analyse statistique ont influencé sur cette composante en proportions très similaires, selon l'équation ci-dessous:

$$Composante\ 1 = 0.424 * IC - 0.423 * L + 0.401 * a + 0.386 * b + 0.408 * WCA + 0.406 * PPC$$

Tout d'abord, on peut voir qu'il y a de grandes différences entre les moûts de raisins frais et de raisins secs, en fonction de la composante 1. La différence entre les moûts initiaux, et particulièrement celle du cépage Tempranillo par rapport aux autres moûts initiaux dépend seulement de la composante 2 de l'ACP, qui représente 6.1% de la variance. Après le processus de séchage, la couleur des moûts des quatre cépages a été homogénéisée et, par conséquent, les moûts finaux étaient très semblables. En ce qui concerne les paramètres étudiés dans cet ACP, on peut voir qu'il

y a une corrélation entre l'intensité colorante (IC), la couleur totale de pigments (WCA) et la couleur des pigments polymères (PPC).

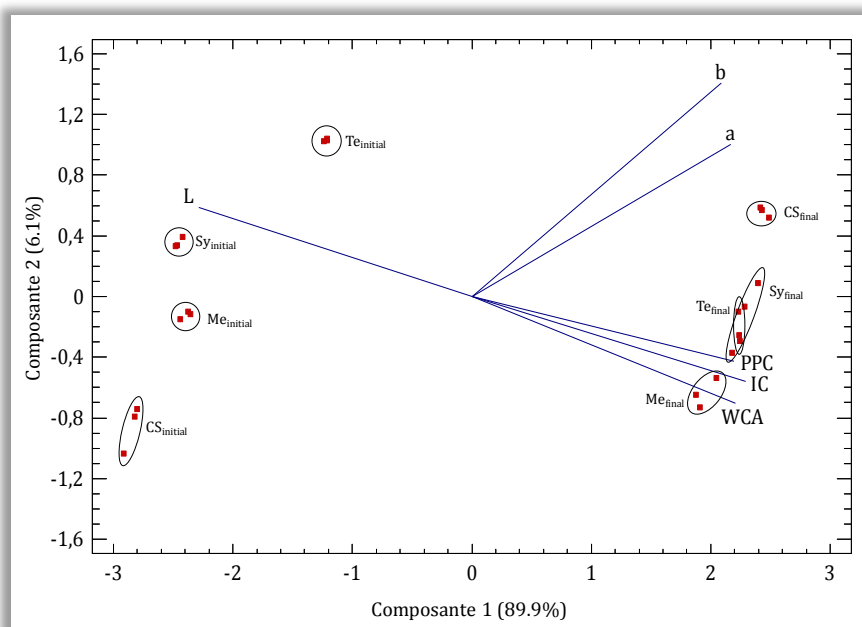


Figure 1.8. Analyse des composantes principales des moûts initiaux et finaux des quatre cépages selon les paramètres de couleur étudiés.

Pour terminer l'étude des paramètres de couleur, on peut conclure que, suite à la température pendant le séchage des raisins en chambre, les cellules de l'épiderme de la pellicule se sont cassées, permettant la diffusion des composés colorés jusqu'à la pulpe des raisins. Ainsi, la pulpe s'est trouvée colorée et la couleur rouge typique des vins rouges est apparue dans les moûts résultants. Par conséquent, la couleur de ces moûts peut être différenciée de celle obtenue avec des raisins secs après un passerillage au soleil, où les réactions de brunissement masquent les couleurs rouges. Si la couleur obtenue des moûts de raisins séchés en chambre est prise en compte, une étape de macération postérieure pour obtenir la coloration appropriée des vins futurs, ne serait pas nécessaire.

### Identification de vitisines et adduits de condensation d'anthocyanes et de flavanols au cours du passerillage des raisins

Au cours du passerillage des raisins en chambre à température contrôlée, la fraction de composés anthocyaniques a été analysée. L'apparition de certains composés qui n'étaient pas initialement prévus de détecter, compte tenu de l'absence de fermentation, a été observée. Ces dérivés anthocyaniques étaient des pyranoanthocyanes et des adduits de condensation d'anthocyanes et de flavanols à travers un pont méthylmetine.

Les pyranoanthocyanes ou composés de type vitisine sont des adduits d'une couleur rouge-orange résultants des réactions de condensation de certains composés comme l'acétaldéhyde ou l'acide pyruvique, sur les anthocyanes. Plus précisément, à partir des substitutions sur la position C4 des anthocyanes, des oligomères qui ne sont pas présents initialement dans les raisins apparaissent (Casassa and Catania, 2006). Par conséquent, le maximum d'absorption du spectre UV-Visible se déplace à une longueur d'onde proche de 490 nm, présentant ainsi des nuances rouge-orangées.

On peut différencier les vitisines de type A, qui sont les adduits résultantes de la réaction d'une anthocyanine avec l'acide pyruvique (Fulcrand *et al.*, 1998; Romero and Bakker, 2000) et les vitisines de type B, qui se forment par réaction de l'anthocyanane avec l'acétaldéhyde (Bakker *et al.*, 1997; Bakker and Timberlake 1997). Lorsque l'anthocyanane de départ est la malvidine-3-O-glucoside, les pyranoanthocyanes qui résultent se forment selon le mécanisme de la figure 1.9.

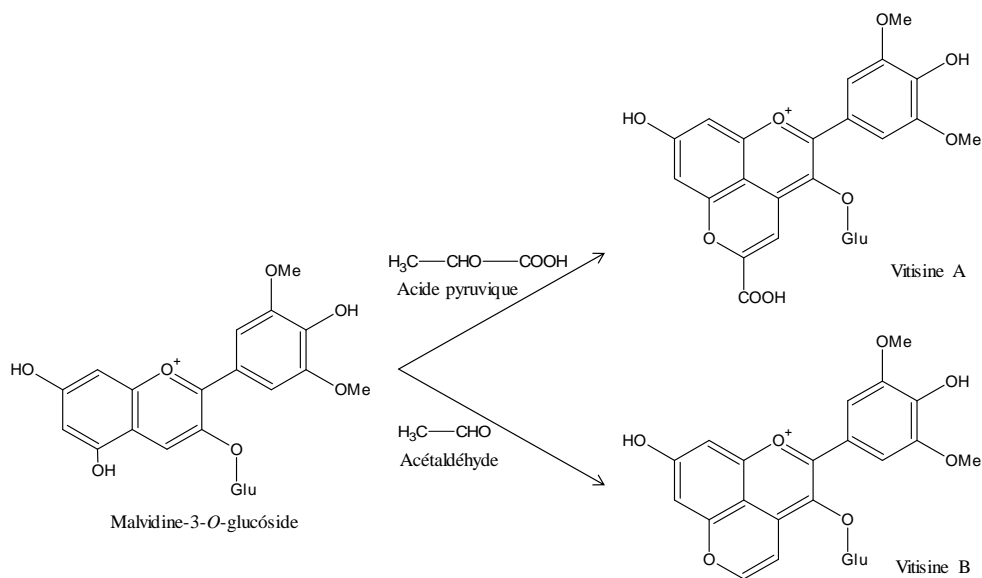


Figure 1.9. Réactions de formation des vitisines de types A et B à partir de l'anthocyanane malvidine-3-O-glucoside.

Depuis longtemps, la condensation des anthocyanes avec des flavanols, directe ou à travers un pont méthylmetine, a été également étudiée (Timberlake and Bridle, 1976; Rivas-Gonzalo *et al.*, 1995; Francia-Aricha *et al.*, 1997). Dans le cas concret des adduits anthocyanane-méthylemethyine-flavanols, ces composés présentent un maximum d'absorption du spectre UV-Visible déplacé selon un effet bathochrome par rapport au monomère correspondant d'origine, jusqu'à  $\lambda_{\max}$  de 530-540 nm. Cela donne à ces molécules des couleurs rouges-bleutées ou pourpres. Ce changement de couleur a été observé dans des solutions modèles (Dallas *et al.*, 1996a; Escribano-Bailón *et al.*, 2001) et ainsi dans des vins rouges expérimentaux (Vivar-Quintana *et al.*, 1999).

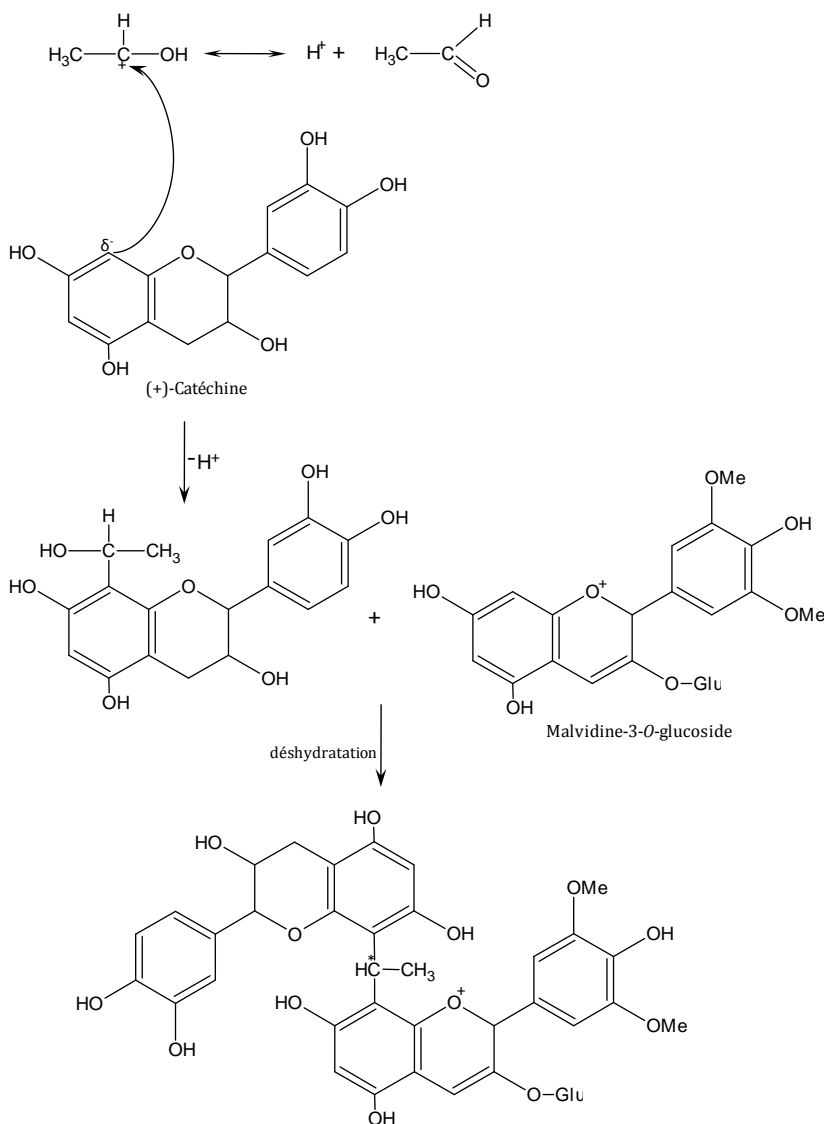


Figure 1.10. Réaction de formation d'un adduit anthocyane-méthylmetine-flavanol entre la (+)-catéchine et la malvidine-3-O-glucoside en présence d'acétaldéhyde.

Pour la formation de ces adduits, la présence d'acétaldéhyde est nécessaire. Selon le mécanisme proposé par Pissarra *et al.* (2004), en milieu acide l'acétaldéhyde est soumis à une protonation initiale pour former le carbocation correspondant, et induit une attaque électrophile sur le cycle A du flavanol, de préférence en position C8. L'adduit formé réagit avec l'anthocyane pour donner un nouvel adduit coloré. La présence d'un atome de carbone asymétrique (C\*) sur le lien qui s'est créé, conduit à la formation de deux structures de diastéréoisomères (R et S). Le schéma de ce mécanisme est illustré à la figure 1.10.

La présence de ces deux types de produits dérivés d'anthocyanes provoque une plus grande stabilisation de la couleur du vin face à des changements de pH et face à la décoloration par le dioxyde de soufre (Somers and Evans, 1977; Bakker *et al.*, 1993; Bakker *et al.*, 1997; Bakker and Timberlake, 1997; Fulcrand *et al.*, 1998). Leur formation est toujours observée au cours de la fermentation alcoolique et lors des étapes de vinification postérieures quand l'acide pyruvique et l'acétaldéhyde se forment. Ainsi, ces composés ont été identifiés dans des vins rouges de différents cépages obtenus avec différentes techniques de vinification et de vieillissement Vivar-Quintana *et al.*, 2002; Monagas *et al.*, 2003b; Alcalde-Eon *et al.*, 2006). Dans les vins mutés comme le Porto, Bakker *et al.* (1986) des concentrations plus élevées de vitisines B ont été trouvées par rapport aux vins rouges de table, parce que de l'acétaldéhyde est apporté lors de l'ajout d'alcool de distillerie (Bakker, 1986). De plus, avec la mutation un arrêt de fermentation est favorisé et par conséquent la concentration d'acide pyruvique restante est plus importante que si le processus continuait jusqu'à la fin, favorisant également la formation de vitisines A (Romero and Bakker, 2000).

Pour confirmer la formation des dérivés anthocyaniques mentionnés au cours du passerillage des raisins rouges, deux cépages (le Merlot et la Syrah) ont été choisis et les fractions d'anthocyanes des moûts de raisins frais et de raisins secs ont été analysées. Une analyse exhaustive des maximums d'absorption des composés et de leurs fragments en MS et MS<sup>2</sup> a été réalisée par HPLC-DAD-MS. Les résultats obtenus issus des chromatogrammes et des spectres étudiés, ainsi que les composés identifiés dans chaque moût sont représentés dans le tableau 1.7.

Pic	$t_r$	$M^+$ ( $m/z$ )	$MS^2$	$\lambda_{max}$ ( $nm$ )	Composé	Échantillon			
						M1	M2	S1	S2
1	19.10	465	303	524	Delphinidine-3- <i>O</i> -glc	*	*	*	*
2	22.65	449	287	516	Cyanidine-3- <i>O</i> -glc	*	*	*	*
3	24.81	479	317	526	Pétunidine-3- <i>O</i> -glc	*	*	*	*
4	27.46	433	271	506	Pélagonidine-3- <i>O</i> -glc	*	*	*	*
5	29.91	463	301	518	Paeonidine-3- <i>O</i> -glc	*	*	*	*
6	31.37	493	331	528	Malvidine-3- <i>O</i> -glc	*	*	*	*
7	32.25	561	399	490	Vitisine type A malvidine-3- <i>O</i> -glc	n.d.	*	n.d.	*
8	33.90	507	303	528	Delphinidine-3- <i>O</i> -acetylglc	*	*	n.d.	n.d.
9	34.23	487	325	486	Vitisine type B paeonidine-3- <i>O</i> -glc	n.d.	*	*	*
10	34.43	603	399	490	Vitisine type A malvidine-3- <i>O</i> -acetylglc	n.d.	*	n.d.	*
11	35.66	517	355	490	Vitisine type B malvidine-3- <i>O</i> -glc	n.d.	*	n.d.	*
12	36.90	779	-	530	Paeonidine-3- <i>O</i> -glc- méthylmetine(epi)catéchine	n.d.	n.d.	n.d.	*
13	37.25	809	357	530	Malvidine-3- <i>O</i> -glc-méthylmetine(epi)catéchine	n.d.	*	n.d.	*
14	37.46	491	287	518	Cianidine-3- <i>O</i> -acetylglc	*	*	*	*
15	37.86	809	357	540	Malvidine-3- <i>O</i> -glc-méthylmetine(epi)catéchine	n.d.	n.d.	n.d.	*
16	38.42	521	317	528	Pétunidine-3- <i>O</i> -acetylglc	*	*	*	*
17	38.60	529	325	494	Vitisine type B paeonidine-3- <i>O</i> -acetylglc	n.d.	n.d.	n.d.	*
18	39.07	779	-	528	Paeonidine-3- <i>O</i> -glc- méthylmetine(epi)catéchine	n.d.	*	n.d.	*
19	39.07	559	355	494	Vitisine type B malvidine-3- <i>O</i> -acetylglc	n.d.	*	n.d.	*
20	39.28	809	357	542	Malvidine-3- <i>O</i> -glc-méthylmetine(epi)catéchine	n.d.	*	n.d.	*
21	40.47	809	357	530	Malvidine-3- <i>O</i> -glc-méthylmetine(epi)catéchine	n.d.	*	n.d.	*
22	40.50	779	-	528	Paeonidine-3- <i>O</i> -glc- méthylmetine(epi)catéchine	n.d.	*	n.d.	*
23	41.10	641	317	522	Pétunidine-3- <i>O</i> -caféylglc	*	*	*	*
24	41.58	505	301	520	Paeonidine-3- <i>O</i> -acetylglc	*	*	*	*
25	42.16	535	331	532	Malvidine-3- <i>O</i> -acetylglc	*	*	*	*
26	44.05	625	301	522	Paeonidine-3- <i>O</i> -caféylglc	*	*	*	*
27	44.41	655	331	534	Malvidine-3- <i>O</i> -caféylglc	*	*	*	*
28	44.46	851	-	-	Malvidine-3- <i>O</i> -acetylglc- méthylmetine(epi)catéchine	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
29	44.99	595	287	520	Cyanidine-3- <i>O</i> -coumarylglc	*	*	*	*
30	45.55	625	317	534	Pétunidine-3- <i>O</i> -coumarylglc	*	*	*	*
31	46.20	609	301	526	Paeonidine-3- <i>O</i> -coumarylglc <i>cis</i>	*	*	*	*
32	46.50	639	331	538	Malvidine-3- <i>O</i> -coumarylglc <i>cis</i>	*	*	*	*
33	48.44	609	301	524	Paeonidine-3- <i>O</i> -coumarylglc <i>trans</i>	*	*	*	*
34	48.71	639	331	538	Malvidine-3- <i>O</i> -coumarylglc <i>trans</i>	*	*	*	*

Tableau 1.7. Composés anthocyaniques identifiés par HPLC-DAD-MS dans les moûts des raisins frais de Merlot et de Syrah (M1 et S1, respectivement) et dans les moûts des raisins secs des mêmes cépages (M2 et S2).

\* (identifié), n.d. (non détecté).



Les dérivés monoglucosidés se sont d'abord élués, dont cinq sont présents dans la plupart des cépages rouges: la delphinidine-3-*O*-glucoside (pic 1), la cyanidine-3-*O*-glucoside (pic 2), la pétunidine-3-*O*-glucoside (pic 3), la paeonidine-3-*O*-glucoside (pic 5) et la malvidine-3-*O*-glucoside (pic 6). Le pic 4 a été identifié comme pélargonidine-3-*O*-glucoside, dont la structure est représentée sur la figure 1.11a et dont l'analyse du spectre de masse a produit un  $[M^+]$  de  $m/z$  433 et un fragment de  $m/z$  de 271 (figure 1.11b). Cette anthocyane a été identifiée dans les raisins des cépages non vinifera comme la Concord, Rubired et Salvador (Wang *et al.*, 2003b; Tian *et al.*, 2005) et récemment dans raisins du cépage Grenache tinturier (Castillo-Muñoz *et al.*, 2009a). Ces auteurs ont suggéré que la présence de ce composé pourrait être utilisée comme un marqueur chimique pour identifier les vins de ce cépage. Mais la présence de cette anthocyane dans les moûts de Merlot et de Syrah, indique que cette hypothèse doit être rejetée.

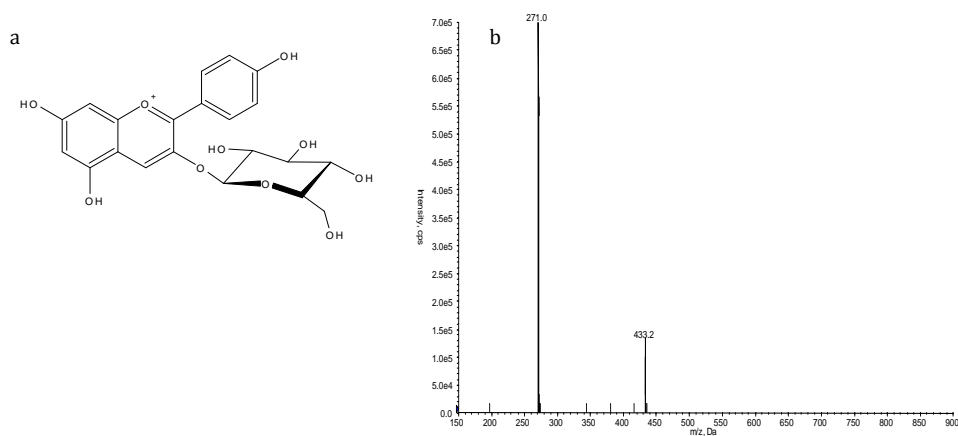


Figure 1.11. (a) Structure chimique et (b) spectre de masse du composé pélargonidine-3-*O*-glucoside.

Pour les moûts des raisins frais des deux cépages, les dérivés estérifiés avec l'acide acétique de la delphinidine (pic 8), la cyanidine (pic 14), la pétunidine (pic 16), la paeonidine (pic 24) et la malvidine (pic 25) ont été identifiés (figure 1.12). En plus, les dérivés caféylglucosidés de pétunidine, paeonidine et malvidine (pics 23, 26 et 27) ont été caractérisés. Finalement, les pics 29-34 sont identifiés comme les dérivés *p*-coumarylglucosides de cyanidine, pétunidine, paeonidine et malvidine. Pour ces derniers composés, il a été possible de différencier les isomères *cis*- et *trans*- des coumarylglucosidés de paeonidine (pics 31 et 33), avec  $[M^+]$  de  $m/z$  301 et de malvidine (pics 32 et 34), avec  $[M^+]$  de  $m/z$  331.

En ce qui concerne les moûts résultants de raisins passerillés de Merlot et de Syrah, la figure 1.13 présente les chromatogrammes correspondants obtenus par HPLC-DAD à 520 nm. Toutes les anthocyanes glucosylées, acétylglucosylées et caféylglucosylées trouvés dans les moûts des raisins initiaux ont été identifiées. De nouveaux composés synthétisés au cours du processus de séchage des raisins ont également été identifiés. Ces composés sont des pyranoanthocyanes et des composés de condensation anthocyane-méthylmetine-flavanol.

En principe, et parce que les moûts analysés comme les raisins n'ont pas subi de fermentation, la formation de pyranoanthocyanes apparaît étrange. Ces composés n'ont jamais été identifiés dans les raisins de *Vitis vinifera* en l'absence de fermentation, puisque leur synthèse nécessite la présence d'acide pyruvique (vitisines de type A) et d'acétaldéhyde (vitisines de type B).

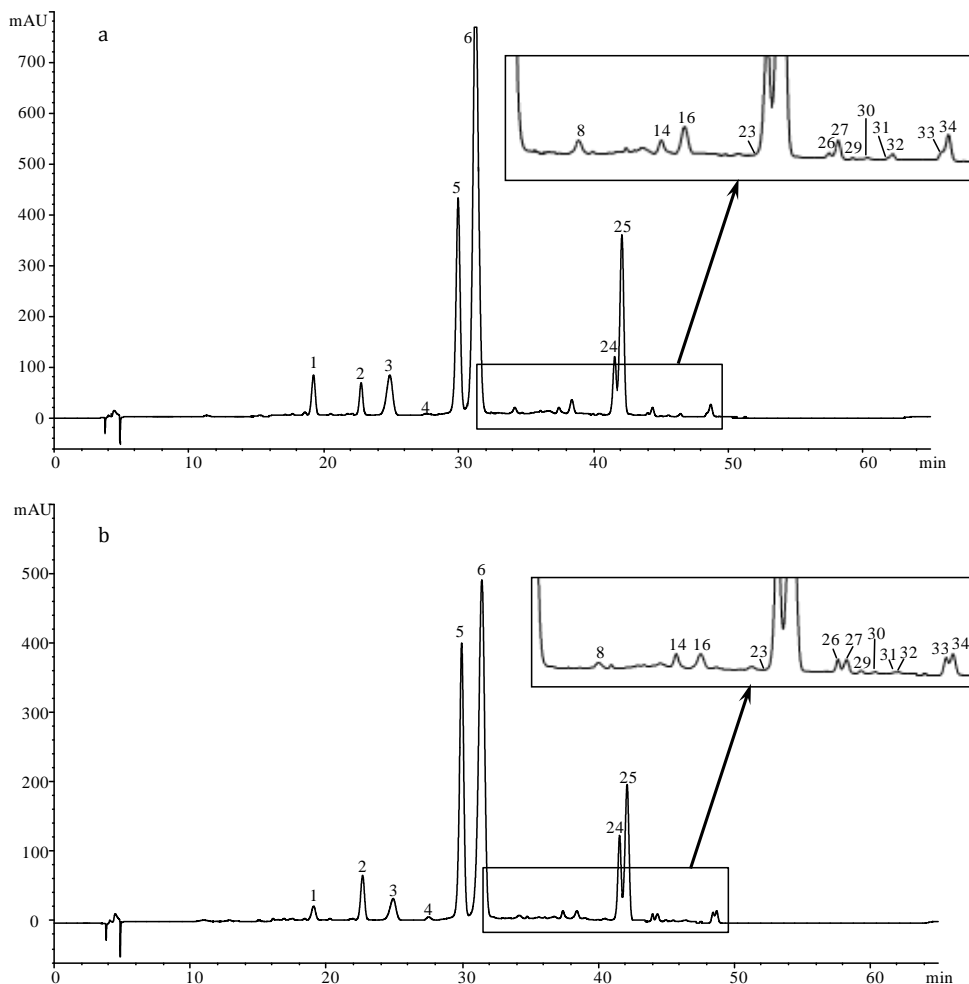


Figure 1.12. Chromatogrammes HPLC de la fraction anthocyanique des moûts des raisins frais des cépages Merlot (a) et Syrah (b) obtenus à 520 nm.

Cependant, les caractéristiques chromatographiques du pic 7 ( $[M^+]$  de  $m/z$  561 avec un fragment de  $m/z$  399) et du pic 10 ( $[M^+]$  de  $m/z$  603 avec un fragment de  $m/z$  399), coïncident avec celles des composés vitisine A et acétylvitisine A respectivement. Ces composés, identifiés par Bakker and Timberlake (1997), se forment par l'interaction de l'acide pyruvique avec la malvidine-3-*O*-glucoside et la malvidine-3-*O*-acétylglucoside. Ils sont apparus dans les deux moûts analysés, indiquant qu'au cours du séchage, l'acide pyruvique se serait formé.

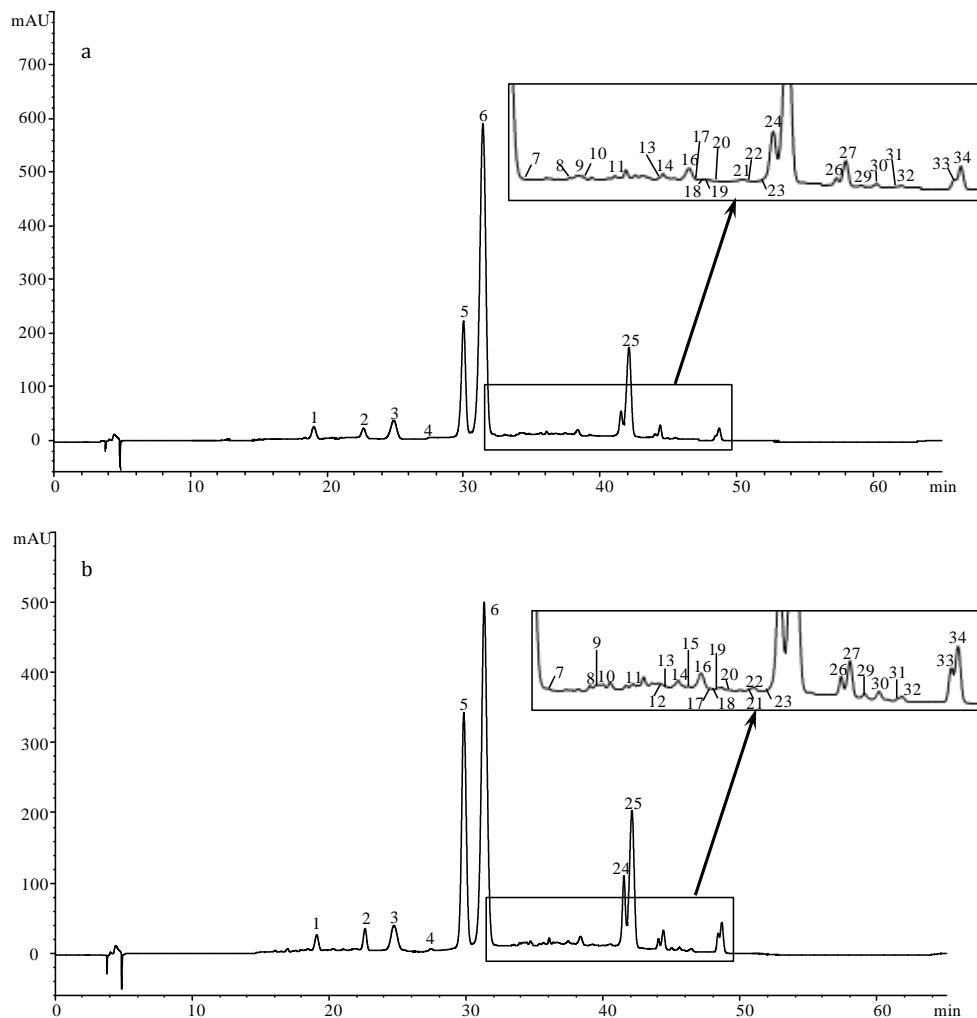


Figure 1.13. Chromatogrammes HPLC de la fraction anthocyanique des moûts des raisins secs des cépages Merlot (a) et Syrah (b) obtenus à 520 nm.

Afin de confirmer la formation de vitisine A et d'acetylvitisine A, la teneur en acide pyruvique dans les moûts de raisins frais et de raisins secs a été déterminée. Dans ces premiers, des concentrations inférieures à la limite de quantification de la méthode (3 mg/L) ont été trouvées. Tandis que dans les moûts de raisins secs, des concentrations de l'acide pyruvique de  $16.8 \pm 0.791$  et  $22.2 \pm 0.585$  mg/L pour le Merlot et la Syrah respectivement, ont été mesurées. Pour une petite partie, l'augmentation des concentrations d'acide pyruvique serait due à la concentration par la perte d'eau pendant la déshydratation des raisins. Certaines voies de formation de l'acide au cours du processus de séchage des deux cépages pourraient aussi expliquer cette augmentation.

À cet égard, la déshydratation de fruits porte un stress qui induit des changements importants dans le métabolisme de ceux-ci (Kays, 1997). Dans le cas particulier des raisins, Bellicontro *et al.* (2004) ont montré que la situation de stress a eu lieu quand les raisins ont perdu 10-15% de leur poids si ils sont séchés en tunnels à 21 °C. En outre, selon Chkaiban *et al.* (2007) la perte d'eau dans les baies au cours du processus de séchage produit des changements de la perméabilité des membranes par l'activation de l'enzyme lipooxygénase (LOX). Un changement de métabolisme d'aérobie à anaérobie se produit dans les baies et l'enzyme alcool déshydrogénase (ADH) est activée. Dans ces conditions anaérobies, d'autres enzymes capables de dégrader les sucres et/ou l'acide malique en acide pyruvique pourraient s'activer au cours du séchage. Cela justifierait les contenus de cet acide trouvés dans les moûts de raisins secs.

De même, les autres vitisines de type B formées par cycloaddition d'une molécule d'acétaldéhyde sur une molécule d'anthocyanine ont été identifiées dans les moûts de raisins passerillés. Le pic 11 présente les caractéristiques chromatographiques et spectroscopiques de la Vitisine B ([M<sup>+</sup>] de 517, fragmentation m/z de 355 et  $\lambda_{\max}$  490 nm), pyranoanthocyanine synthétisée par cycloaddition sur le malvidine-3-O-glucoside (Vivar-Quintana *et al.*, 2002; Alcalde-Eon *et al.*, 2006). Les résultats obtenus ont aussi permis l'identification des pics 9, 17 et 19 comme les vitisines de type B de paeonidine-3-O-glucoside, paeonidine-3-O-acétylglucoside et malvidine-3-O-acétylglucoside, respectivement.

Pour la formation de ces composés, la présence d'acétaldéhyde dans les moûts de raisins secs est essentielle. À cet égard, et comme conséquence du métabolisme discuté, l'acide pyruvique pourrait être converti en acétaldéhyde par décarboxylation. Pour vérifier cette hypothèse, une quantification de l'acétaldéhyde a été réalisée par injection en chromatographie gazeuse (GC-FID) dans les moûts étudiés. Les résultats ont montré l'absence de ce composé dans les moûts de raisins frais et des teneurs de 132±10 mg/L et 113±6.0 mg/L pour les moûts de raisins secs de Merlot et de Syrah, respectivement. Ces résultats confirmeraient la synthèse de l'acétaldéhyde au cours du séchage en chambre.

D'après l'hypothèse de synthèse d'acide pyruvique et d'acétaldéhyde, ce dernier pourrait être réduit en éthanol par l'action de l'enzyme alcool déshydrogénase. En conséquence, l'éthanol serait le métabolite majoritaire produit à partir des sucres mais aussi de l'acide malique dans des raisins soumis à un stress anaérobie, grâce à une réaction similaire à celle qui se produit pendant la macération carbonique (figure 1.14). Pour corroborer cette hypothèse, la concentration d'éthanol dans les moûts a été mesurée. Dans les moûts de raisins frais, la concentration était nulle et dans les moûts de raisins secs, elle était de 0.959±0.006 (v/v) pour le Merlot et de 0.559±0.001 (v/v) pour la Syrah. Ces contenus indiqueraient que, par action de l'enzyme alcool déshydrogénase, l'acétaldéhyde aurait été transformé en éthanol.

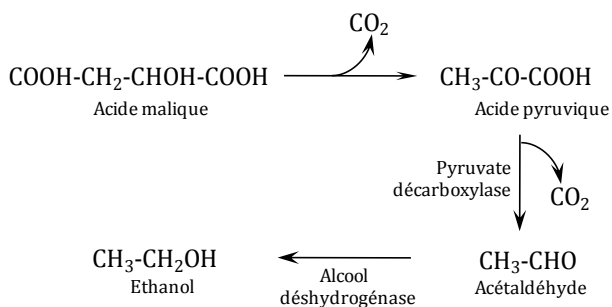


Figure 1.14. Réactions de formation d'éthanol impliquées dans la fermentation intracellulaire des raisins.

Contrairement aux résultats des moûts de raisins secs, dans la plupart des vins, plus de vitisines de type A que de vitisines de type B sont formés. Ainsi, les vitisines de type A se forment rapidement pendant les premières étapes de la fermentation alcoolique. Cela serait la conséquence des hautes concentrations d'acide pyruvique excrété par les levures au début de la fermentation alcoolique, lorsque le milieu est encore riche en nutriments. Vers la fin de la fermentation alcoolique, quand le milieu s'appauvrit nutritionnellement, la levure commence à réutiliser une partie du pyruvate excrété. À ce moment, la concentration d'acétaldéhyde augmente proportionnellement avec la quantité de sucres fermentés. Par conséquent, les vitisines de type B commencent à être synthétisées vers la fin de la fermentation alcoolique. La formation des deux vitisines semble suivre une cinétique antagoniste, puisque l'acétaldéhyde pourrait être en compétition avec l'acide pyruvique pour interagir avec la molécule d'anthocyane (Romero and Bakker, 2000).

Toutefois, dans les moûts de raisins passerillés, plus de vitisines de type B que de vitisines de type A ont été identifiées. Cela pourrait être expliqué par l'absence de fermentation alcoolique et donc l'absence de levures excrétant de l'acide pyruvique. Par conséquent, la production de cet acide a dû être faible et constante dans le temps. Progressivement, l'acide pyruvique serait converti en acétaldéhyde, en accord avec la réaction proposée par la figure 1.14. Les réactions proposées et les concentrations différentes trouvées pour les deux réactifs (~20 mg/L d'acide pyruvique et ~120 mg/L d'acétaldéhyde) pourraient expliquer que la formation de vitisines de type B ait été plus favorisée que pour les vitisines de type A.

En plus des pyranoanthocyanes, l'analyse par HPLC-DAD-MS a également montré des produits de condensation entre anthocyanes et (epi)catéchine à travers un pont méthylemetine. Pour la formation de ces composés la présence d'acétaldéhyde est essentielle. Sur les chromatogrammes correspondants, trois composés de formule paeonidine-3-O-glc-méthylemetine-(epi)catéchine (pics 12, 18 et 22) avec [M<sup>+</sup>] de m/z 779 et quatre de formule Mv-3-glc-méthylemetine-(epi)catéchine (pics 13, 15, 20 et 21) avec [M<sup>+</sup>] de m/z 809 et une fragmentation m/z 357 ont été identifiés. Les composés correspondants aux pics 12 et 15 ont été identifiés seulement dans le moût de Syrah.

En résumé, la présence d'acide pyruvique, d'acétaldéhyde et d'éthanol confirmerait ces transformations enzymatiques et, par conséquent, la formation de

pyranoanthocyanes et de composés de condensation entre anthocyanes et flavonols par pont méthylmetine au cours du processus de séchage des raisins. Ces dérivés anthocyaniques présentent un grand intérêt œnologique par la stabilité qu'ils confèrent à la couleur des vins rouges. En plus, ils ont toujours été identifiés dans les vins obtenus après fermentation.

### Évolution des composés phenoliques au cours du passerillage

L'évolution de l'indice des polyphénols totaux (IPT) au cours du passerillage des quatre cépages étudiés est montrée dans la figure 1.15. Tout d'abord, cet indice était similaire pour les moûts initiaux des cépages Merlot et Syrah (8.8 u.a.) et très proche pour les moûts de Tempranillo (12.0 u.a.) et de Cabernet Sauvignon (12.4 u.a.). En outre, l'IPT a augmenté dans toutes les variétés jusqu'à la deuxième journée de séchage, mais de façon plus prononcée pendant les premières 24 heures, sauf pour les raisins de Cabernet Sauvignon, avec une augmentation constante. Au cours du séchage des raisins Tempranillo, une très légère diminution de l'IPT entre les 48 et les 72 heures a pu être observée. Enfin, il faut remarquer que les valeurs finales des polyphénols totaux se situaient entre 30.9 u.a. pour le Merlot et 42.8 u.a. pour le Tempranillo. Ces moûts pourraient être utilisés pour l'élaboration des vins jeunes puisque d'après les valeurs établies industriellement pour la production de ce type de vins, des valeurs proches à 40 u.a. sont nécessaires. Pour destiner ces moûts à l'élaboration de vins de vieillissement (valeurs d'IPT au-dessus de 50 u.a.), ils devraient être soumis à une macération postérieure avec les pellicules pour augmenter cet indice.

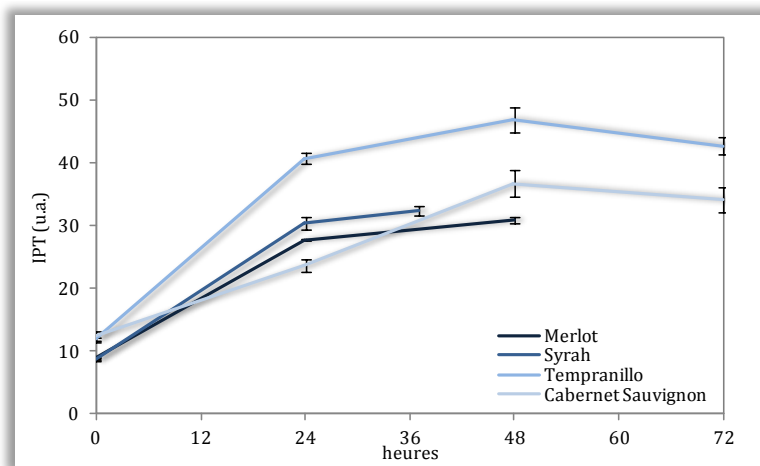


Figure 1.15. Évolution de l'indice de polyphénols totaux (u.a.) au cours du processus de séchage des quatre cépages de raisins rouges étudiés (moyenne et écart-type).

La quantification des composés anthocyaniques a été réalisée dans les moûts des raisins frais et des raisins secs au cours du séchage. Tout d'abord, dans tous les

moûts, 15 monomères anthocyanes de quatre familles différentes ont été trouvés, glucosides, acétylglucosides, coumarylglucosides et caféylglucosides. La figure 1.16 montre la distribution en pourcentages des différentes familles dans les moûts étudiés. La distribution anthocyanique a été utilisée par de nombreux auteurs pour différencier les cépages de raisins (Dimitrovska *et al.*, 2011). En effet, malgré quelques légères variations en fonction du climat, cette distribution présente des caractéristiques constantes et typiques du cépage. Dans cette étude, les moûts de raisins frais des cépages Tempranillo et Syrah ont présenté des concentrations plus inférieures d'anthocyanes glucosylés (31.8 y 32.6 mg/L respectivement) que ceux des cépages Merlot (47.4 mg/L) et Cabernet Sauvignon (48.6 mg/L). Cette famille de monomères glucosylés a présenté les concentrations les plus élevées, avec des pourcentages dans les moûts initiaux entre 55% pour la Syrah et 61% pour le Merlot et le Cabernet Sauvignon, par rapport au total d'anthocyanes.

Pendant le séchage, le pourcentage de glucosides a augmenté en parallèle avec la diminution d'autres familles d'anthocyanes. Ainsi, dans les baies de Merlot, de Tempranillo et de Syrah, l'augmentation d'anthocyanes glucosylées a conduit à une diminution dans les trois autres familles. Par contre, dans les raisins de Cabernet Sauvignon, l'augmentation des glucosides a été la plus faible (62% dans le moût final). Ainsi une augmentation d'anthocyanes coumarylglucosides s'est produite (de 3 à 8%) parallèlement à la diminution des pourcentages d'acétyle et caféylglucosides. La hausse des anthocyanes glucosylées après le processus de séchage a été plus élevée que les facteurs de concentration calculés par la déshydratation des raisins des quatre cépages.

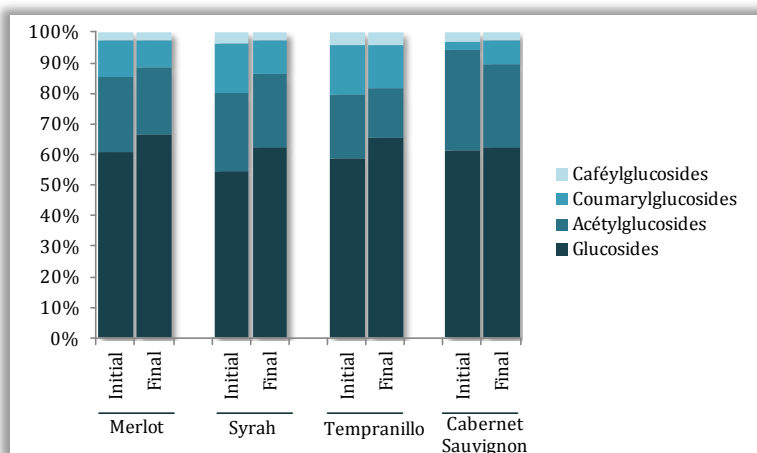


Figure 1.16. Pourcentages de distribution des différentes familles de composés anthocyaniques monomères dans les moûts des raisins frais (initial) y des raisins secs (final) des quatre cépages étudiés.

La famille d'anthocyanes acétylées a été la deuxième plus importante après les glucosides dans tous les moûts, mais son pourcentage était variable selon le cépage étudié, entre 21 et 33% pour les moûts initiaux de Tempranillo et de Cabernet Sauvignon, respectivement. Ces pourcentages n'ont pas beaucoup changé avec le

passerillage des raisins. Finalement, le moût de cépage Tempranillo a présenté le pourcentage le plus faible d'anthocyanes acétylglucosides (16%) et le Cabernet Sauvignon le plus haut (27%).

La proportion de coumarylglucosides était inférieure à celle d'acétylglucosides, avec des grandes différences dans la proportion des deux familles en fonction du cépage. Cela avait été étudié par Ortega Meder *et al.* (1995) pour distinguer différents cépages de raisins en fonction de la proportion de ces deux familles anthocyaniques. Les pourcentages de coumarylglucosides dans les moûts de Cabernet Sauvignon ont été très faibles (3% dans le moût initial et 8.1% dans le moût final), alors qu'ils étaient beaucoup plus élevés pour le Tempranillo (16% et 11% dans les moûts initial et final, respectivement) en accord avec les résultats trouvés par plusieurs auteurs (González-Neves *et al.*, 2007; Dimitrovska *et al.*, 2011). Dans le cépage Merlot, Dimitrovska *et al.* (2011) ont trouvé des contenus de dérivés coumarylés d'au moins la moitié des contenus acétylés, résultats proches des pourcentages obtenus dans le moût de raisins frais (24 et 12% pour acétyl et coumarylglucosides respectivement) et dans les moûts de raisins secs avec 22 et 9% pour les mêmes familles.

La figure 1.17 montre l'évolution, au cours du processus de séchage, des concentrations des cinq monomères glucosylés des anthocyanidines delphinidine, cyanidine, pétunidine, paeonidine et malvidine. L'évolution de tous les composés au cours du passerillage des baies a été similaire, avec une augmentation de la concentration pendant la première journée du séchage pour le Merlot, la Syrah et le Tempranillo, et jusqu'à la deuxième journée pour le Cabernet Sauvignon, suivie d'une baisse jusqu'à la fin du passerillage. L'augmentation initiale est due à la diffusion des composés anthocyaniques des pellicules à la pulpe au cours du passerillage, conséquence de la rupture des cellules de l'épiderme par les températures élevées. La diminution suivante pourrait être le résultat de la participation de ces composés dans des réactions de cycloaddition et/ou polymérisation. En ce sens, il a été démontré que les anthocyanes pouvaient participer à plusieurs réactions de condensation directe avec elles-mêmes ou avec des tanins, et dans des réactions de condensation avec des flavanols au travers ou pas d'un pont d'éthanal (Pissarra *et al.*, 2004), ainsi que dans des réactions de copigmentation (Boulton, 2001).

Dans les moûts de raisins frais, le composé delphinidine-3-*O*-glucoside (figure 1.17a) a présenté les concentrations les plus faibles mais, au cours du séchage, il a dépassé la concentration de cyanidine-3-*O*-glucoside dans les cépages Tempranillo et Cabernet Sauvignon. Les raisins Tempranillo ont montré des concentrations de dérivés glucosylés de delphinidine et de pétunidine plus élevées que les trois autres cépages. Pour le cas de la cyanidine-3-*O*-glucoside et de la paeonidine-3-*O*-glucoside, la Syrah a présenté les valeurs les plus hautes. En ce qui concerne la dérivé de la malvidine (figure 1.17e), il a été le composé majoritaire dans tous les moûts, caractéristique de tous les cépages *Vitis vinifera*, avec des concentrations initiales comprises entre 9.26 mg/L pour la Syrah et 32.6 mg/L pour le Cabernet Sauvignon, cépage qui a maintenu la plus grande concentration après le séchage des baies.



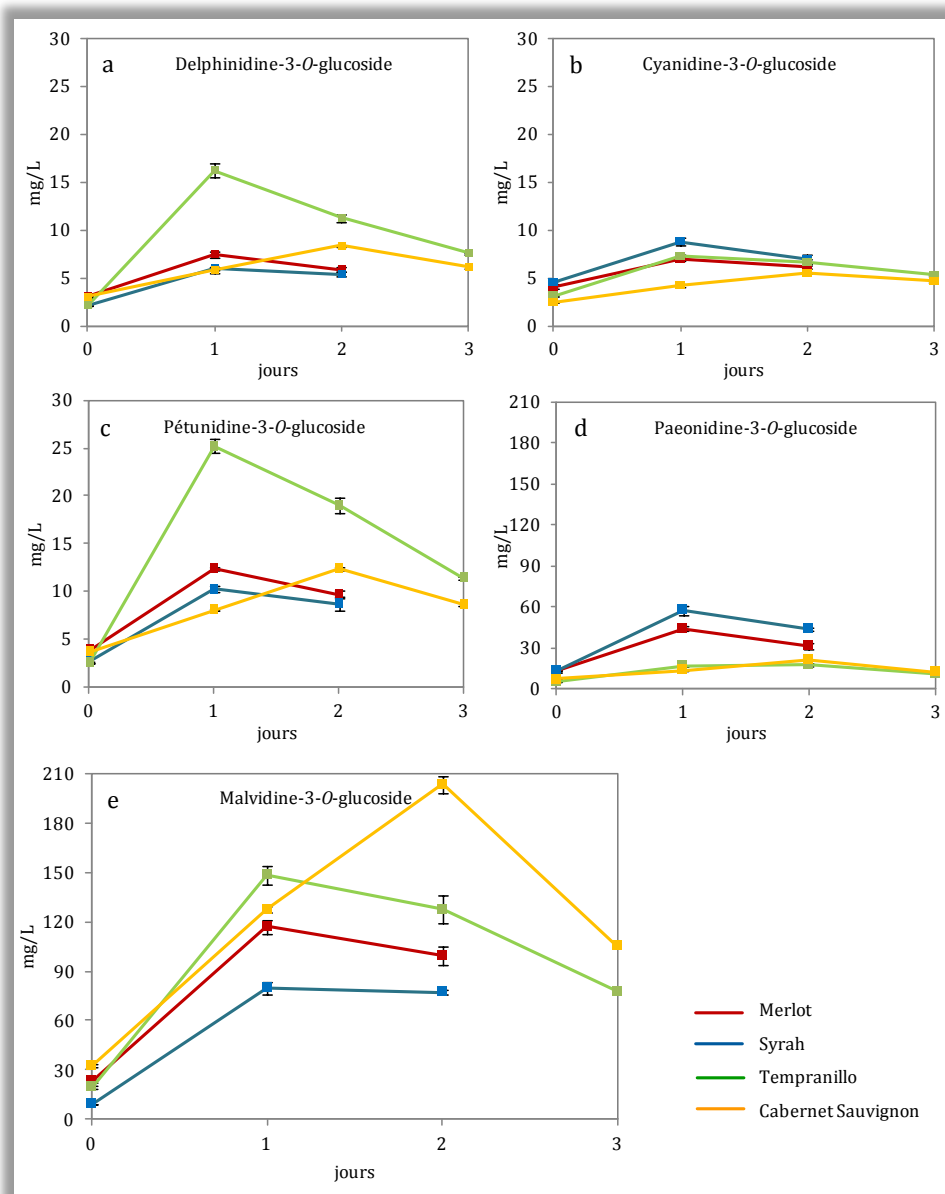


Figure 1.17. Évolution de la concentration d'anthocyanes glucosylés (mg/L) au cours du passerillage des raisins des quatre cépages étudiés (moyenne et écart-type).

A partir des concentrations de ces cinq composés, leurs pourcentages de distribution par rapport au total de composés glucosylés ont été calculés dans les moûts de raisins frais et de raisins passerillés (figure 1.18). On peut voir que la proportion de malvidine-3-*O*-glucoside a été supérieure au reste des anthocyanes, à l'exception des raisins frais de Syrah qui présentaient un faible pourcentage de ce composé de 29% des composés glucosylés. Pour le cépage Merlot, ce composé représentait initialement la moitié du total, et pour le Tempranillo et le Cabernet Sauvignon, les pourcentages étaient encore plus élevés (60% et 67% respectivement). Après le séchage, le pourcentage de malvidine-3-*O*-glucoside a augmenté dans tous les cépages, avec une contribution de 77% de la concentration totale de glucosides pour le Cabernet Sauvignon. D'autre part, la contribution du composé paeonidine-3-*O*-glucoside a été significativement différente selon le cépage, entre 14% pour le moût initial de Cabernet Sauvignon et 42% pour la Syrah. Après le passerillage des raisins, tous ces pourcentages ont diminué, de façon importante pour le Merlot (20%) et la Syrah (31%). Enfin, pour les trois autres glucosides, les pourcentages étaient inférieures à 15%, avec un pourcentage de pétunidine-3-*O*-glucoside supérieur à ce des dérivés de delphinidine et cyanidine dans le moût initial de Syrah et dans tous les moûts de raisins secs.

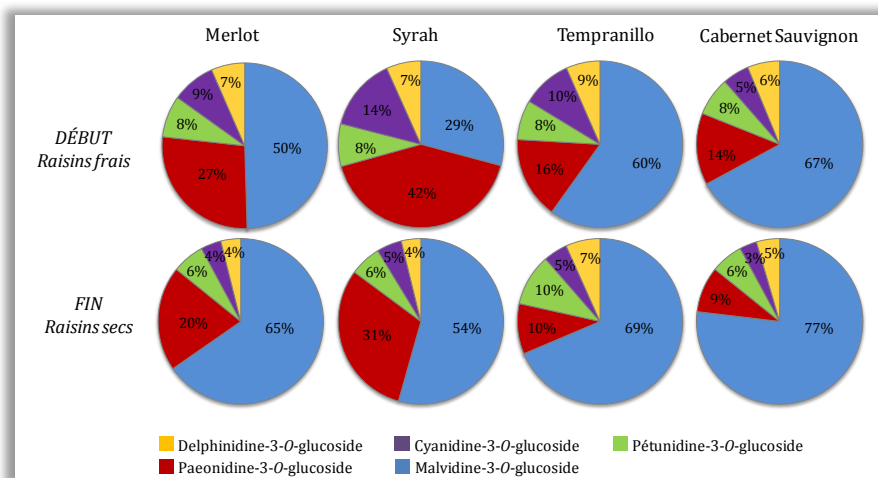


Figure 1.18. Pourcentages de distribution des anthocyanes glucosylés dans les moûts de raisins frais et moûts de raisins secs des quatre cépages.

La figure 1.19 montre les concentrations des dérivés anthocyaniques acétylglucosylés au cours du passerillage des quatre cépages de raisins. Tout d'abord, il faut remarquer que l'évolution a été similaire à celle déjà mentionnée pour les dérivés glucosylés. On peut voir une augmentation importante de la concentration au cours de la première journée de séchage dans les cépages Merlot, Syrah et Tempranillo et durant les deux premiers jours pour les raisins Cabernet Sauvignon, suivie d'une diminution pour les quatre cépages, en raison des réactions des anthocyanes mentionnées précédemment. Les composés dérivés de delphinidine, cyanidine et pétunidine ont présenté des concentrations très proches entre eux, avec

les concentrations les plus élevées de ces composés dans le moût de raisins secs Cabernet Sauvignon.

En ce qui concerne les concentrations de paeonidine-3-*O*-acétylglucoside (figure 1.19d) et de malvidine-3-*O*-acétylglucoside (figure 1.19e), les cépages ont montré des différences importantes. Pour le premier composé, les concentrations dans le moût initial ont été entre 2.18 mg/L pour le Tempranillo et 4.19 mg/L pour la Syrah. Ces différences ont augmenté jusqu'à la fin du passerillage, avec des concentrations de 5.23 et 12.8 mg/L pour ces deux mêmes cépages. Le composé dérivé de malvidine était le plus concentré des cinq acétates identifiés, avec des valeurs initiales de 7.86 mg/L pour le Merlot, 3.99 mg/L pour la Syrah, 3.06 mg/L pour le Tempranillo et 15.5 mg/L pour la Cabernet Sauvignon. À cet égard, Dimitrovska *et al.* (2011) ont trouvé des concentrations très semblables dans les pellicules des raisins de Merlot et de Cabernet Sauvignon (9.68 et 15.76 mg/L, respectivement). Ces auteurs ont donc suggéré que la composition en acétylglucosides pouvait servir pour différencier les cépages, en accord avec des informations proposées par d'autres auteurs (Monagas *et al.*, 2003b; Núñez *et al.*, 2004). Après le passerillage des raisins, le cépage Cabernet Sauvignon a présenté la concentration la plus grande de malvidine-3-*O*-acétylglucoside (37.9 mg/L), tandis que les moûts finaux de Syrah et de Merlot ont montré des concentrations similaires (26.8 et 26.9 mg/L, respectivement), et le Tempranillo une concentration beaucoup plus faible (8.61 mg/L).

La figure 1.20 montre l'évolution des concentrations individuelles des quatre dérivés coumarylés quantifiés dans les moûts, et le composé malvidine-3-*O*-caféylglucoside, le seule anthocyane de cette famille quantifiée pendant le séchage. Dans le cas des coumarylglucosides, le dérivé de malvidine a été plus abondant que les autres dérivés, même si les différences entre eux n'étaient pas aussi importantes que pour les familles anthocyaniques déjà étudiées.

En ce qui concerne les dérivés coumarylglucosides de cyanidine, pétunidine et paeonidine (figure 1.20a-c), les concentrations initiales ont été similaires pour le Merlot, la Syrah et le Tempranillo. Aucune n'a pu être identifiée dans le moût de raisins frais du cépage Cabernet Sauvignon, mais elles sont apparues après 24 heures de séchage. À ce stade, le moût Tempranillo présentait la concentration la plus grande de pétunidine-3-*O*-glucoside et le moût Syrah les valeurs les plus élevées des composés dérivés de cyanidine et paeonidine. Pour finir, le composé malvidine-3-*O*-caféylglucoside (figure 1.20e) était le moins important par rapport à la concentration totale des anthocyanes, avec des pourcentages entre 2.5 et 4.0% pour les moûts finaux de Cabernet Sauvignon et de Tempranillo, respectivement.

Comme il a été discuté ci-dessus, d'autres dérivés anthocyaniques de type vitisine et des adduits de condensation d'anthocyanes et (epi)catéchine par un pont méthylmetine ont été synthétisés au cours du processus de séchage. L'évolution de la concentration de ces composés est montrée dans la figure 1.21.

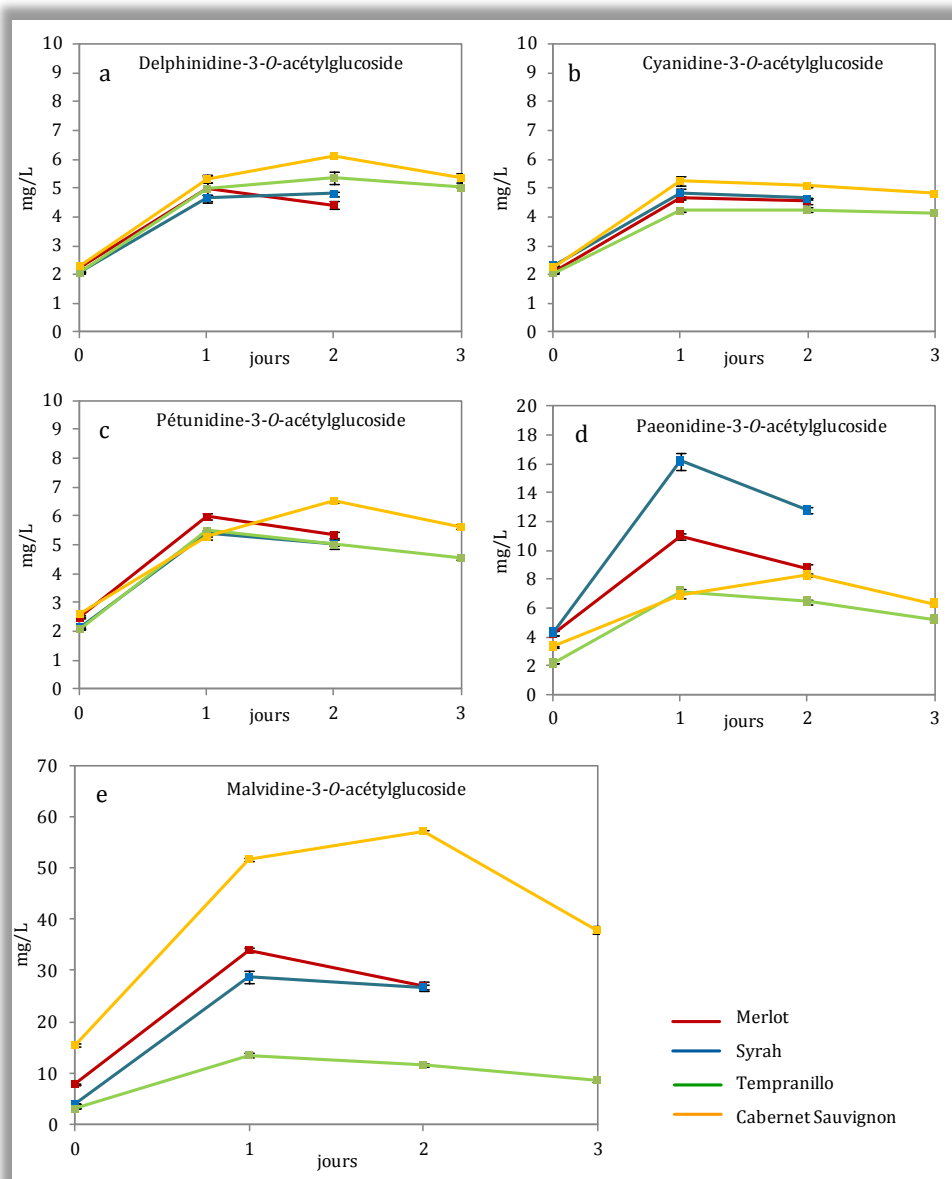


Figure 1.19. Évolution de la concentration d'anthocyanes acétylglucosylés (mg/L) au cours du passerillage des raisins des quatre cépages étudiés (moyenne et écart-type).

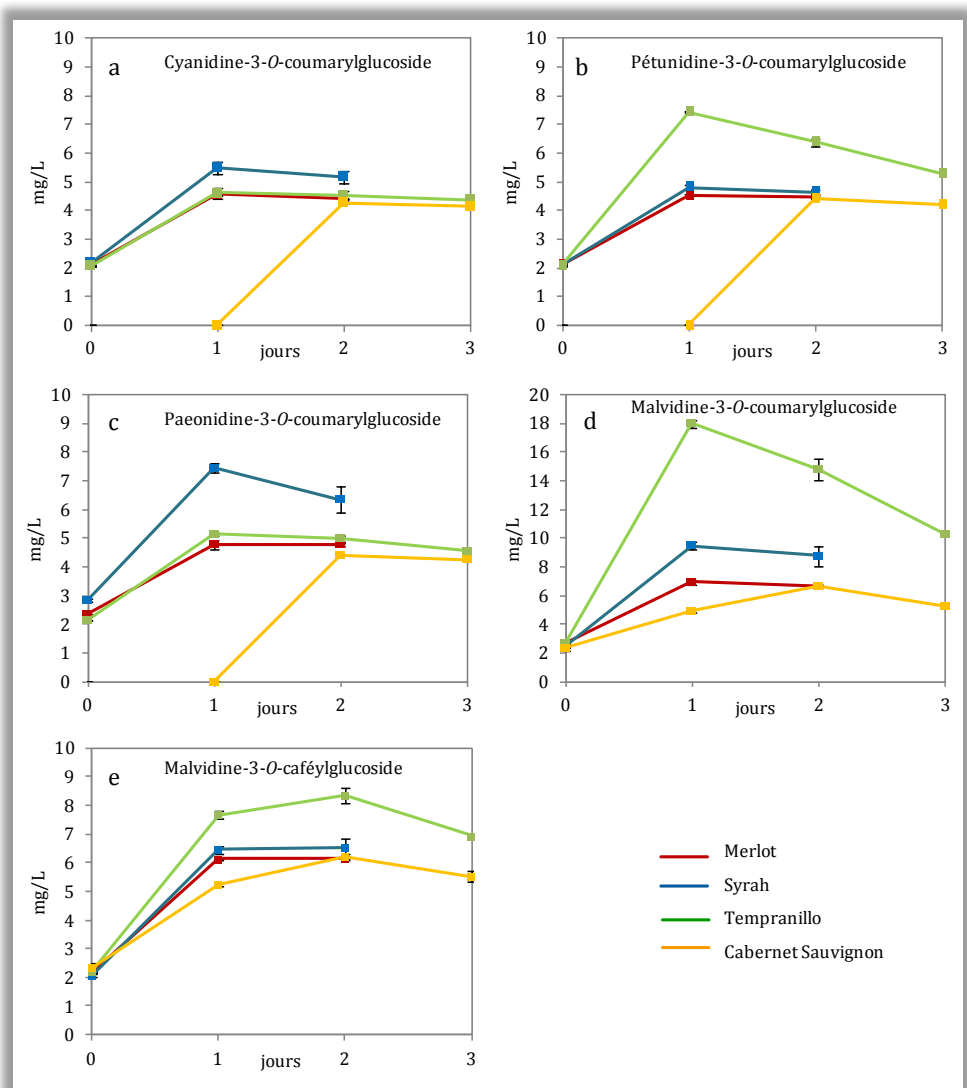


Figure 1.20. Évolution de la concentration d'anthocyanes coumaryl et caféylglucosylés (mg/L) au cours du passerillage des raisins des quatre cépages étudiés (moyenne et écart-type).

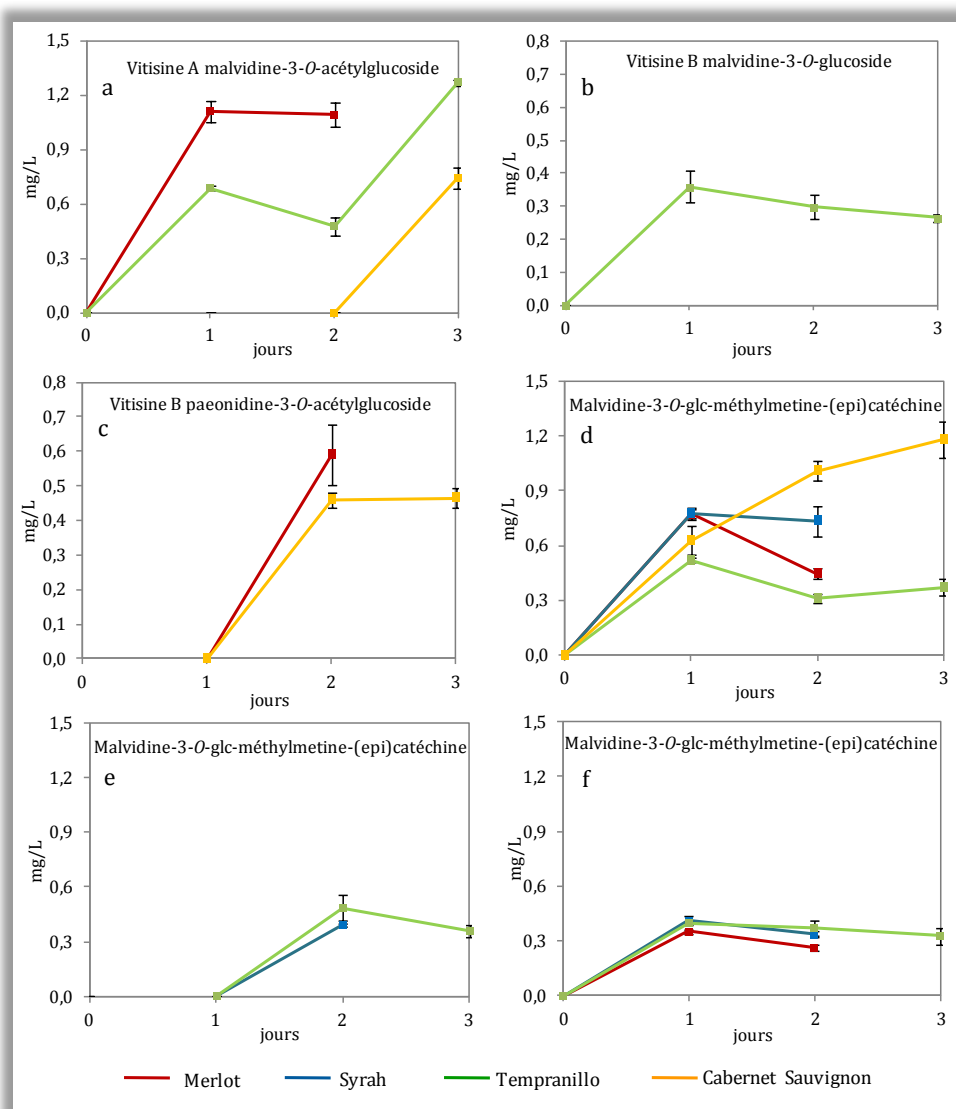


Figure 1.21. Évolution de la concentration de vitisines et adduits de condensation malvidine-3-O-glucoside-méthylmetine-(epi)catéchine (mg/L) au cours du passerillage des raisins des quatre cépages étudiés (moyenne et écart-type).

De tous les composés identifiés dans les moûts et discutés précédemment (tableau 1.7), seulement 6 ont pu être quantifiés, le reste étant trouvé à l'état de traces. Ainsi, une vitisine de type A, deux de type B et trois adduits de formule chimique malvidine-3-*O*-glucoside méthylmetine-(epi)catéchine ont été quantifiés, tous avec des concentrations très faibles et inférieures à 1.5 mg/L. La présence de ces composés n'a pas été similaire pour les quatre cépages. La vitisine de type A de malvidine-3-*O*-acétylglucoside a été quantifiée au cours des premières heures du séchage dans le Merlot et le Tempranillo, et après la deuxième journée dans le Cabernet Sauvignon. Les concentrations finales de ce composé ont été de 0.741 mg/L pour le Cabernet Sauvignon, 1.09 mg/L pour le Tempranillo et 1.27 mg/L pour le Merlot. En ce qui concerne les vitisines de type B, le dérivé de malvidine-3-*O*-glucoside est formé uniquement dans les moûts de raisins secs Tempranillo. Le dérivé de paeonidine-3-acétylglucoside a été quantifié dans les raisins Merlot et Cabernet Sauvignon après 24 heures de séchage, avec des concentrations finales de 0.591 et 0.467 mg/L pour ces deux cépages, respectivement.

Enfin, les trois adduits de condensation de formule malvidine-3-*O*-glucoside-méthylmetine-(epi)catéchine ont été quantifiés dans les cépages Syrah et Tempranillo; deux ont été dosés dans le Merlot, alors qu'un seul a été quantifié dans les moûts de Cabernet Sauvignon, mais avec la concentration la plus grande après le séchage (1.18 mg/L). La concentration de ces composés a diminué légèrement après 24 heures d'apparition, bien que dans la plupart des cas, les différences n'étaient pas significatives. Par conséquent, on pourrait conclure que les premières heures de séchage ont été les plus décisives en ce qui concerne la formation de ces composés.

Des autres familles de composés phénoliques identifiées dans les raisins ont été les acides hydroxybenzoïques (acide gallique, protocatéchine, vanillique et syringique) et les esters des acides hydroxycinnamiques (isomères *cis*- et *trans*- des esters tartriques des acides caféique, *p*-coumarique et férulique).

La figure 1.22 montre l'évolution des concentrations des quatre acides hydroxybenzoïques quantifiés dans les moûts au cours du passerillage. Tout d'abord, la graphique montre que le séchage des raisins a produit une augmentation de la concentration de ces composés. Les concentrations initiales d'acide gallique étaient très similaires pour les quatre variétés, avec des valeurs entre 1.09 mg/L pour le Tempranillo et 1.48 mg/L dans le Cabernet Sauvignon. La déshydratation des raisins a entraîné une hausse de concentration de ce composé, particulièrement importante pour les deux cépages pour lesquels il avait fallu plus de temps pour obtenir la concentration de sucres résiduels souhaitée. Dans ces deux cépages, l'augmentation a été beaucoup plus rapide pendant les dernières 24 heures de séchage que lors des heures précédentes, lorsque l'évolution était très semblable aux deux autres cépages étudiés (le Merlot et la Syrah). La concentration finale a atteint à 12.3 mg/L dans le moût de raisins passerillés de Cabernet Sauvignon et 13.5 mg/L dans celui de Tempranillo.

Dans le cas de l'acide protocatéchine, l'évolution n'était pas aussi claire. Des fluctuations diverses et des différences de concentration de l'acide protocatéchine ont été trouvées pour chaque cépage. Dans tous les cas, à la fin du passerillage la concentration de cet acide était plus élevée qu'initialement pour tous les moûts, avec des concentrations entre 2.02 mg/L pour le Merlot et 5.50 mg/L pour le Tempranillo.

L'acide vanillique n'a été trouvé dans aucun des quatre moûts de raisins frais analysés, mais il a été quantifié après 24 heures de séchage dans les cépages Merlot et Cabernet Sauvignon et après 48 heures dans le Tempranillo. En ce qui concerne la concentration d'acide vanillique, on peut voir qu'elle a augmenté pour les trois variétés au cours du séchage. La hausse serait due à la synthèse et/ou à l'extraction depuis les pellicules, et aussi à la concentration causée par la déshydratation des raisins. Finalement, les concentrations étaient entre 0.871 et 3.03 mg/L pour le Merlot et pour le Tempranillo. Pour le cépage Syrah, l'acide vanillique n'a été identifié dans aucun moût.

Dans le cas de l'acide syringique, les concentrations quantifiées étaient très faibles dans les quatre cépages, et elles ont augmenté jusqu'à 2.49 et 2.52 mg/L pour le Cabernet Sauvignon et le Merlot, respectivement, avec des concentrations plus faibles dans les moûts finaux de Tempranillo et de Syrah.

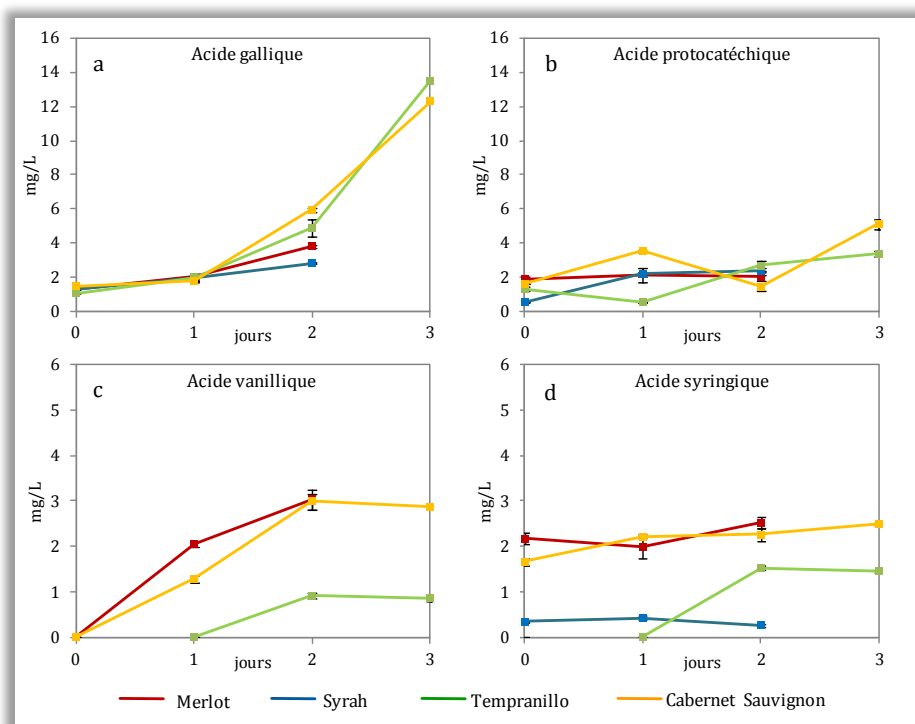


Figure 1.22. Évolution de la concentration des acides hydroxybenzoïques (mg/L) au cours du passerillage des raisins des quatre cépages étudiés (moyenne et écart-type).

Les esters tartriques des acides caféique, *p*-coumarique et férulique sont spécialement intéressants car ils peuvent former des copigments avec les anthocyanes, provoquant une augmentation de l'intensité de la couleur rouge, avec un déplacement bathochromique vers des nuances pourpres (Schwarz *et al.*, 2005). En outre, ces composés sont les principaux substrats des enzymes polyphénoloxydases,



et ils participeraient au brunissement enzymatique pouvant se produire dans les moûts.

La figure 1.23 représente les concentrations initiales et finales des esters tartriques de l'acide caféique trouvées dans les moûts au début et après le séchage des raisins. Les concentrations auxquelles ces composés ont été détectés étaient très faibles, probablement parce qu'ils ont été dégradés en raison des réactions de brunissement enzymatique pendant la maturation des raisins et même pendant la récolte, le transport et l'emmagasinement. En raison de ces faibles concentrations, peu de conclusions ont pu être faites sur l'étude de son évolution au cours du passerillage. Dans tous les cas, on peut observer que la concentration de l'isomère *cis*- a augmenté dans les quatre cépages. Cependant, dans le cas de l'isomère *trans*-, la déshydratation des raisins a conduit à une diminution de sa concentration, à l'exception du cépage Cabernet Sauvignon avec une légère augmentation de 0.239 mg/L. En outre, notons que le cépage Syrah a montré des concentrations de ce composé très supérieures au reste pendant tout le processus.

Les esters *cis*- et *trans*- de l'acide *p*-coumarique ont présenté des concentrations qui étaient inférieures à 1,3 mg/L dans tous les moûts étudiés (figure 1.24) et avec des concentrations similaires pour les deux isomères. En revanche, cela n'a pas été observé pour les isomères de l'acide férarique (figure 1.25). Pour ces composés, l'isomère *trans*- est apparu dans tous les moûts en concentrations plus faibles que l'isomère *cis*- correspondant, mais avec des valeurs inférieures à 1.5 mg/L dans les deux cas.

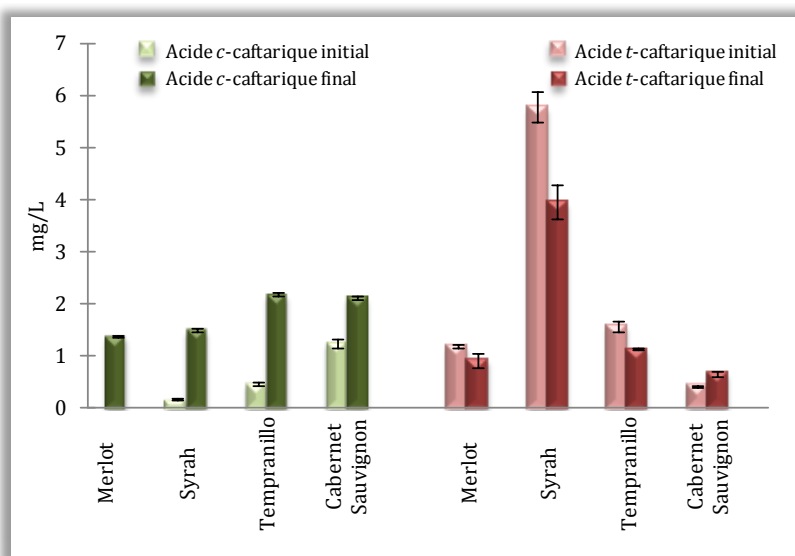


Figure 1.23. Concentration des esters de l'acide caféique (mg/L) avant et après le passerillage des raisins des quatre cépages étudiés (moyenne et écart-type).

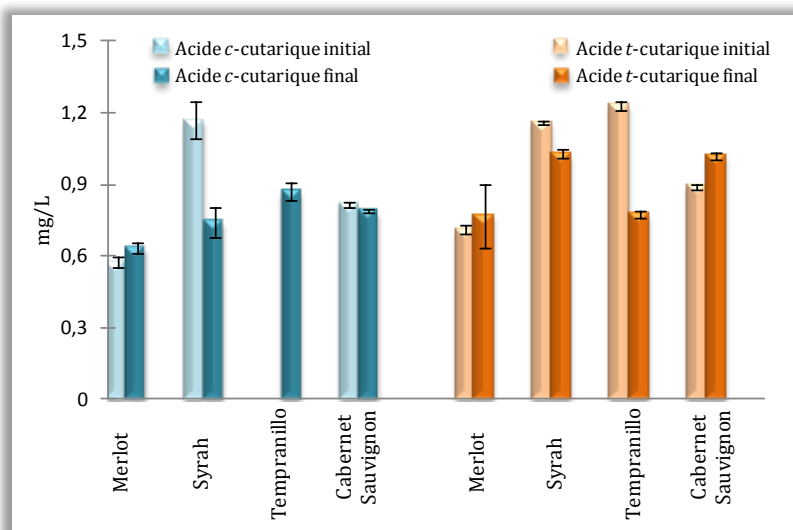


Figure 1.24. Concentration des esters de l'acide *p*-coumarique (mg/L) avant et après le passerillage des raisins des quatre cépages étudiés (moyenne et écart-type).

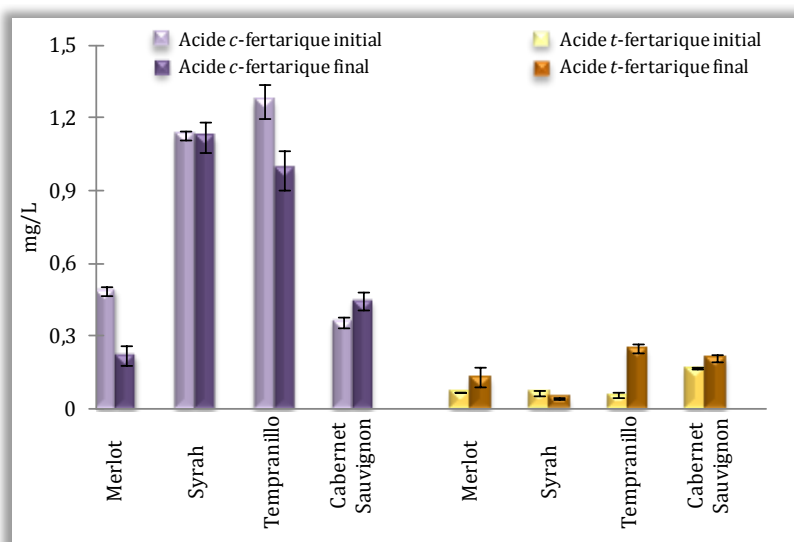


Figure 1.25. Concentration des esters de l'acide férulique (mg/L) avant et après le passerillage des raisins des quatre cépages étudiés (moyenne et écart-type).

Les flavanols sont des composés flavonoïdes, présents dans les raisins sous forme de monomères, dimères et oligomères plus ou moins polymérisés, appelés proanthocyanidines ou tanins condensés. La quantité, la structure et le degré de polymérisation de ces composés varie en fonction de leur localisation dans les différentes parties des baies (Escribano-Bailón *et al.*, 1992; Jordão *et al.*, 2001b). Ainsi, les pépins contiennent des concentrations plus élevées de monomères, oligomères et polymères de flavan-3-ols que les pellicules (Sun *et al.*, 1999b; De Freitas *et al.*, 2000; Jordão *et al.*, 2001a), bien que le degré de polymérisation trouvé dans les tanins de la pellicule soit beaucoup plus élevé que dans les tanins de pépins (Souquet *et al.*, 1996; Labarbe *et al.*, 1999). La concentration des flavan-3-ols et des proanthocyanidines dans les vins est principalement déterminée par leur contenu dans les raisins et par d'autres facteurs tels que les techniques d'extraction ou de vinification, ainsi que les conditions de vieillissement (Ricardo da Silva *et al.*, 1992; Santos-Buelga *et al.*, 1995b; Fuleki and Ricardo da Silva, 1997). Dans les moûts étudiés, les flavanols monomères (+)-catéchine, (-)-epicatéchine, epicatéchine gallate et epigallocatechine gallate ont été quantifiés. De plus, les dimères procyanidines B1, B2, B3 et B4, les composés B2-3'-O-gallate et B1-3-O-gallate, quatre composés trimères et deux tétramères de flavanol ont également été dosés.

La figure 1.26 montre l'évolution des concentrations des flavanols présents en plus fortes concentrations, les monomères (+)-catéchine et (-)-epicatéchine et les quatre procyanidines identifiées. En ce qui concerne les deux monomères quantifiés, leurs concentrations dans les quatre cépages ont augmenté, conséquence du passerillage des raisins. Pour la (+)-catéchine, cette augmentation n'a pas été très importante pour la Syrah, avec une concentration finale de 5.56 mg/L. Les concentrations pour les autres moûts ont été de 10.5 mg/L pour le Merlot, 13.3 mg/L pour le Tempranillo et 31.4 mg/L pour le Cabernet Sauvignon, qui était le cépage avec la concentration la plus élevée.

L'(-)-epicatéchine est apparue en concentrations très élevées pour les quatre cépages, et elle a été le composé le plus important de la fraction de flavanols. Initialement, l'(-)-epicatéchine était présente en concentrations élevées (entre 9.95 et 44.9 mg/L pour la Syrah et le Tempranillo, respectivement). Elle a augmenté jusqu'à des valeurs comprises entre 37.6 mg/L pour la Syrah et 106.9 mg/L pour le Cabernet Sauvignon, qui avait encore la concentration la plus élevée. L'augmentation des deux monomères peut être attribuée à l'extraction depuis les pellicules et les pépins des raisins au cours du séchage, et aussi à l'effet de concentration par évaporation d'eau à laquelle tous les composés ont été soumis.

En ce qui concerne les quatre procyanidines étudiées, elles ont été quantifiées comme les sommes de B1+B3 et B2+B4, parce que leur séparation chromatographique n'a pas été possible dans certains moûts. Leur évolution a été différente selon le cépage. Pour les procyanidines B1 et B3, une augmentation de leur concentration a été observée au début du passerillage. Cette hausse a continué jusqu'à la fin du séchage dans la Syrah, et a diminué pour les trois cépages restants pendant le dernier jour d'étude. Le cépage Cabernet Sauvignon a présenté à la fin du processus la concentration la plus élevée de ces composés (47.0 mg/L), tandis que le moût Merlot avait la concentration la plus petite (5.38 mg/L).

L'évolution de ces composés pourrait résulter d'un bilan entre des réactions qui augmentent leur concentration et d'autres qui causent des diminutions. En ce qui concerne les premières réactions, il faut considérer l'extraction à partir des pellicules et des pépins déjà mentionnée pour les monomères, et l'effet de concentration par évaporation d'eau. La diminution des dimères pourrait être le résultat de leur hydrolyse, pour donner lieu à des dérivés de flavan-3-ols de poids moléculaire plus faibles (Dallas *et al.*, 2003). Mais elle peut aussi être due à d'autres réactions, puisque les flavanols sont des bons substrats des enzymes polyphénoloxydases (Macheix *et al.*, 1991), bien que moins réactifs que les acides hydroxycinnamiques qui seraient dégradés en premier lieu. Dans tous les cas, les flavanols pourraient réagir avec les *o*-quinones formées à partir des acides hydroxycinnamiques (Sarni-Manchado *et al.*, 1997). De la même façon, la figure 1.26 montre l'évolution des procyanidines B2 et B4, pour lesquelles le passerillage a donné lieu à une augmentation des concentrations jusqu'à la fin de l'étude, sauf pour le Merlot. Pour ce cépage, après une première augmentation pendant les premières 24 heures, la concentration de ces composés a diminué jusqu'à 4.19 mg/L.

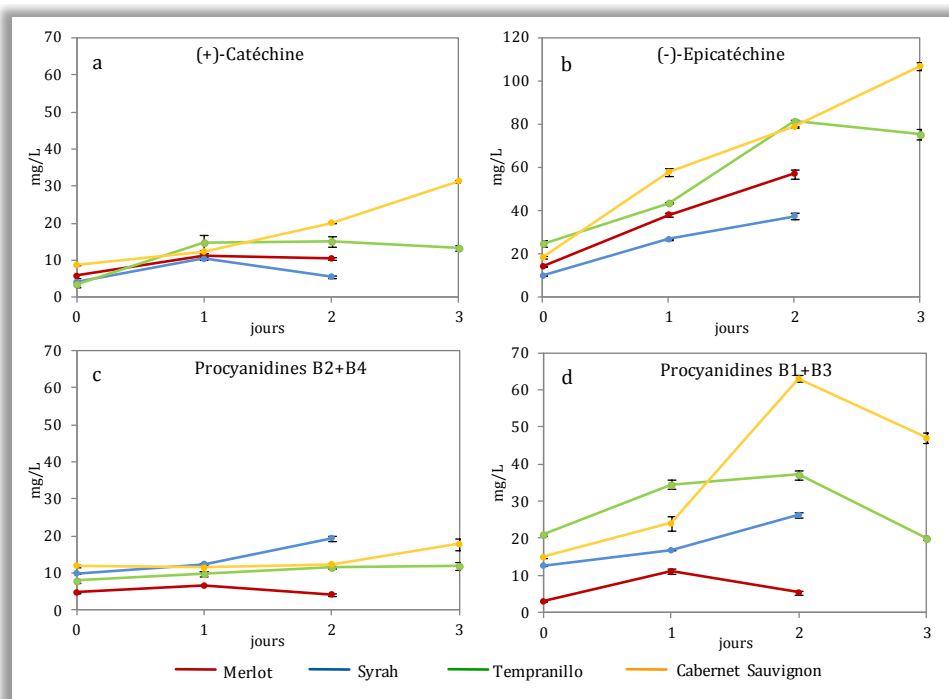


Figure 1.26. Évolution de la concentration de la (+)-catéchine, de l'(-)-epicatéchine et des procyanidines B1, B2, B3 et B4 (mg/L) au cours du passerillage des raisins des quatre cépages étudiés (moyenne et écart-type).

La figure 1.27 représente l'évolution des concentrations des dimères B2-3-*O*-gallate, B2-3-*O'*-gallate et B1-3-*O*-gallate, et des composés epicatéchine gallate et epigalocatéchine gallate pendant le séchage des raisins.

En ce qui concerne les dimères, le cépage Syrah a présenté les concentrations les plus grandes des trois composés, et elle a été le seul cépage où le B1-3-*O*-gallate a été quantifié. En outre, la concentration du dimère B2-3-*O*-gallate n'a pas beaucoup varié au cours du passerillage dans la plupart des cépages. Ce composé est apparu au long de l'étude dans les raisins de Cabernet Sauvignon, mais ses concentrations finales ont toujours été inférieures à 3 mg/L. Enfin, la teneur en dimère B2-3-*O'*-gallate a augmenté au cours du séchage pour le Tempranillo et le Cabernet Sauvignon et a diminué pour le Merlot, mais également avec des concentrations très faibles.

Le dérivé epicatéchine gallate a été détecté et quantifié dans le Merlot et le Tempranillo, et dans ces deux variétés, il y a eu une hausse de la concentration au début du passerillage suivie d'une baisse. Le gallate d'epigalocatéchine était présent initialement dans les quatre moûts, mais avec des concentrations inférieures à 0.5 mg/L. Avec le séchage, ce composé a disparu du moût Syrah et a significativement augmenté dans le Cabernet Sauvignon jusqu'à 1.95 mg/L.

Concernant les dérivés de flavan-3-ol trimères et tétramères, leur évolution au cours du passerillage des raisins est illustrée dans la figure 1.28. La numérotation assignée à chaque composé est due à son ordre d'élution selon le programme chromatographique effectué.

Tout d'abord, le premier trimère quantifié (figure 1.28a) est apparu dans les quatre cépages de raisins et sa concentration a augmenté en conséquence du passerillage des baies. Finalement, le moût Syrah avait la concentration la plus élevée (5.72 mg/L). De même, le second trimère a augmenté avec le séchage des raisins dans les quatre cépages, avec la concentration la plus importante pour le Cabernet Sauvignon (6.37 mg/L), alors qu'il n'y avait pas été initialement identifié. Le troisième trimère a seulement été trouvé dans le moût de Merlot et de Tempranillo. Pour le premier, sa concentration a diminué au cours de l'étude alors que pour le Tempranillo, elle a augmenté jusqu'à 8.59 mg/L. Finalement, le dernier trimère a été uniquement quantifié dans le cépage Syrah, et sa concentration a augmenté en raison de la déshydratation des raisins.

En ce qui concerne les tétramères, le premier élué est apparu seulement dans la Syrah, avec une évolution similaire à celle du trimère préalablement discuté et une concentration finale de 3.51 mg/L. Le second tétramère a été quantifié dans les quatre cépages de raisins, avec des concentrations initiales entre 0.41 mg/L pour le Merlot et 2.09 mg/L pour la Syrah. Sa concentration a augmenté, sauf pour le moût de Cabernet Sauvignon où, après une augmentation initiale, il a diminué jusqu'à la fin du séchage.

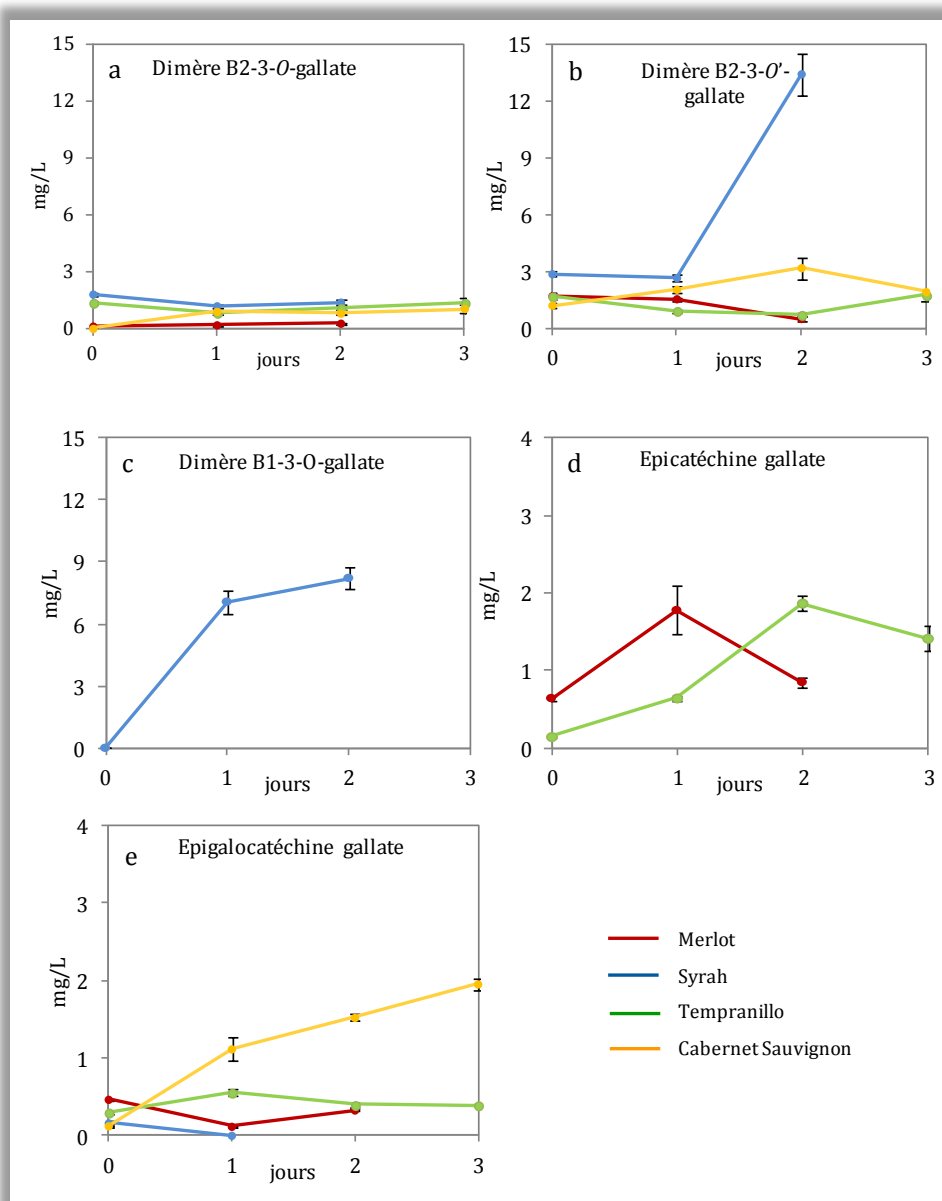


Figure 1.27. Évolution de la concentration des dimères B2-3-O-gallate, B2-3-O'-gallate et B1-3-O-gallate et des composés epicatéchine gallate et epigalocatéchine gallate (mg/L) (au cours du passerillage des raisins des quatre cépages étudiés moyenne et écart-type).

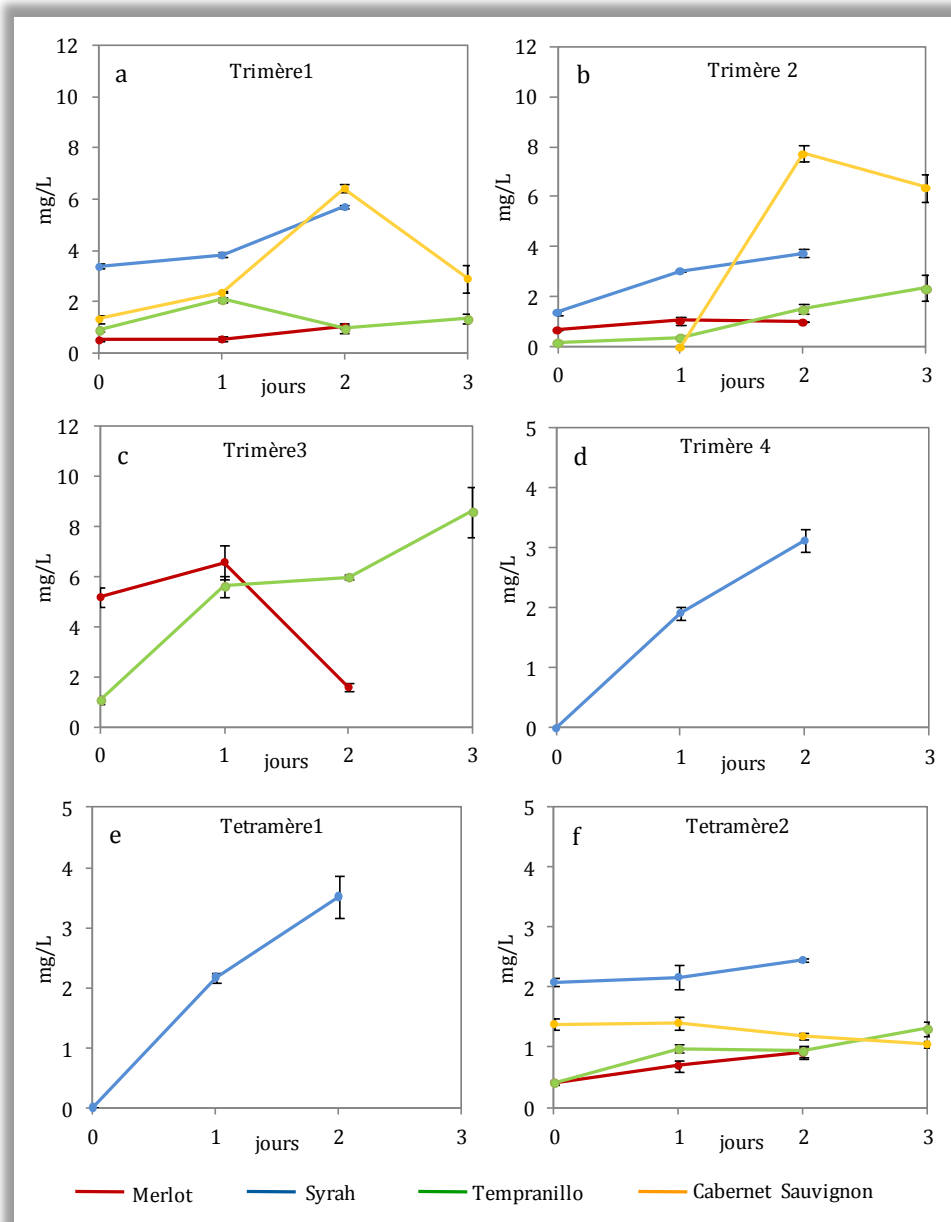


Figure 1.28. Évolution de la concentration de trimères et tétramères dérivés du flavan-3-ol (mg/L) au cours du passerillage des raisins des quatre cépages étudiés (moyenne et écart-type).

Selon certains auteurs, les tanins des pépins sont riches en oligomères et polymères constitués des flavan-3-ol monomériques (+)-catéchine, (-)-epicatéchine et (-)-epicatéchine gallate, reliés par des liaisons C4-C8 et/ou C4-C6 (Prieur *et al.*, 1994), tandis que les tanins des pellicules contiennent aussi de l'(-)-epigallocatechine et des traces de (+)-gallocatechine et d'(-)-épigallocatechine gallate (Escribano-Bailón *et al.*, 1995). Au cours du passerillage des raisins, la concentration des tanins totaux a été mesurée par spectrophotométrie dans les différents moûts (figure 1.30). La concentration des tanins totaux a augmenté dans les quatre cépages pendant le séchage. Ces résultats montrent que la diffusion des tanins des pellicules et des pépins à la pulpe est possible, en raison des modifications déjà mentionnées qui se produisent à l'intérieur des baies comme conséquence de la déshydratation. Cela indique aussi qu'une polymérisation des flavanols présents initialement dans les raisins frais peut avoir eu lieu. Globalement, la hausse de la concentration des tanins totaux a été importante dans les quatre moûts. Elle a été multipliée par un facteur de 1.9 dans la Syrah, 2.6 fois dans le Tempranillo et 2.4 fois dans le Cabernet Sauvignon, et a été très élevée pour les raisins Merlot, avec un facteur de 3.4. Au début, les raisins de ce cépage présentaient la concentration la plus faible (3.1 g/L), et pendant le processus de séchage, la synthèse ou l'extraction de tanins y a été la plus importante. Ces augmentations produites par le séchage des raisins pourraient favoriser les caractéristiques organoleptiques des vins fins. D'une part, dans les vins rouges les tanins contribuent de manière importante au corps et ils sont les principaux composés responsables de l'astringence par réaction avec les protéines de la salive (McRae and Kennedy, 2011). D'autre part, dans les vins doux cette propriété est aussi appréciée car elle permet de compenser la douceur extrême, améliorant le goût du vin pendant la dégustation.

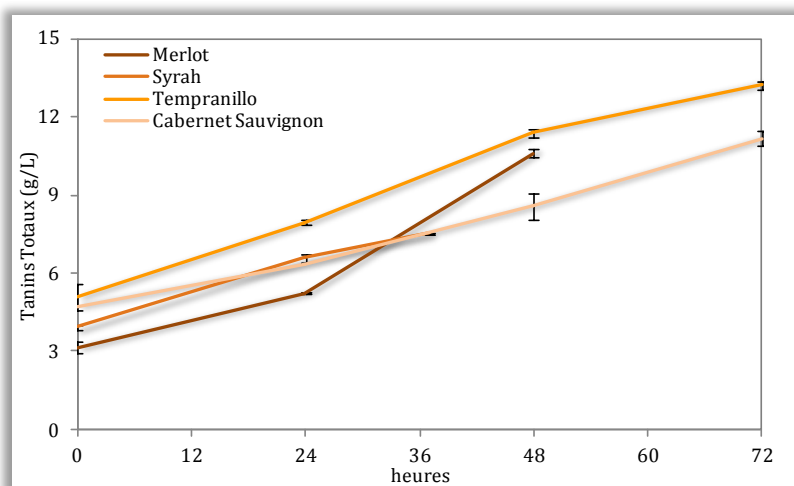


Figure 1.30. Évolution de la concentration des tanins totaux (g/L) au cours du passerillage des raisins des quatre cépages étudiés (moyenne et écart-type).



Les flavonols sont des composés flavonoïdes présents dans les raisins. Ils présentent une couleur jaune pâle en relation avec leur maximum d'absorption de leur spectre UV-visible situé approximativement à 350 nm pour les glycosides et à 370 nm pour les aglycones. Cette famille phénolique est importante pour sa contribution à la stabilisation de la couleur des vins rouges car ils peuvent donner lieu à des phénomènes de copigmentation avec les anthocyanes. Les flavonols trouvés dans les raisins sont les glycosides dérivés des aglycones quercétine, myricétine, kaempférol, isorhamnétine, syringétine et larycitrine (Jeffery *et al.*, 2008). Le glucose est le sucre le plus commun qui se rattache à la position C3 des structures de flavonols. Cependant, le galactose et l'acide glucuronique peuvent également être trouvés comme sucres de glycosylation dans certains flavonols (Cheynier and Rigaud, 1986). Dans les raisins, seuls des dérivés 3-*O*-glycosides ont été trouvés, tandis que les aglycones ont été identifiés dans les vins, résultant d'une hydrolyse acide qui se produirait pendant la vinification et le vieillissement (Castillo-Muñoz *et al.*, 2009a). Dans cette étude, la fraction de flavonols se composait de 14 composés, cinq aglycones (myricétine, quercétine, kaempférol, isorhamnétine et syringétine) et neuf dérivés glucosides, galactosides et glucuronides des précédents.

La figure 1.31 montre l'évolution des flavonols glycosylés au cours du processus de passerillage des quatre cépages de raisins. La concentration du composé quercétine-3-*O*-glucoside a augmenté pendant le séchage dans les quatre cépages, bien que la hausse mesurée n'ait pas surpassé le facteur de concentration du à la perte d'eau dans les raisins Tempranillo et Cabernet Sauvignon. Par conséquent, il est possible qu'une partie de la quercétine-3-glucoside dans les raisins ait été dégradée pour obtenir l'aglycone correspondante par hydrolyse acide de la liaison flavonol-sucre (Castillo-Muñoz *et al.*, 2007).

Pour les dérivés de quercétine, les résultats montrent la somme des concentrations de la quercétine-3-galactoside et de la quercétine-3-glucuronide parce que dans certains moûts analysés une séparation chromatographique correcte n'a pas été possible. Les dérivés de la quercétine étaient les plus abondants dans tous les cépages. Leur teneur a augmenté avec le passerillage dans tous les cas, bien qu'après un accroissement pendant les premières 24 heures de séchage, une diminution de leurs concentrations ait été observée, à l'exception du Merlot. L'augmentation initiale pourrait être due à l'extraction des flavonols des pellicules à la pulpe, et la baisse suivante aux réactions dans lesquelles ces composés sont impliqués.

Pour les dérivés de kaempférol, l'évolution a été similaire à celle déjà mentionné ci-dessus, avec une hausse de leurs concentrations comme conséquence du séchage des raisins. Des concentrations de kaempférol-3-glucuronide et isorhamnétine-3-glucoside particulièrement élevées ont été trouvées dans la Syrah (10.2 mg/L à la fin du processus). Le composé myricétine-3-glucoside a été le moins concentré de tous les flavonols glycosides, suivi par le dérivé de larycitrine qui se forme à partir de la structure de la quercétine comme dérivé 3',4'-dihydroxy-5'-méthoxylé. Enfin, le composé syringétine-3-glucoside a montré des concentrations élevées, qui ont augmenté avec le passerillage des raisins jusqu'à des valeurs entre 2.01 mg/L pour le Tempranillo et 4.67 mg/L pour le Cabernet Sauvignon.

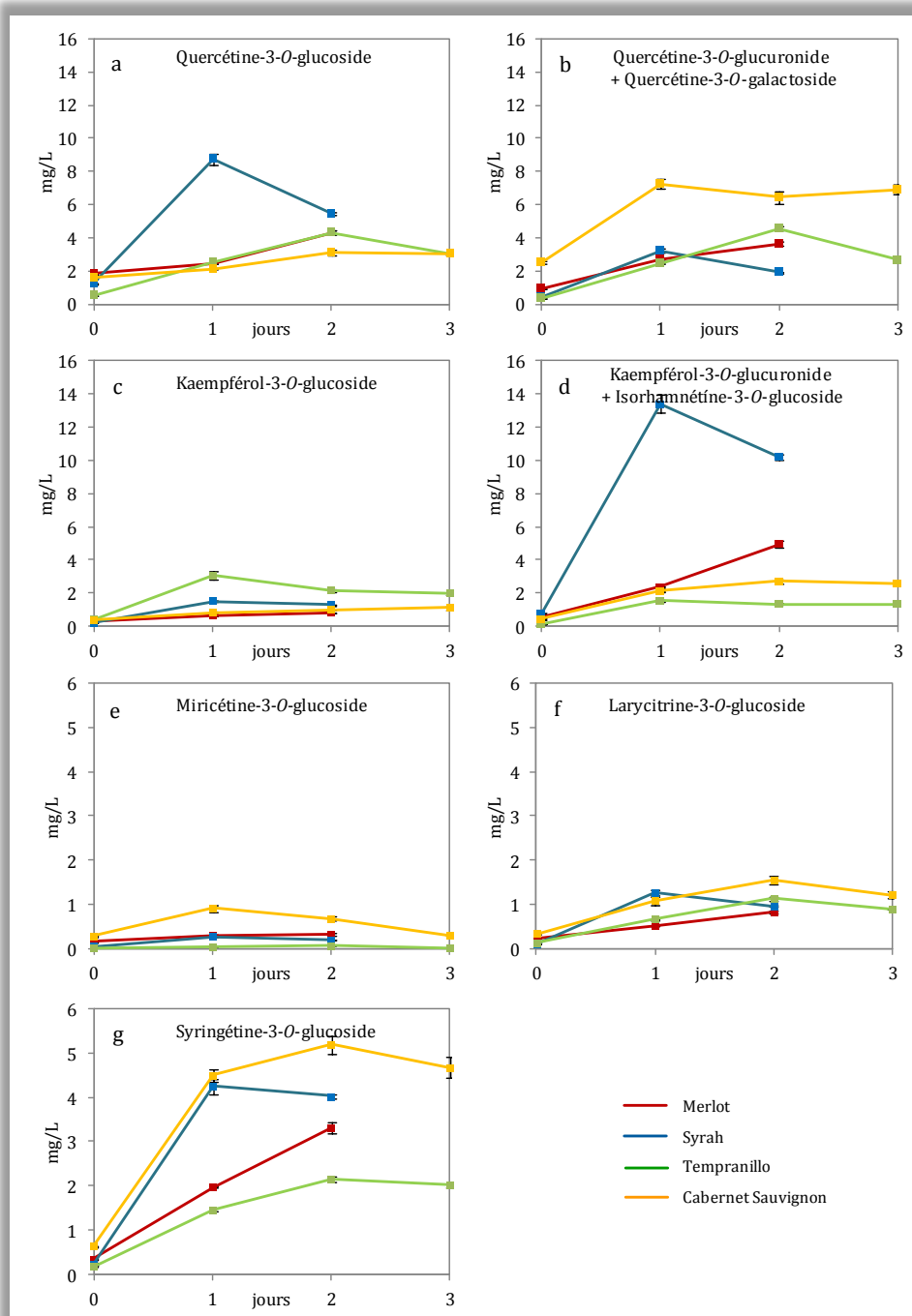


Figure 1.31. Évolution de la concentration des flavonols glycosylés (mg/L) au cours du passerillage des raisins des quatre cépages étudiés (moyenne et écart-type).

La figure 1.32 montre les concentrations des aglycones des flavonols pendant le passerillage des raisins. Initialement, aucun des cinq aglycones n'étaient présent dans des moûts, mais après les premières heures de séchage, ces composés sont apparus en très faibles concentrations. Ces flavonols sont toujours été trouvés dans les vins, mais dans ce cas ils ont été aussi identifiés dans les moûts des raisins secs parce que l'hydrolyse acide des glycosides correspondants a pu se produire lors du séchage des raisins. Cependant, leurs concentrations étaient inférieures à 1 mg/L dans tous les cas en raison de la courte durée du séchage, lors duquel ces composés auraient été synthétisés. De toute façon, le composé quercétine a été celui qui est apparu avec la concentration la plus élevée. Jeffery *et al.* (2008) ont démontré que ce flavonol, dans les conditions acides du vin, était très instable sous sa forme 3-*O*-glucoside, donc rapidement hydrolysé pour libérer l'aglycone. À partir de la quercétine, d'autres aglycones peuvent être formées, comme l'isorhamnétine (dérivé 4'-hydroxy-3'-méthoxylé de la quercétine) (Castillo-Muñoz *et al.*, 2007) et la myricétine (dérivé 3',4',5'-trihydroxy-3'-méthoxylé). Ces deux flavonols sont considérés exclusifs des cépages rouges.

Pour la myricétine, une augmentation de concentration suivie d'une diminution a eu lieu pendant les premières heures de séchage pour les quatre cépages étudiés. Ce même comportement a été observé pour l'isorhamnétine dans le Cabernet Sauvignon. Cependant, pour les trois autres cépages, cet aglycone a été quantifié après 24 heures et sa concentration a augmenté jusqu'à la fin de l'étude. Le kaempférol a montré une hausse progressive depuis le début jusqu'à des concentrations comprises entre 0.290 et 0.374 mg/L pour le Merlot et le Tempranillo, respectivement, mais il n'a pas pu être identifié dans la Syrah. L'aglycone syringétine a été le dernier à être identifié. Cela a validé la possibilité d'une substitution complète du cycle B de la structure des flavonols de *V. vinifera*, puisque la syringétine est un dérivé 4'-hydroxy-3',5'-diméthoxylé (Castillo-Muñoz *et al.*, 2009a). Ses concentrations dans les moûts finaux étaient très faibles et elles concordent avec les conclusions d'autres auteurs en raison de la stabilité du syringétine-3-*O*-glucoside (Jeffery *et al.*, 2008) qui ne s'hydrolyse pas facilement.

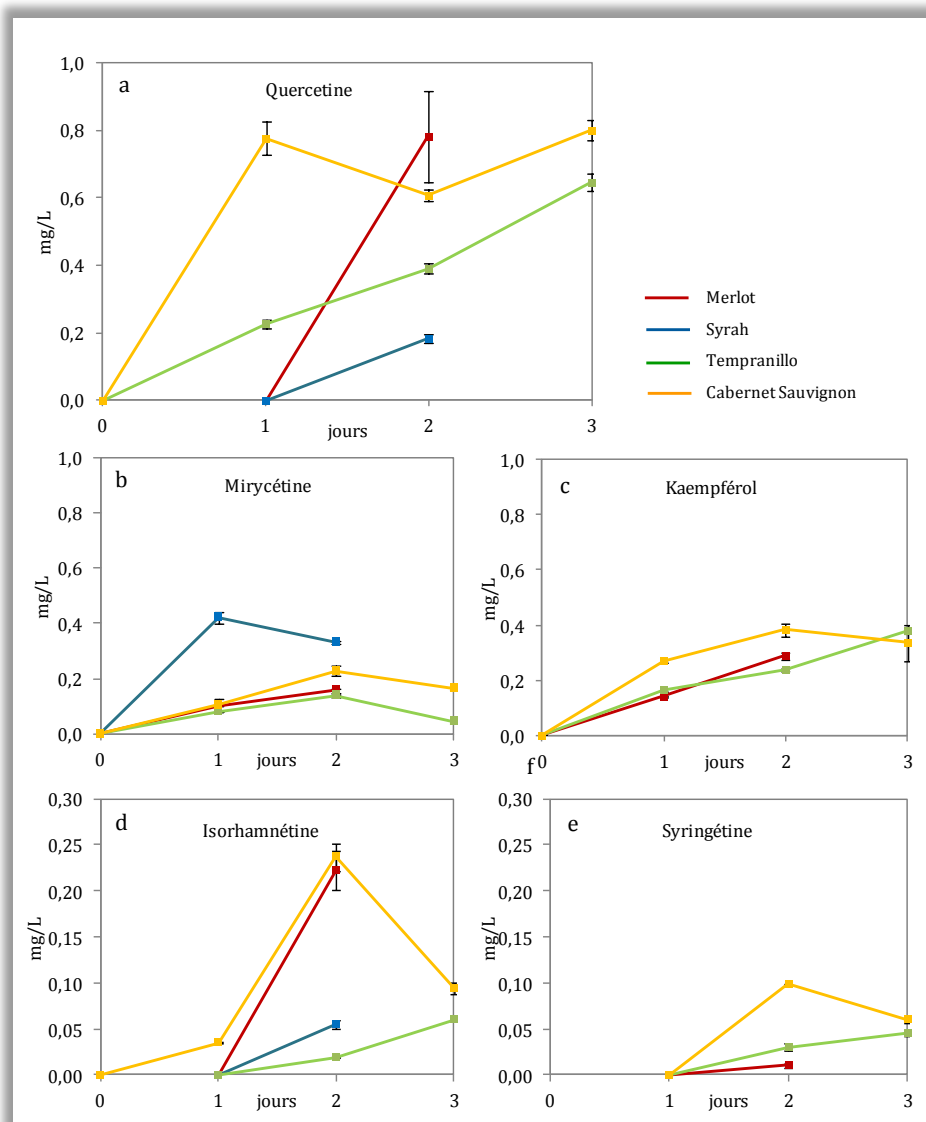


Figure 1.32. Évolution de la concentration des aglycones de la famille des flavonols (mg/L) au cours du passerillage des raisins des quatre cépages étudiés (moyenne et écart-type).

L'évolution de la fraction correspondante aux polymères de composés phénoliques des raisins au cours du passerillage est montrée dans la figure 1.33. Pour cette famille de polymères, une augmentation importante pendant le processus de séchage a été mesurée, plus élevée pour le Merlot (5.46 à 254.77 mg/L) pour lequel la concentration initiale a augmenté de 46.7 fois. Dans les trois autres cépages, l'augmentation a été beaucoup plus faible, comprise entre 4.8 et 6.0 fois, puisque la concentration initiale des polymères était plus élevée (44.0 mg/L pour le Tempranillo,

56.1 mg/L pour le Cabernet Sauvignon et 89.2 mg/L pour la Syrah). Ainsi, il peut être dit que le passerillage des raisins a impliqué une polymérisation des phénols présents initialement. Des réactions de polymérisation des dérivés de flavan-3-ol ont été possibles et cette conclusion serait une première explication à la hausse des tanins totaux. Certains polymères pourraient également avoir été formés par des interactions entre les anthocyanes ou par des réactions d'anthocyanes avec d'autres composés phénoliques, donnant lieu à des composés de poids moléculaire plus élevés. À cet égard, Mazza and Maniati (1993) ont constaté que ces réactions sont favorisées par des facteurs tels que le pH, le contenu en oxygène, l'acétaldéhyde, le dioxyde de soufre, et la concentration de molécules capables de copigmentation. Aussi, ces réactions pourraient être hypothétiquement favorisées par la température de séchage, parce que d'autres auteurs (Gao *et al.*, 1997) ont constaté que la température de fermentation était un facteur critique pour le développement des réactions de formation de pigments polymères.

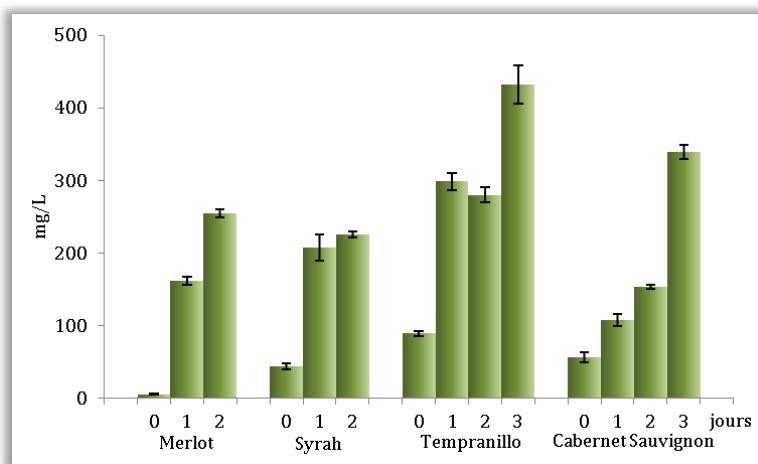


Figure 1.33. Évolution de la concentration des composés phénoliques polymérisés (mg/L) au cours du passerillage des raisins des quatre cépages étudiés (moyenne et écart-type).

La figure 1.34 montre l'évolution des composés polymères colorés au cours du processus de séchage étudié. Comme pour la fraction des polymères totaux, le passerillage a conduit à une augmentation de ces composés pour les quatre cépages, avec la hausse la plus faible pour le Merlot (6.4 fois, de 3.0 à 18.8 mg/L). Pour les trois autres cépages, des augmentations entre 11.0 pour le Tempranillo et 14.2 fois pour le Cabernet Sauvignon ont été mesurées, conduisant à des concentrations finales de 21.6, 27.5 et 28.2 mg/L pour la Syrah, le Tempranillo et le Cabernet Sauvignon, respectivement. Ces accroissements indiqueraient qu'au cours du processus de séchage à 40 °C, les anthocyanes ont été progressivement transformés en pigments polymérisés avec un maximum d'absorption à des longueurs d'onde proches à 520 nm.

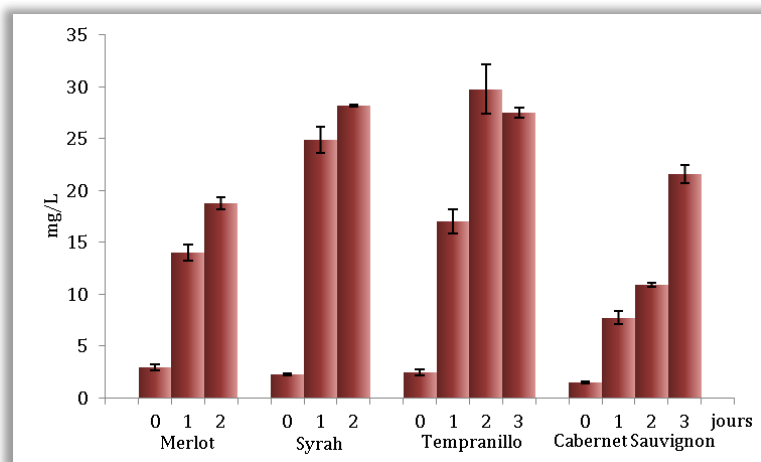


Figure 1.34. Évolution de la concentration des polymères colorés (mg/L) au cours du passerillage des raisins des quatre cépages étudiés (moyenne et écart-type).

Afin d'identifier les variables (composés phénoliques) les plus influencées par le séchage et d'étudier les différences et/ou les similitudes entre les cépages, une analyse de composantes principales avant et après le processus de séchage a été effectuée. La figure 1.35 montre le plan représenté par les deux premières composantes qui représentent ensemble 86.7% de la variance totale du processus. Les moûts initiaux et finaux se séparent clairement en fonction de la composante 1, qui représente 75.9% de la variance. La plupart des variables influent sur cette composante, surtout les adduits d'anthocyanes (0.340), les anthocyanines caféylglucosides (0.335), les pigments polymérisés (0.335) et les anthocyanes glycosides (0.330). Cela permet de valider que pendant le passerillage, les concentrations en composés phénoliques colorés ont augmenté. Pour chaque type de moût, les différents cépages se différencient en fonction de la composante 2, qui représente 10.8% de la variance et sur laquelle les esters d'acides hydroxycinnamiques (0.844) et les acides hydroxybenzoïques (-0.388) ont principalement influé.

Dans cette représentation, on peut voir que les moûts initiaux des cépages Merlot, Cabernet Sauvignon et Tempranillo étaient assez similaires en fonction de leur composition phénolique, et que le moût de Syrah était le plus différent. Cependant, après le séchage des raisins, une séparation des quatre cépages a eu lieu mettant en évidence leur différent profil phénolique. Ces résultats sont contraires à ceux trouvés pour la couleur, où une homogénéisation s'est produite avec le séchage.

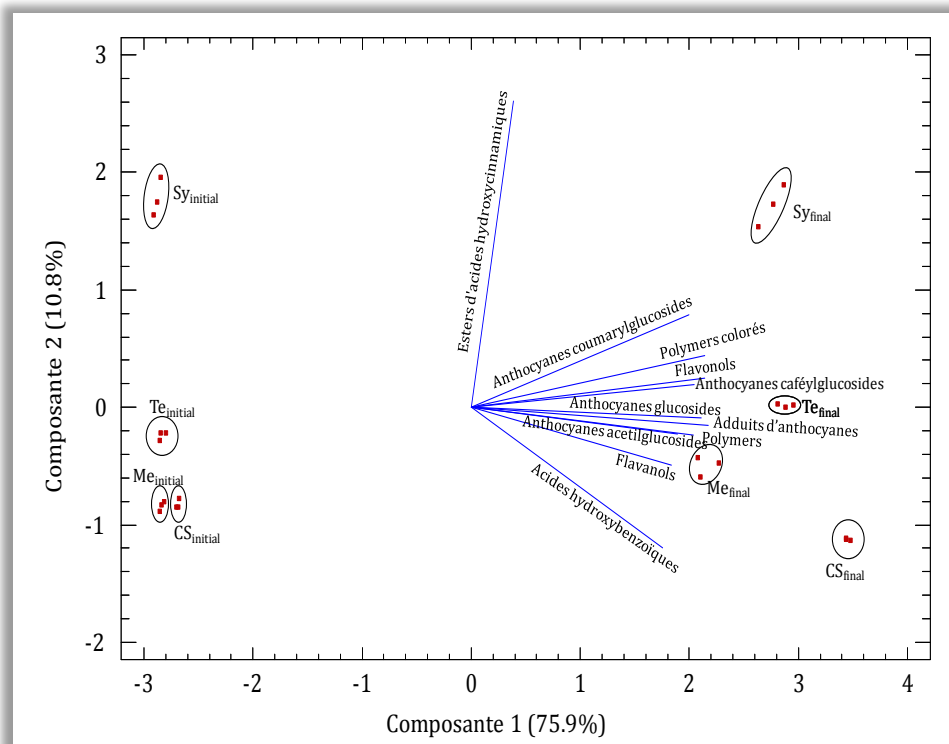


Figure 1.35. Analyse des composantes principales des moûts initiaux et finaux des quatre cépages selon les composés phénoliques étudiés.

Dans les dernières années, l'activité antioxydante de différents aliments a été très étudiée en raison de leur concentration en composés phénoliques qui agissent comme antioxydants en captant les radicaux libres via des transferts d'électrons (Prior *et al.*, 2005; Fernández-Pachón *et al.*, 2006). L'activité antioxydante dans les raisins et les vins a été étudiée (Alen-Ruiz *et al.*, 2009; Mulero *et al.*, 2009), essentiellement dans les raisins secs qui constituent le produit naturel avec les concentrations les plus élevées de composés phénoliques et par conséquent d'activité antioxydante (Parker *et al.*, 2007; Breksa *et al.*, 2010; Serratos *et al.*, 2011).

Dans cette expérience, l'évolution de l'activité antioxydante mesurée par l'essai DPPH (mmol TE/L, mmol équivalents Trolox/L) a été étudiée. L'évolution de ce paramètre, et la concentration des composés phénoliques (mg/L) au cours du passerillage sont montrés pour les raisins de Merlot et de Syrah (figure 1.36) et de Tempranillo et de Cabernet Sauvignon (figure 1.37). Dans les raisins initiaux, les valeurs d'activité antioxydante obtenus varient entre 1.91 et 3.90 mmol TE/L pour le Cabernet Sauvignon et le Tempranillo respectivement. Ils ont augmenté pendant le séchage jusqu'à des valeurs finales de 3.39 mmol TE/L pour la Syrah, 5.83 mmol TE/L pour le Cabernet Sauvignon, 7.94 mmol TE/L pour le Merlot et 8.80 mmol TE/L pour le Tempranillo. Selon le cépage étudié, les valeurs obtenus se sont rapprochés des valeurs trouvées par les autres auteurs dans des vins jeunes ou peu âgés (de 3 et 5

mmol TE/L) (Alen-Ruiz *et al.*, 2009) ou pour des vins plus vieux, dans lesquels des activités antioxydantes entre 7 et 8 mmol TE/L ont été mesurées (Tabart *et al.*, 2009).

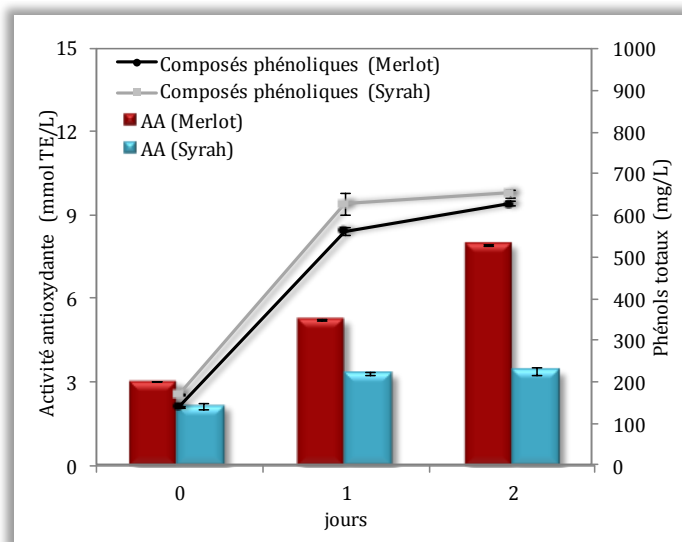


Figure 1.36. Évolution de la concentration des composés phénoliques totaux (mg/L) et de l'activité antioxydante (mmol TE/L) au cours du processus du passerillage des raisins des cépages Merlot et Syrah (moyenne et écart-type).

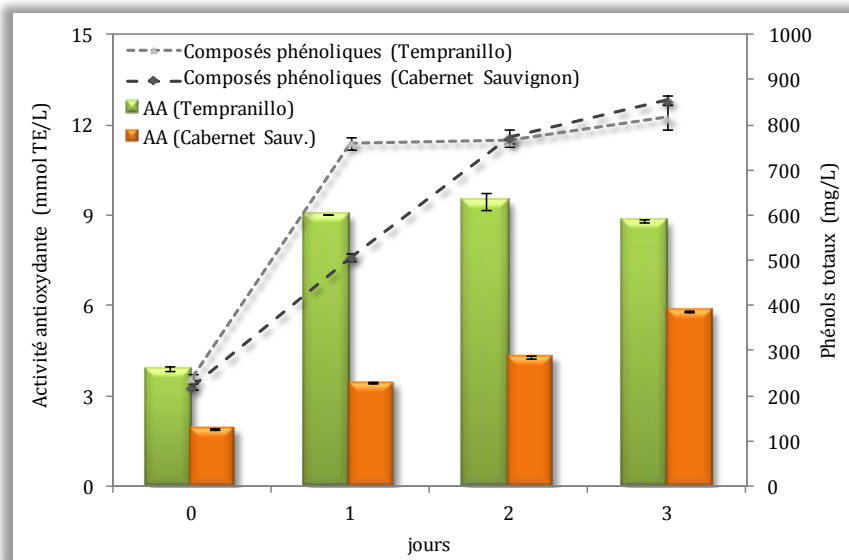


Figure 1.37. Évolution de la concentration des composés phénoliques totaux (mg/L) et de l'activité antioxydante (mmol TE/L) au cours du processus du passerillage des raisins des cépages Tempranillo et Cabernet Sauvignon (moyenne et écart-type).



Les accroissements mesurés d'activité antioxydante peuvent être mis en relation avec l'augmentation des composés phénoliques qui se produit au cours du passerillage, d'après les études de nombreux auteurs qui ont utilisé l'indice des polyphénols totaux pour la corrélérer à l'activité antioxydante des moûts et des vins rouges (Frankel *et al.*, 1995; Alonso *et al.*, 2002; Paixão *et al.*, 2007; Piljac-Žegarac *et al.*, 2007; Xu *et al.*, 2010; Katalinic *et al.*, 2010). Dans cette étude, les augmentations mesurées d'activité antioxydante (entre 1.6 et 3.1 fois pour Syrah et Cabernet Sauvignon, respectivement) ont été parallèles à l'augmentation de la concentration des polyphénols. Cependant, les concentrations des phénols totaux ont été proches pour les différents cépages, tandis que les valeurs d'activité antioxydante ont varié, avec les valeurs les plus élevées pour les moûts de Merlot et de Tempranillo.

En résumé, le processus de passerillage de raisins a impliqué des hausses de la concentration de polyphénols et de l'activité antioxydante, et comme conséquence les vins élaborés avec ces raisins secs seraient très intéressants d'un point de vue santé.

## **CONCLUSIONS/CONCLUSIONES**

---

### **Conclusions**

Avec les résultats obtenus du séchage en chambre à température contrôlée des cépages Merlot, Syrah, Tempranillo et Cabernet Sauvignon, cultivés dans l'Appellation d'Origine Montilla-Moriles, les conclusions suivantes peuvent être tirées:

1. Les raisins Tempranillo étaient le plus gros, suivis par ceux de Merlot et de Syrah. Les baies de Cabernet Sauvignon étaient les plus petites et avec le plus petit poids moyen. En ce qui concerne les caractéristiques de la pellicule, les raisins Tempranillo avaient le plus faible pourcentage de pellicule. Aussi, les pellicules des raisins Merlot étaient les plus sucrées, les moins acides et avec la proportion plus élevée de composés bruns et de pigments rouges.
2. Le séchage en chambre des raisins en conditions contrôlées, pour obtenir une concentration de sucres légèrement plus élevée de 300 g/L, a provoqué une déshydratation des baies en 37 heures pour la Syrah, 48 heures pour le Merlot et 72 heures pour les deux cépages restantes. Ces différences étaient dues aux caractéristiques des baies, puisque une plus grande compacité rend difficile l'évaporation de l'eau. Les temps nécessaires pour le séchage ont été, dans tous les cas, plus petits que ceux nécessaires pour le passerillage traditionnelle au soleil utilisé dans l'Appellation d'Origine Montilla-Moriles pour l'élaboration des vins doux.
3. Le séchage a augmenté la couleur rouge des moûts de 5.1 fois pour le cépage Syrah à 10.6 pour le Tempranillo, dû à la rupture des pellicules pendant le séchage et l'extraction des anthocyanes à la pulpe. En outre, le séchage a provoqué une synthèse des pigments bruns dans les moûts, principalement par voie enzymatique, avec des augmentations significatives de l'absorbance à 420 nm, mais la couleur rouge typique des vins rouges n'a pas été masquée. Par rapport aux coordonnées CIELAB, des différences significatives entre la couleur des moûts des raisins frais et des raisins secs existent. Le moût de Tempranillo a été le plus sombré et le plus rouge. Le séchage a provoqué une homogénéité de la couleur dans les quatre cépages.
4. Le séchage a produit des changements de la perméabilité des membranes et il a donné lieu à un métabolisme anaérobique et l'activation de l'enzyme alcool déshydrogénase. La présence de l'acide pyruvique, de l'acétaldéhyde et de l'éthanol dans les moûts des raisins secs confirment les transformations enzymatiques et la formation de pyranoanthocyanes et d'adduits de condensation des anthocyanes et des flavanols à travers un pont méthylemetine. Ces dérivés d'anthocyanes confèrent une stabilité contre les variations de pH et de blanchiment par SO<sub>2</sub> aux vins, produits sans fermentation.
5. Les anthocyanes ont augmenté sa concentration pendant les premières heures du séchage, comme conséquence de l'extraction des pellicules. À la fin du passerillage, la concentration des anthocyanes a diminué en raison de la participation en réactions de copigmentation, d'addition et/ou de

polymérisation, entre autres. Les tanins ont augmenté sa concentration pendant l'étude, pour son extraction des parties solides des baies et pour la polymérisation des dérivés de flavan-3-ol de poids moléculaire plus faibles. Finalement, les flavonols glycosylés ont augmenté au début du séchage, en raison de l'extraction des pellicules. Après, la concentration de ces composés a diminué, pour obtenir l'aglycone correspondante par hydrolyse acide.

## **Conclusiones**

Con los resultados obtenidos acerca de la pasificación en cámara a temperatura controlada de uvas de las variedades Merlot, Syrah, Tempranillo y Cabernet Sauvignon cultivadas en la D.O. Montilla-Moriles, se pueden extraer las siguientes conclusiones:

1. La uva Tempranillo fue la de mayor tamaño, seguida de la Merlot y la Syrah, siendo la Cabernet la más pequeña y con menor peso medio de la baya. En cuanto a las características del hollejo, la uva Tempranillo fue la que presentó menor proporción de hollejo y el de la uva Merlot fue el más azucarado, con menor acidez, mayor proporción de compuestos pardos y pigmentos rojos.
2. El proceso de secado en cámara de las uvas a temperatura controlada, para alcanzar una concentración de azúcares algo superior a 300 g/L, provocó una deshidratación de los frutos en tiempos de 37 horas para las uvas Syrah, 48 horas para las Merlot y algo mayor en las dos variedades restantes (72 horas). Estas diferencias fueron consecuencia de las características de las bayas, que al tener una mayor compacidad, dificultan más la evaporación del agua. Los tiempos requeridos para la pasificación fueron, en todos los casos, mucho menores que el necesario para realizar la pasificación al sol, tradicionalmente usa en la D.O. Montilla-Moriles para elaborar vinos dulces.
3. Tras la pasificación aumentó el color rojo de los mostos desde 5.1 veces para la variedad Syrah hasta 10.6 para la variedad Tempranillo, debido a la rotura de los hollejos durante el secado y la consecuente extracción de antocianos hacia la pulpa. Asimismo, el secado provocó una síntesis de pigmentos pardos en los mostos, fundamentalmente por vía enzimática, con aumentos considerables en la absorbancia a 420 nm, pero que en ningún momento llegaron a enmascarar el color rojo típico de los vinos tintos. Considerando las coordenadas CIELAB, existen diferencias significativas entre el color de los mostos de uva fresca, siendo el de Tempranillo el más oscuro y más rojizo de ellos. El proceso de secado provocó una homogeneidad en el color de los mostos de las cuatro variedades.
4. El proceso de secado produjo cambios en la permeabilidad de las membranas, dando lugar a un metabolismo anaeróbico y activación de la enzima alcohol deshidrogenasa. La presencia de ácido pirúvico, acetaldehído y etanol en los mostos de uvas pasificadas confirman las transformaciones enzimáticas y la formación de piranoantocianos y aductos de condensación de antocianos y flavanoles a partir de puentes metilmetileno. Estos derivados antociánicos les

confieren a estos vinos, elaborados sin fermentación, estabilidad del color frente a cambios de pH y blanqueo por SO<sub>2</sub>.

5. Los antocianos experimentaron un aumento inicial en su concentración durante las primeras horas de secado, como consecuencia de su extracción desde los hollejos, y un descenso al final debido a su participación en reacciones de copigmentación, adición y/o polimerización, entre otras. Los taninos aumentaron su concentración durante el estudio debido a su extracción desde las partes sólidas de las bayas y a la polimerización de derivados del flavan-3-ol de menor peso molecular. Finalmente, los flavonoles sustituidos con una molécula de azúcar aumentaron su concentración al principio de la pasificación debido a su extracción desde los hollejos de las uvas, para disminuir después debido a su hidrólisis ácida, lo que dio lugar a las agliconas correspondientes.



*Maceración pelicular en la  
elaboración de los vinos*

---



## INTRODUCCIÓN

La mayor parte de los compuestos fenólicos presentes en las uvas se encuentran en las partes sólidas de las bayas, y tienen que ser extraídos hacia el mosto durante el proceso de vinificación, con el fin de que posteriormente se encuentren también en los vinos acabados. Por ello, en la elaboración de vinos tintos, es especialmente importante la extracción de antocianos, presentes naturalmente en los hollejos de las uvas tintas (y en la pulpa en variedades tintoreras), así como de otros compuestos fenólicos, de modo que los mostos y, posteriormente los vinos, contengan altas concentraciones de flavan-3-oles, flavonoles y ácidos fenólicos. La extracción de todos estos compuestos se consigue con un proceso de maceración, que involucra la difusión y la disolución de los mismos en el mosto durante el tiempo que éste está en contacto con las partes sólidas de las uvas.



Un objetivo frecuente de este proceso de maceración es obtener vinos con más color, cuerpo y complejidad. En este sentido, el control del tiempo de maceración implica encontrar un óptimo en el cual se obtengan los vinos con más color y mejor perfil organoléptico, con la dificultad de que las distintas sustancias que se extraen de la uva tienen distintos umbrales de percepción sensoriales (Thorngate, 1997). Además, los mismos factores que favorecen la cesión de sustancias sensorialmente agradables, pueden favorecer la de otras amargas o astringentes. Por otro lado, la concentración de sustancias cedidas no sigue una evolución que se ajuste a modelos lineales simples en función del tiempo, debido a que durante la extracción, las sustancias sufren además fenómenos colaterales como la saturación y la precipitación, adsorción sobre los sólidos, condensación molecular, oxidación y cambios de copigmentación (Sommers and Evans, 1979; Ribéreau-Gayon, 1982).



En este sentido, la evolución de la concentración de antocianos durante la maceración es una combinación de fenómenos de ganancia y pérdida. Por un lado, son compuestos hidrosolubles (en los hollejos se encuentran disueltos en el jugo vacuolar) y su difusión es muy rápida porque es posible su disolución en el mosto aún sin presencia de etanol. Por otro lado, las pérdidas se deben a que los antocianos participan en reacciones de polimerización con los taninos o pueden formar aductos de condensación directa con derivados del flavan-3-ol o a través de puentes metilmetino (Rivas-Gonzalo *et al.*, 1995; Francia-Aricha *et al.*, 1997) y estos polímeros pueden combinarse con las proteínas y volverse insolubles (Doco *et al.*, 1996), o con los polisacáridos que en parte precipitan con los cristales de bitartrato (Vernhet *et al.*, 1999). Otro mecanismo que provoca descensos es que, paralelamente a la extracción, los antocianos son reabsorbidos sobre las partes sólidas, llegándose a porcentajes del 30-40% (Singleton and Esau, 1969; Romero-Cascales *et al.*, 2005), por lo que se establece un equilibrio basado en la adsorción-desorción de los antocianos en los hollejos y en el mosto/vino y una vez alcanzado dicho equilibrio no se observa más extracción (Boulton, 2001).

De acuerdo con Koyama *et al.* (2007), todos los compuestos fenólicos que se encuentran en las pieles de las bayas, como flavonoles o taninos de la piel, además de



los antocianos, se extraen rápidamente en las primeras etapas de la maceración. La concentración de antocianos llega a un máximo a partir del cual desciende gradualmente (Sacchi *et al.*, 2005), mientras que los fenoles extraídos de las semillas, como ácido gálico, monómeros derivados del flavan-3-ol y taninos se extraen gradualmente, y no llega a establecerse un equilibrio durante el periodo de maceración. En el caso concreto de los taninos de las semillas, estos compuestos requieren un mayor contenido de alcohol para asegurar su disolución, por lo que su difusión hacia el mosto/vino es más lenta y, consecuentemente, se puede deducir que vinos con una concentración alta de taninos son el resultado de haber sido sometidos a vinificaciones con maceraciones largas. La diferente evolución de los taninos del hollejo y de las semillas ha sido estudiada por diversos autores, confirmando este modelo de extracción (Peyrot des Gachons and Kennedy, 2003). Igualmente, Canals *et al.* (2005) comprobaron que los fenoles totales (medidos como absorbancia a 280 nm) se extraen rápidamente de las pieles en 4-5 días, mientras que los de las pepitas lo hacen gradualmente, lo cual podría explicarse de acuerdo a las diferencias en la estructura de las capas de los hollejos y de las semillas.

Durante la maceración también se han estudiado los cambios de temperatura, ya que afecta a la permeabilidad de las células y las membranas de las bayas, influyendo en la extracción de compuestos (Koyama *et al.*, 2007). En este sentido, algunos de los métodos que se han usado han sido fermentaciones a altas temperaturas, termovinificación o calentamiento al final de la maceración (Reynolds *et al.*, 2001; Zimman *et al.*, 2002; Gerbaux, 2003; Sacchi *et al.*, 2005). Además, cada vez más se está usando la criomaceración, que consiste en mantener las uvas estrujadas a bajas temperaturas (5-10 °C), durante un periodo de tiempo que puede variar desde una a varias semanas, previo al comienzo de la fermentación (González-Neves *et al.*, 2010a; Gordillo *et al.*, 2010; Heredia *et al.*, 2010). En vinos de la variedad Syrah producidos en Andalucía, se ha encontrado que con este tipo de maceración prefermentativa en frío se obtiene mayor extracción de antocianos y otros compuestos fenólicos, obteniéndose vinos más oscuros y menos pardeados (Gómez and Heredia, 2004; Gómez-Míguez *et al.*, 2007).

Con los resultados obtenidos en el capítulo anterior, se puede afirmar que durante la pasificación de las uvas y como consecuencia de la deshidratación, se originan cambios estructurales irreversibles en la estructura celular del hollejo (Margaris and Ghiaus, 2007), por lo que los compuestos fenólicos presentes en ellas se comienzan a difundir hacia la pulpa durante el secado. Como consecuencia, cuando se realice una maceración posterior, el tiempo necesario posiblemente sea más corto que si se hubiera realizado con uva fresca, teniendo además en cuenta que los vinos presentarán un grado alcohólico alto desde el comienzo del proceso.

En este sentido, se plantea como segundo objetivo de la presente memoria, optimizar el proceso de maceración pelicular necesario para obtener vinos tintos dulces de las variedades Merlot, Syrah, Tempranillo y Cabernet Sauvignon con el máximo color rojo, el mínimo color pardo y las concentraciones más adecuadas de cada una de las familias de compuestos fenólicos estudiados. Previamente a la maceración, dichos vinos se obtienen a partir de uvas pasificadas en cámara a temperatura controlada para aumentar su contenido en azúcares.

## MATERIAL EXPERIMENTAL

Se realizó la pasificación de uvas tintas de las variedades Merlot, Syrah, Tempranillo y Cabernet Sauvignon, cultivadas en la región de la D.O. Montilla-Moriles, siguiendo el mismo procedimiento descrito en el capítulo anterior. Una vez la concentración de azúcares reductores en las uvas pasificadas fue de aproximadamente 310 g/L, se procedió al prensado de las mismas en una prensa vertical similar a la mostrada en el capítulo 3, y los mostos resultantes se fortificaron con alcohol vínico (Alcoholes del Sur) hasta 15% (v/v).

Después del prensado, los racimos fueron despalillados manualmente, desechando los raspones y la mayoría de las pepitas, procediéndose a la maceración de los hollejos con el vino a 25 °C durante 96 horas en un depósito de acero inoxidable de 50 L que se muestra en la imagen. La proporción de hollejos respecto a volumen de vino a macerar se encontró entre 2 y 3 Kg/L para los cuatro casos, debiéndose las diferencias a la distinta proporción de pulpa respecto a peso de hollejos dependiendo de la variedad considerada. Durante el proceso de maceración, diariamente se realizó un remontado del vino de manera manual con el objetivo de homogeneizar el medio, aunque a diferencia de lo que ocurre en la vinificación en tinto, en este caso no se formó el sombrero ya que la proporción de vino con respecto a hollejos era mucho menor por la pérdida de agua en la pasificación previa. Se tomó una muestra de vino cada 24 horas y, concluida la maceración, se realizó una segunda prensada, desechando los hollejos y tomando la muestra de vino final. Los cinco vinos obtenidos (vino sin maceración, vino después de 24 horas, vino después de 48 horas, vino después de 72 horas y vino después de 96 horas de maceración) fueron centrifugados a 3000 rpm y filtrados antes de ser sometidos a las diferentes determinaciones, realizando todas las medidas por triplicado.



## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

---

### **Evolución del color durante la maceración**

En primer lugar y antes de comenzar con el análisis de los diferentes parámetros estudiados, hay que señalar que en una vinificación normal de vino tinto el tiempo de maceración suele ser superior a 96 horas. En este caso, la pasificación previa de las uvas, permitió que muchos de los compuestos fenólicos y compuestos aromáticos presentes en los hollejos, ya hubiesen empezado a difundirse hacia la pulpa durante esta primera etapa. Igualmente, la presencia de etanol en el medio desde el primer momento de la maceración, implicaría un acortamiento en el proceso de extracción de los compuestos presentes en las pieles hacia el vino.

Por otro lado, hay que tener en cuenta que los valores iniciales de los diferentes parámetros para el proceso de maceración no coinciden con los valores finales de los mostos de uvas pasificadas, ya que se ha llevado a cabo la fortificación mediante adición de alcohol vínico y consecuentemente una dilución. Precisamente este descenso en el color y concentración de compuestos coloreados, es lo que justifica realizar el proceso de maceración para extraer más y compensar dicha pérdida.

La figura 2.1 muestra la evolución de la absorbancia medida a 420 nm de los diferentes vinos a lo largo del proceso de maceración, donde puede observarse un aumento del pardeamiento en todas las variedades durante las primeras 24 horas, que pudo deberse a la extracción de compuestos pardos desde los hollejos de las uvas. A partir de ese momento y para el resto del proceso de maceración, los cambios observados en este parámetro no fueron significativos en las variedades Merlot y Tempranillo, mientras que para Syrah y Cabernet Sauvignon continuó aumentando ligeramente en las horas siguientes. El vino de la variedad Tempranillo presentó durante todo el proceso unos valores de absorbancia a 420 nm bastante superiores a los vinos de las restantes variedades, lo que indicaría que en esta variedad la proporción de compuestos pardos fue superior.

La figura 2.2 muestra la evolución de la absorbancia a 520 nm para los diferentes vinos a lo largo del proceso de maceración, observándose un aumento importante en las primeras 24 horas debido a la rápida extracción de los compuestos coloreados rojos presentes en las pieles de las uvas, cuya disolución debió ser rápida por el elevado porcentaje de etanol en el medio desde el inicio del estudio. Los vinos de las variedades Merlot y Tempranillo alcanzaron el máximo de  $A_{520}$  a las 24 horas de maceración (3.83 y 5.24 u.a. respectivamente), siendo necesarias 48 horas en el caso de Syrah y Cabernet Sauvignon (4.66 y 4.32 u.a. respectivamente). Durante toda la maceración, la absorbancia a 520 nm fue superior a la correspondiente a 420 nm para los cuatro vinos, presentaron todos un marcado color rojo, aunque dependiendo de la variedad de uva la proporción entre ellas fue diferente.

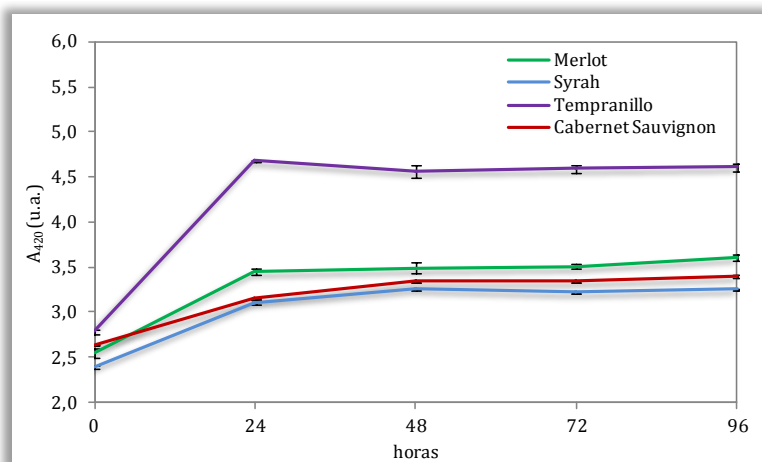


Figura 2.1. Evolución de la absorbancia a 420 nm (media y desviación estándar) durante el proceso de maceración de los vinos de las cuatro variedades estudiadas.

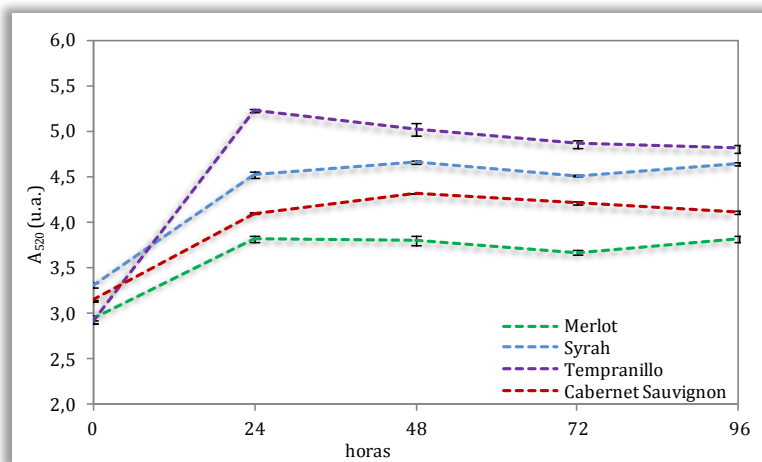


Figura 2.2. Evolución de la absorbancia a 520 nm (media y desviación estándar) durante el proceso de maceración de los vinos de las cuatro variedades estudiadas.

La figura 2.3 muestra la evolución de la absorbancia a 620 nm a lo largo del proceso estudiado, mostrando un progreso muy similar al comentado en las medidas anteriores, con un aumento importante en las primeras 24 horas de maceración, manteniéndose dicho crecimiento hasta las 48 horas para Syrah y Cabernet Sauvignon y sin cambios significativos a partir de ese momento. De nuevo la variedad Tempranillo presentó los valores mayores durante todo el estudio, por lo que se puede decir que este vino fue el más coloreado de acuerdo a las medidas de absorbancia realizadas.

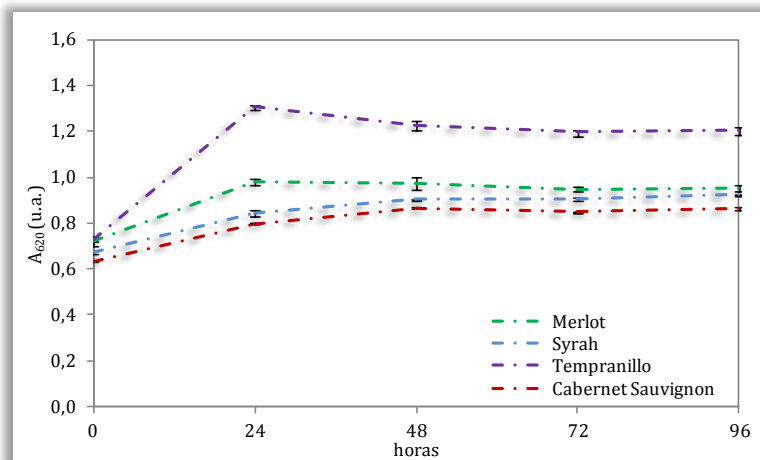


Figura 2.3. Evolución de la absorbancia a 620 nm (media y desviación estándar) durante el proceso de maceración de los vinos de las cuatro variedades estudiadas.

Además de las absorbancias anteriores, se midieron las coordenadas del espacio CIELAB de los cuatro vinos a los diferentes tiempos de maceración estudiados. En primer lugar, en la figura 2.4 se representa la evolución de claridad, la cual disminuyó durante las primeras 24 horas de contacto con los hollejos para las cuatro variedades, indicando un oscurecimiento de los vinos. En el caso de la variedad Syrah, una ligera disminución se mantuvo hasta el final del proceso, aunque no llegó a ser significativa en algunos casos. En conjunto, al final de la maceración el vino Tempranillo resultó ser el más oscuro (13.31 unidades CIELAB), y el correspondiente a la variedad Cabernet Sauvignon el más claro (19.42 unidades CIELAB).

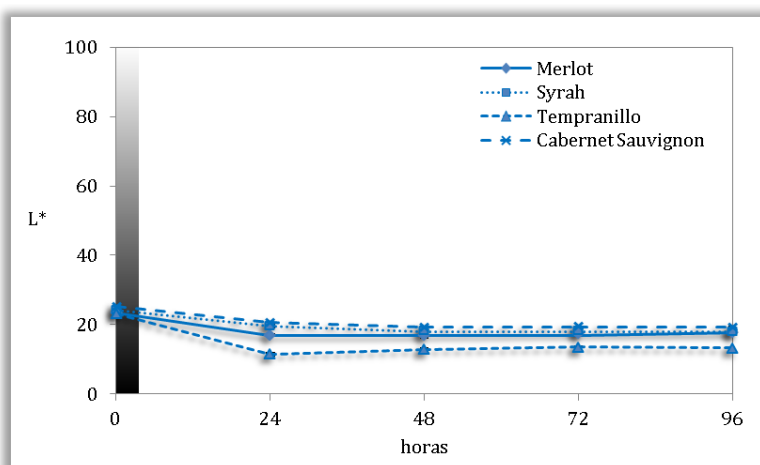


Figura 2.4. Evolución de la claridad (media y desviación estándar) durante el proceso de maceración de los vinos de las cuatro variedades estudiadas.

Como los valores de luminosidad fueron inferiores a 20 para todos los vinos analizados, los puntos que representarían sus coordenadas CIELAB se situarían en planos  $a^*b^*$  situados en la parte inferior de la esfera del espacio CIELAB, según se muestra en la figura 2.5. En esta zona de la esfera, la distancia entre dos puntos determinados sería mucho más pequeña que la correspondiente a otros dos puntos con las mismas coordenadas  $a^*$  y  $b^*$ , pero con un valor de  $L^*$  próximo a 50. De acuerdo con este razonamiento, los puntos correspondientes a los vinos estudiados a distintos tiempos de maceración estarían muy próximos entre sí, siendo todos estos vinos muy oscuros y con unos colores muy parecidos.

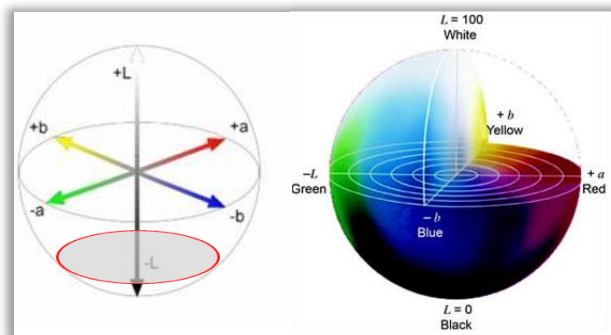


Figura 2.5. Representación del espacio CIELAB.

De esta forma, si se representa la parte del plano formado por las coordenadas  $a^*$  y  $b^*$  en sentido positivo (figura 2.6), puede observarse que los vinos de las variedades Merlot, Syrah y Cabernet Sauvignon presentaron valores de estas coordenadas muy próximos entre sí, siendo la variedad Tempranillo la más diferente, lo que estaría de acuerdo con los resultados de las absorbancias medidas anteriormente.

Además de las coordenadas cartesianas  $a^*$  y  $b^*$ , el espacio CIELAB se define mediante las coordenadas polares  $C^*_{ab}$  (cromaticidad) y  $h_{ab}$  (tono), siendo la primera la medida de la saturación o croma, y representa el módulo del vector limitado por el punto central del espacio de color ( $a^*=b^*=0$ ) y el punto considerado. La cromaticidad disminuyó durante el primer día de maceración para los vinos Merlot y Tempranillo y durante los dos primeros en el caso de Syrah y Cabernet Sauvignon, disminuyendo consecuentemente la viveza del color. Durante el resto del proceso de maceración, los cambios en la cromaticidad no fueron significativos, indicando que el color de estos vinos apenas habría cambiado tras las primeras horas de maceración. Con respecto al tono, que corresponde al ángulo cromático, se midió una disminución de  $h_{ab}$  durante las primeras 24 horas de maceración en Merlot y Tempranillo y durante 48 horas en Syrah y Cabernet Sauvignon, indicando un enrojecimiento de los vinos, aumentando después ligeramente en todas las variedades, sin ser significativo el cambio en muchos de los vinos estudiados.

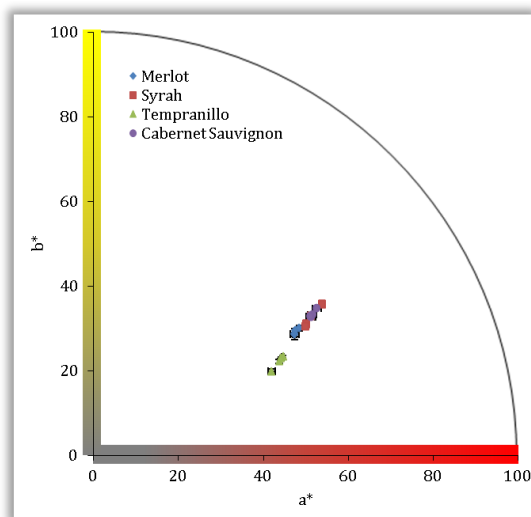


Figura 2.6. Representación de las coordenadas a\* y b\* del espacio CIELAB para los vinos estudiados durante el proceso de maceración.

Con los datos de las coordenadas CIELAB a\*, b\* y L\*, se han calculado las distancias euclidianas entre dos puntos, que representan las diferencias entre los vinos de cada variedad para cada intervalo de tiempo en el proceso de maceración (tabla 2.1). De acuerdo con lo ya comentado en el capítulo anterior, dos vinos pueden ser distinguibles por el ojo humano cuando la distancia euclidiana ( $\Delta E$ ) entre ambos sea superior a 3. Según esto, y de acuerdo a los datos de la tabla, puede observarse que durante el primer día de maceración, la extracción de compuestos desde los hollejos hasta el vino fue lo suficientemente importante para que los vinos de ambos días pudiesen diferenciarse fácilmente, encontrando valores de  $\Delta E$  altos. Con la excepción del vino Tempranillo entre 24 y 48 horas, para el cual se midió un valor de distancia euclidiana muy cercano a 3, a partir de las 24 horas de maceración los vinos ya serían indistinguibles por el ojo humano de los correspondientes del día anterior, siendo los valores de  $\Delta E$  muy pequeños en las cuatro variedades.

Horas	0-24	24-48	48-72	72-96
Merlot	10.3	0.180	0.931	0.933
Syrah	6.11	2.46	0.058	0.713
Tempranillo	22.7	3.30	1.56	0.628
Cabernet Sauvignon	7.37	2.75	0.613	0.685

Tabla 2.1. Valores de distancia euclidiana para los vinos de las cuatro variedades de uvas estudiadas en días consecutivos del proceso de maceración.

Se calcularon también las distancias euclidianas para establecer las posibles diferencias entre vinos de las cuatro variedades, en cada uno de los días del proceso de maceración llevado a cabo (tabla 2.2). De acuerdo a los valores calculados, puede

deducirse que la mayoría de los vinos presentaban un color que los hacía distinguibles de los correspondientes a otras variedades. En los momentos inicial (0 horas) y final de la maceración (96 horas), los vinos fueron más parecidos y se encontraron las mayores diferencias entre los vinos Syrah y Tempranillo, y Tempranillo y Cabernet Sauvignon, en los intermedios del proceso de maceración.

<i>Horas</i>	<i>0</i>	<i>24</i>	<i>28</i>	<i>72</i>	<i>96</i>
Merlot – Syrah	2.18	6.33	3.81	1.46	2.18
Merlot – Tempranillo	1.41	11.6	8.50	9.40	1.41
Merlot – Cabernet Sauvignon	5.99	8.92	6.09	4.12	5.99
Syrah – Tempranillo	2.31	17.9	12.1	10.5	2.31
Syrah – Cabernet Sauvignon	4.39	2.60	2.32	3.00	4.39
Tempranillo – Cabernet Sauvignon	5.07	20.5	14.5	13.5	5.07

Tabla 2.2. Valores de distancia euclidiana entre los vinos de las cuatro variedades de uvas a lo largo del proceso de maceración.

La evolución del color total de pigmentos (WCA), medido como absorbancia a 520 nm para los vinos estudiados, se muestra en la figura 2.7. Puede verse como los vinos de las cuatro variedades presentaron valores muy próximos entre sí, además de que los cambios experimentados durante la maceración no fueron muy importantes. Para los cuatro vinos se produjo un aumento inicial durante 24 horas (48 horas para Syrah), llegando a valores entre 11.2 u.a. para Syrah y 13.1 u.a. para Cabernet Sauvignon, a lo cual siguió un descenso en la medida de este parámetro hasta las 72 horas de maceración en todos los casos, que pudo ser debido a la readsorción de los compuestos coloreados por las partes sólidas en contacto con el vino, así como a las posibles reacciones de polimerización de antocianos con otros compuestos, como los taninos. Ya en las últimas horas de estudio, el color total de pigmentos no fue significativamente diferente en los vinos, con la excepción del vino Cabernet Sauvignon que volvió a aumentar el valor de esta medida hasta 9.5 u.a. Teniendo en cuenta el bajo pH (<1) al que se lleva a cabo esta medida, se podría decir que en los días intermedios de la maceración se había alcanzado un equilibrio entre los compuestos coloreados disueltos en el vino y los adsorbidos en los hollejos, por lo que alargar el tiempo de contacto no permitiría tener vinos con mayor color rojo.

En los vinos tintos, la presencia de polímeros puede ser muy interesante, pues son compuestos que favorecen la estabilidad del color del vino con el tiempo (Castillo-Sánchez *et al.*, 2008). Por ello, se midió la evolución del parámetro color de pigmentos poliméricos (PPC) durante la maceración de los vinos tintos estudiados, cuyos valores se muestran en la figura 2.8. Puede observarse, que PPC aumentó de manera notable en las primeras 24 horas de estudio para todas las variedades, mostrando a continuación cambios muy pequeños, los cuales no fueron significativos en muchos casos. El aumento de este parámetro durante el tiempo de contacto de los vinos con las partes sólidas de las bayas, sería debido a la formación de polímeros coloreados procedentes fundamentalmente de monómeros de antocianos. Al final del estudio de maceración, la variedad Tempranillo presentó el mayor valor (1.93 u.a.), seguido por el vino Cabernet Sauvignon (1.51 u.a.), Syrah (1.12 u.a.) y Merlot (1.00 u.a.).



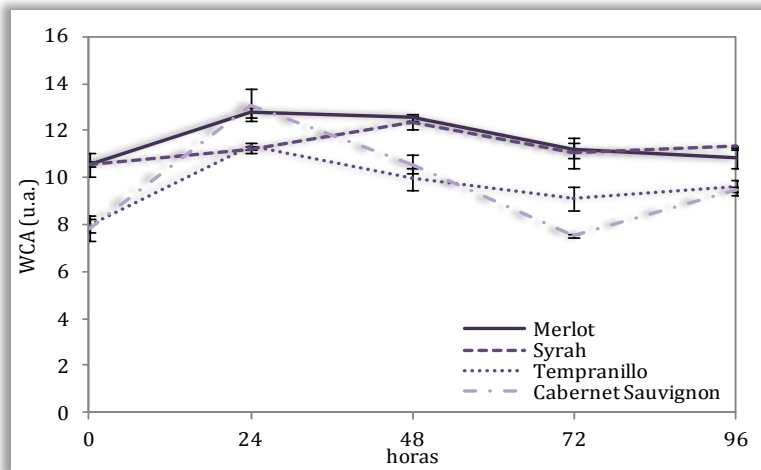


Figura 2.7. Evolución del color total de pigmentos (u.a.) (media y desviación estándar) durante el proceso de maceración de los vinos de las cuatro variedades estudiadas.

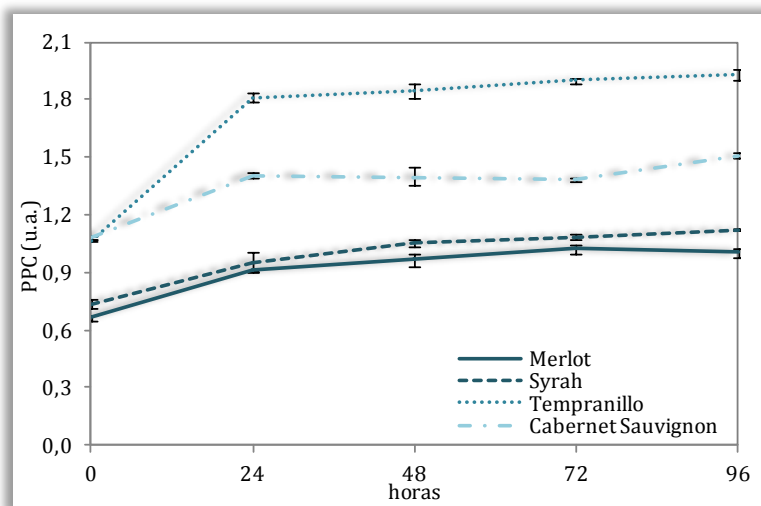


Figura 2.8. Evolución del color de pigmentos poliméricos (u.a.) (media y desviación estándar) durante el proceso de maceración de los vinos de las cuatro variedades estudiadas.

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

En la figura 2.9 se representa la evolución del índice de polifenoles totales (IPT) durante la maceración de los vinos de las cuatro variedades de uva. Puede verse que, durante el estudio aumentó el IPT en todas las variedades, sobre todo de manera importante durante el primer día de maceración, lo cual pudo deberse principalmente a la extracción hacia el vino de muchos polifenoles que se encontraban en las pieles de las bayas, aun después de haber sido en parte extraídos durante la pasificación. Aunque podría pensarse igualmente en reacciones de síntesis de estos compuestos, aunque un tiempo de 24 horas sería demasiado corto para que esta vía de obtención de compuestos fenólicos fuese importante.

El IPT debería situarse por encima de las 50 u.a., según el criterio establecido industrialmente, para considerar un vino apto para una crianza en madera. Con el proceso de pasificación y este posterior de maceración, se han conseguido aumentos en el IPT, por lo que los vinos finales serían adecuados para un envejecimiento posterior (Merlot, 53.7 u.a., Tempranillo, 67.6 u.a. y Cabernet Sauvignon, 73.2 u.a.), con la excepción de la variedad Syrah (IPT de 45.4 al final de la maceración), para el cual su posible comercialización sería más conveniente como vino joven, de acuerdo a este parámetro.

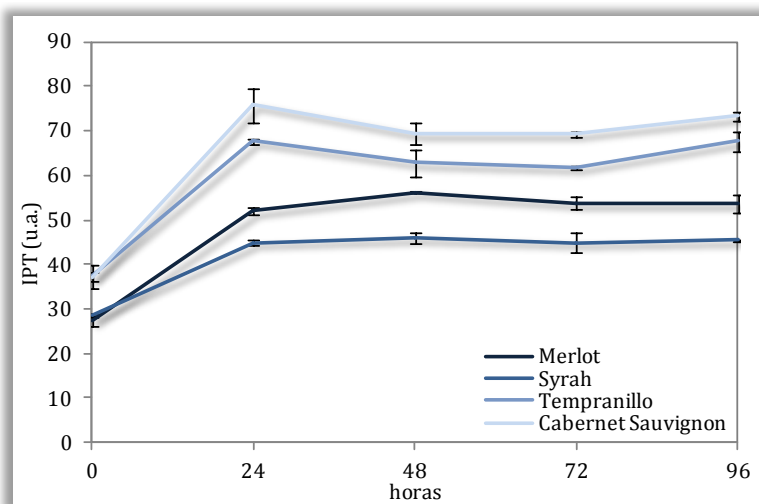


Figura 2.9. Evolución del índice de polifenoles totales (u.a.) (media y desviación estándar) durante el proceso de maceración de los vinos de las cuatro variedades estudiadas.

Durante el proceso de maceración de los vinos con las partes sólidas de las uvas, se llevó a cabo el estudio de la evolución de los antocianos, encontrándose un perfil similar al comentado durante la pasificación, con la familia de monómeros glucosilados como la mayoritaria, seguida de los acetilglucósidos, cumarilglucósidos y cafeoilglucósidos. Asimismo, se volvieron a cuantificar los piranoantocianos y aductos de condensación antociano-metilmetino-flavanol ya citados en el capítulo anterior.

La figura 2.10 muestra la evolución del total de antocianos, agrupados por familias, durante la maceración de los vinos de las cuatro variedades de uva. Puede verse, como en todos los casos la evolución de estos compuestos fenólicos fue similar, con un aumento en la concentración durante las primeras 24 horas de maceración y una disminución posterior, hasta el final del estudio. Los vinos de la variedad Tempranillo presentaron las concentraciones más bajas, aunque anteriormente se habían medido en ellos los mayores valores de absorbancia a 520 nm, lo que podría indicar que el color en este vino no se debió solamente a los antocianos monómeros, sino también a otros compuestos coloreados de más alto peso molecular y no cuantificados en estas fracciones. En el caso de la variedad Cabernet Sauvignon, durante las primeras 24 horas de maceración se midió un importante aumento en la concentración de antocianos, así como un fuerte descenso a partir de las 48 horas de estudio, quedando tras 96 horas de maceración con una concentración de antocianos menor que las tres variedades restantes (98.5 mg/L frente a 131 mg/L para Tempranillo, 165 mg/L para Merlot y 190 mg/L para Syrah).

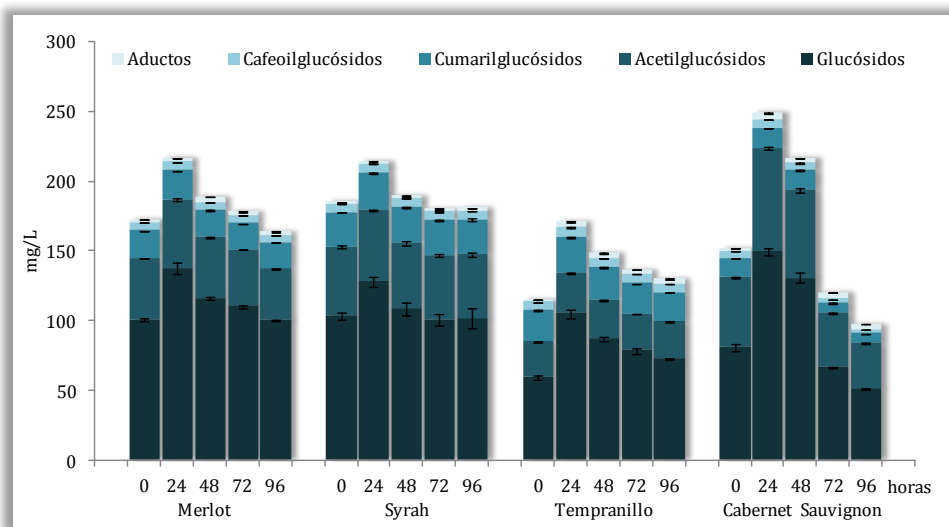


Figura 2.10. Evolución de la concentración total de antocianos (media y desviación estándar), agrupados por familias durante la maceración de los vinos obtenidos con uvas tintas pasificadas de las cuatro variedades estudiadas.

La duración de la maceración es un parámetro que se ha estudiado mucho en la elaboración de vinos tintos porque se ha comprobado que tiene una influencia significativa en la extracción de los antocianos desde los hollejos (Budic-Letó *et al.*, 2006; Canals *et al.*, 2005). En una vinificación normal en tinto, la concentración de antocianos durante la maceración sigue la misma evolución que la comentada para el caso de vinos procedentes de uvas pasificadas, con la diferencia de que el tiempo necesario para una extracción completa es 7-10 días (Romero-Cascales *et al.*, 2005), a partir de los cuales no se observa normalmente más extracción (Gómez-Plaza *et al.*, 2001). En esta maceración, se ha necesitado un menor tiempo para conseguir valores máximos de antocianos como consecuencia, en primer lugar, de que durante el proceso de pasificación previo ya se habían extraído parte de estos compuestos desde

los hollejos hacia la pulpa. Además, la presencia de etanol en el medio desde el primer momento de la maceración, en una concentración del 15 %, facilitó la extracción de antocianos (Canals *et al.*, 2005) y otros compuestos fenólicos (González-Manzano *et al.*, 2004), debido a la mayor solubilidad de los mismos en medios hidroalcohólicos. Por otro lado, la posterior disminución en su concentración se podría explicar por la readsorción de estos compuestos sobre las partes sólidas de las bayas, pudiéndose llegar a un equilibrio basado en una adsorción-desorción que se establece entre la concentración de antocianos en los hollejos y la concentración de antocianos en el vino. Cuando dicho equilibrio se alcanza, ya no se consiguen extraer más compuestos antociánicos de las pieles de las uvas (Boulton, 2001). Adicionalmente, no se pueden olvidar todas las reacciones en las que los antocianos monómeros pueden participar, y aunque el proceso de maceración no fue muy prolongado en el tiempo, no podría descartarse esta vía para explicar el descenso en la concentración de antocianos.

La figura 2.11 muestra la evolución de los antocianos glucosilados derivados de las antocianidinas delfinidina, cianidina, petunidina, peonidina y malvidina durante la maceración de los vinos. Puede observarse, como consecuencia de ser los derivados mayoritarios, su evolución fue similar a la ya comentada en la figura anterior para el total de antocianos, con un aumento en las primeras 24 horas de maceración y una disminución posterior, manteniéndose constante en los últimos días para determinados compuestos en algunas variedades.

Los compuestos delfinidín-3-*O*-glucósido (figura 2.11a) y cianidín-3-*O*-glucósido (figura 2.11b) presentaron concentraciones parecidas en los cuatro vinos, siendo los dos compuestos con menor concentración de los cinco cuantificados (del orden de 5 mg/L). En relación al peonidín-3-*O*-glucósido (figura 2.11d), la variedad que presentó mayor concentración del mismo fue diferente, destacando el vino Syrah con una concentración final de 30.0 mg/L, muy superior a la encontrada en Merlot (22.0 mg/L), Tempranillo (9.3 mg/L) y Cabernet Sauvignon (5.1 mg/L). sin embargo, fue la variedad Tempranillo la que presentó las mayores concentraciones de petunidón-3-*O*-glucósido (figura 2.11c), aunque al final de proceso todos los vinos presentaron los mismos niveles, a excepción del Cabernet Sauvignon que contenía prácticamente la mitad de concentración para este compuesto. En general, se podría señalar que el vino de esta variedad presentó al final de la maceración las menores concentraciones de los cinco antocianos glucosilados, debido a que su disminución a partir de las 48 horas fue muy importante.

Además, es preciso destacar el comportamiento del compuesto malvidín-3-*O*-glucósido (figura 2.11e), antociano mayoritario en todos los vinos, para el cual la variedad Cabernet Sauvignon presentó las mayores concentraciones a las 24 y 48 horas de estudio (115.0 y 99.5 mg/L, respectivamente), disminuyendo al final de la maceración hasta 37.5 mg/L. Como consecuencia del acusado descenso, además de una readsorción de los antocianos sobre las partes sólidas de las bayas, podría pensarse en la participación de los mismos en diferentes tipos de reacciones, como podrían ser reacciones de copigmentación y/o polimerización. Aunque dichas reacciones también podrían haber ocurrido en los tres vinos restantes, sería posible que en la variedad Cabernet Sauvignon se hubiesen desarrollado en mayor grado. En el resto de variedades, los vinos presentaron los máximos niveles a las 24 horas, con valores de 61.0, 53.0 y 45.7 mg/L para Merlot, Syrah y Tempranillo respectivamente.

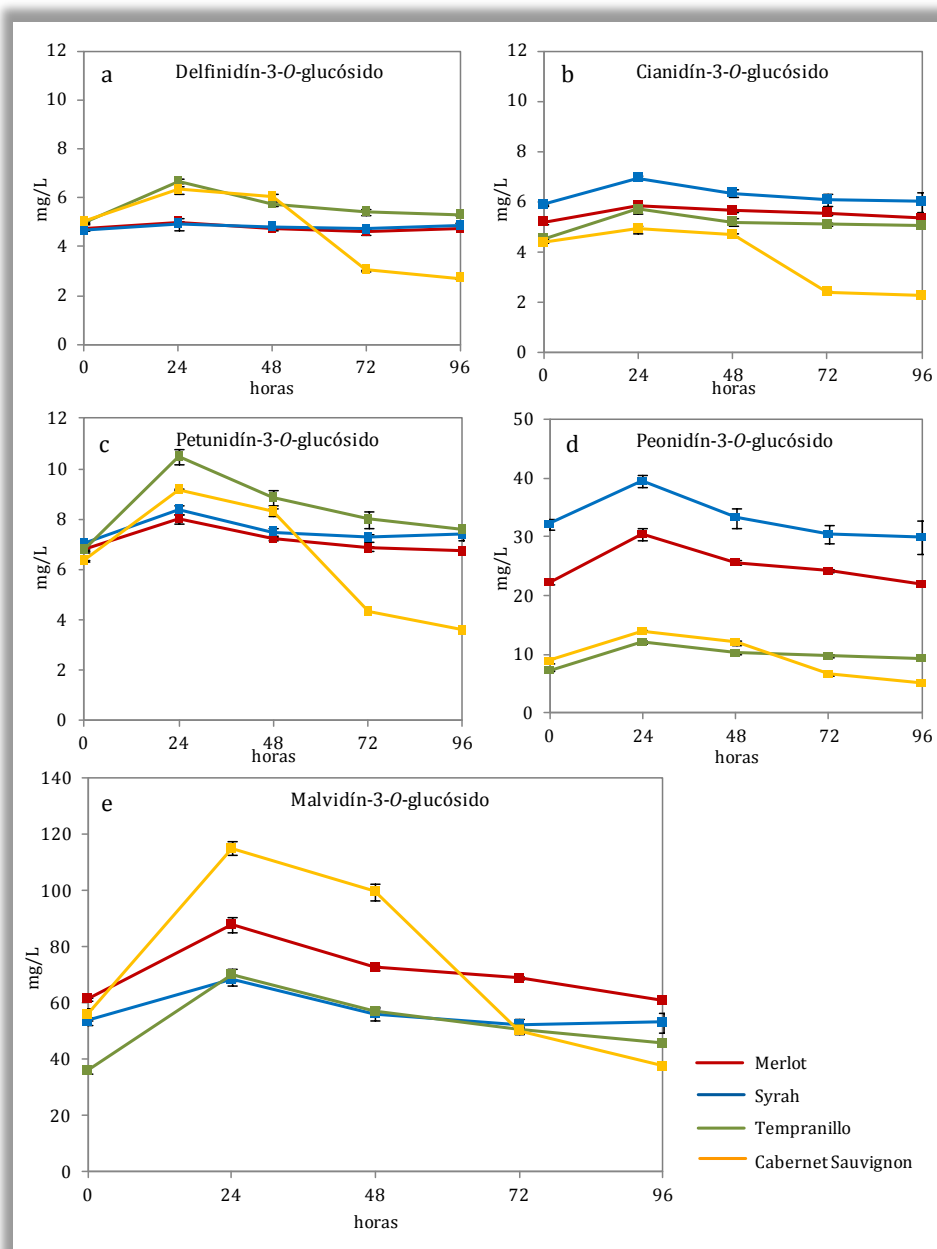


Figura 2.11. Evolución de la concentración de antocianos monómeros glucosilados (media y desviación estándar) durante la maceración de los vinos obtenidos con uvas tintas pasificadas de las cuatro variedades estudiadas.

Las concentraciones de los cinco antocianos acetilglucosilados encontrados en los vinos se muestran en la figura 2.12, donde se puede observar una evolución similar a la ya comentada para los otros derivados, aumentando su concentración en las primeras 24 horas de maceración, a excepción del delfinidín-3-*O*-acetilglucósido que lo hizo hasta las 48 horas en el vino Merlot, así como los compuestos cianidín-3-*O*-acetilglucósido y petunidín-3-*O*-acetilglucósido que aumentaron en el vino Syrah hasta las 72 horas, para disminuir a continuación su concentración. Al final del proceso de maceración, los acetatos de la delfinidina, cianidina y petunidina presentaron concentraciones bastante próximas entre sí en los cuatro vinos estudiados.

Puede observarse que de nuevo el antociano derivado de la peonidina (figura 2.12d) presentó una concentración muy superior en Syrah (10.8 mg/L) respecto al resto de vinos. Algo similar ocurrió para el malvidín-3-*O*-acetilglucósido (figura 2.12e) en Cabernet Sauvignon, que llegó a su máximo de concentración a las 24 horas de estudio con 47.4 mg/L, cuantificándose sin embargo en el vino Tempranillo en concentraciones mucho más bajas (de 7.0 mg/L al inicio hasta 6.8 mg/L al final de la maceración).

En la figura 2.13 se muestra la evolución de las concentraciones de los antocianos cumarilados derivados de cianidina, petunidina, peonidina y malvidina), así como del malvidín-3-*O*-cafeoilglucósido, durante el proceso de maceración de los cuatro vinos estudiados. En el caso de estas familias minoritarias de antocianos monómeros, el proceso de maceración no tuvo, en general, tanta influencia como en los compuestos anteriormente comentados, ya que al final de 96 horas de maceración las concentraciones no variaron significativamente en relación con las iniciales, aunque en etapas intermedias se midieran concentraciones superiores. Cabe destacar, en el vino de la variedad Cabernet Sauvignon, que la concentración de estos compuestos disminuyó de manera importante entre el segundo y el tercer día de estudio.

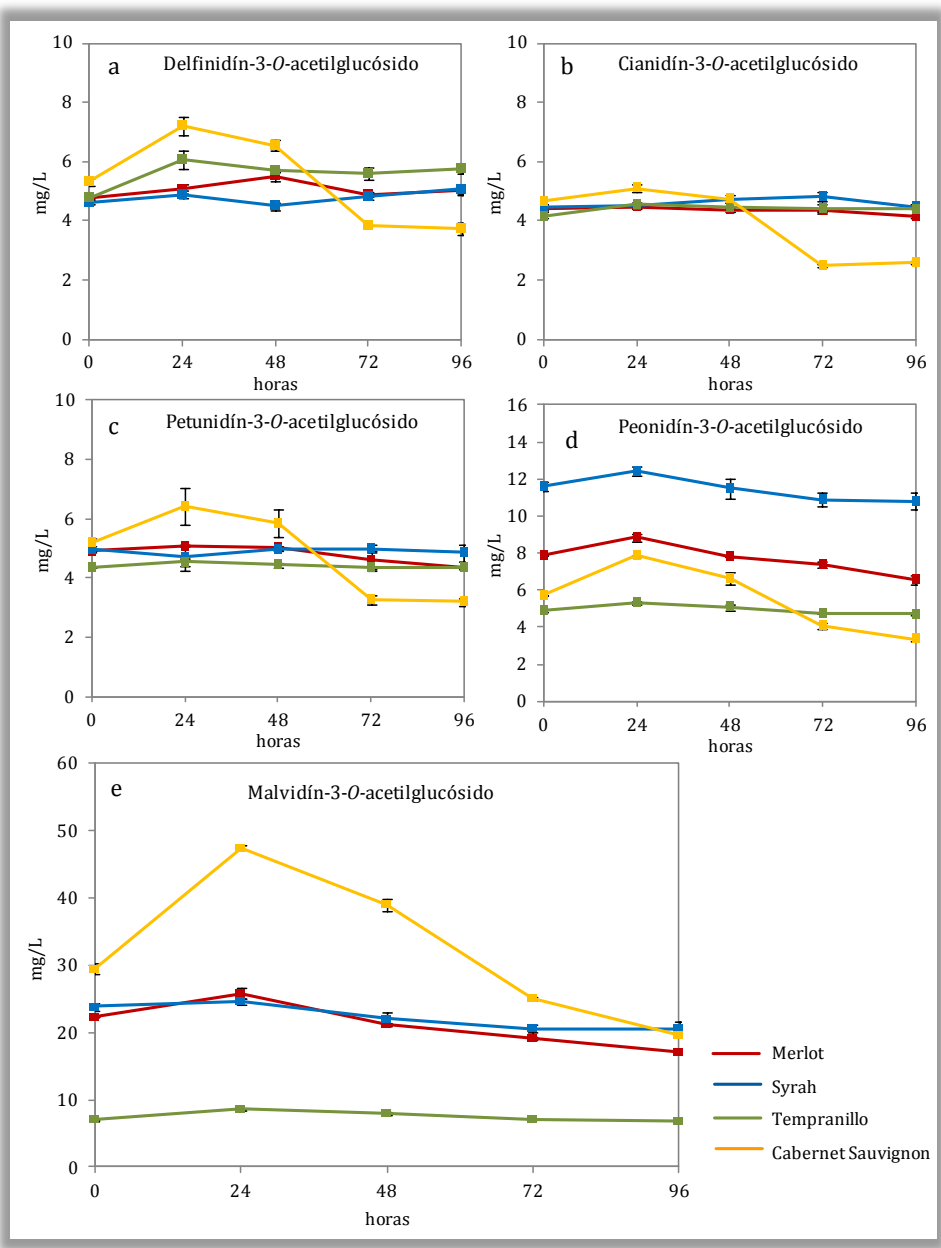


Figura 2.12. Evolución de la concentración de antocianos monómeros acetilglucosilados (media y desviación estándar) durante la maceración de los vinos obtenidos con uvas tintas pasificadas de las cuatro variedades estudiadas.

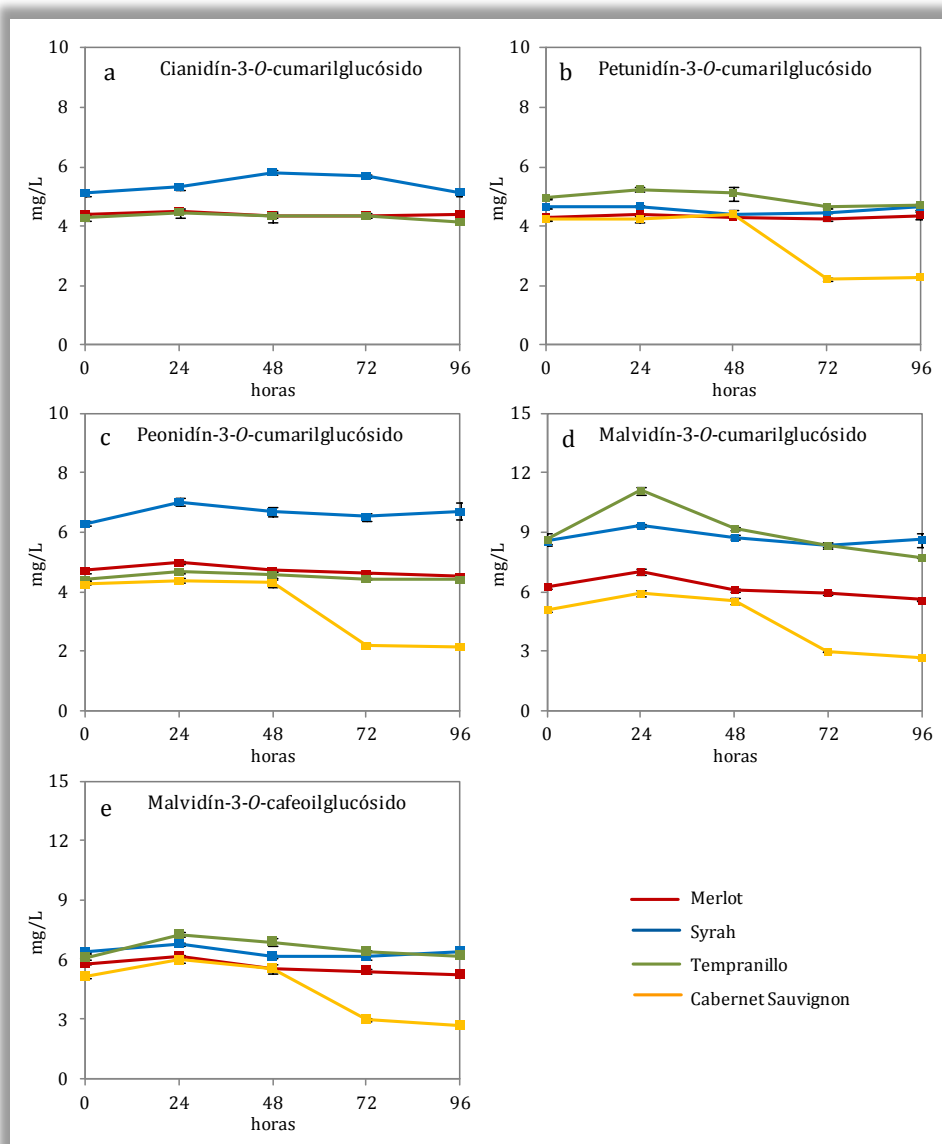


Figura 2.13. Evolución de la concentración de antocianos monómeros cumaril y cafeoilglucosilados (media y desviación estándar) durante la maceración de los vinos obtenidos con uvas tintas pasificadas de las cuatro variedades estudiadas.



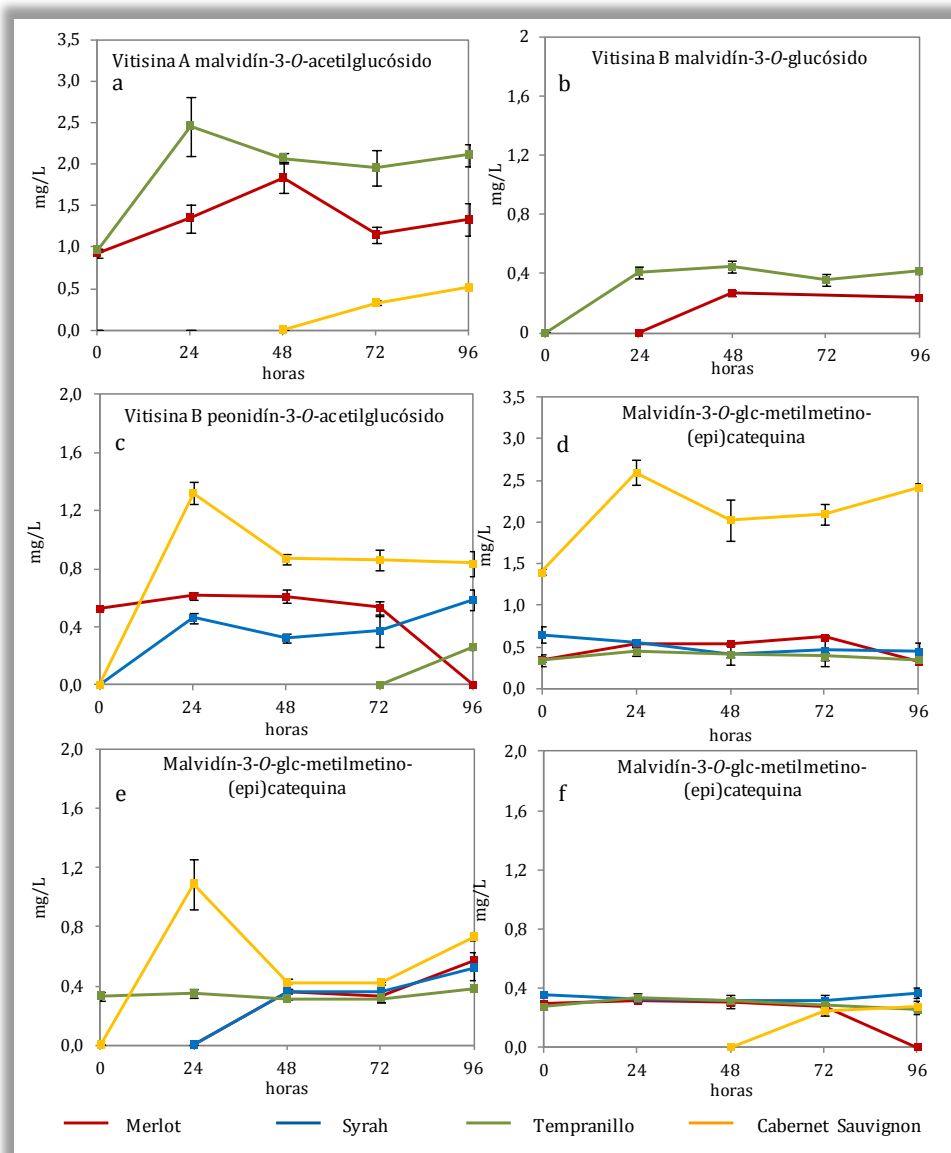


Figura 2.14. Evolución de la concentración de vitisinas y aductos de condensación malvidín-3-O-glucósido-metilmetino-(epi)catequina (media y desviación estándar) durante la maceración de los vinos obtenidos con uvas tintas pasificadas de las cuatro variedades estudiadas.

En cuanto a los aductos derivados de antocianos, durante el proceso de maceración se cuantificaron tres piranoantocianos y tres aductos de condensación de fórmula malvidín-3-*O*-glucósido-metilmelano-(epi)catequina, cuya evolución se muestra en la figura 2.14. Todos ellos presentaron concentraciones muy bajas e inferiores a 3 mg/L en cualquier caso, de modo que la evolución de estos compuestos durante el proceso de maceración estudiado no fue muy influyente dentro de la familia de compuestos antocianícos.

La figura 2.15 muestra la evolución de las concentraciones de los cuatro ácidos fenólicos cuantificados en los vinos durante el proceso de maceración, ácidos gálico, protocatéquico, vanílico y sirínico. El ácido gálico fue el que apareció en concentraciones superiores, aumentando como consecuencia del proceso de maceración en todos los vinos, debido a su extracción desde las partes sólidas de las uvas, especialmente de las pepitas, como sugirieron Monagas *et al.* (2005a) y fue confirmado por Zou *et al.* (2002). Dicho aumento fue más o menos constante con el tiempo en los vinos Merlot y Syrah, encontrándose sin embargo las concentraciones máximas a las 24 horas en Tempranillo (42.4 mg/L) y a las 48 horas en Cabernet Sauvignon (47.7 mg/L).

El proceso de maceración conllevó también un aumento de concentración de ácido protocatéquico, alcanzando el máximo a las 48 horas, y un descenso posterior hasta el final del proceso, con la excepción de la variedad Syrah donde la concentración aumentó hasta el final del estudio.

En relación con el ácido vanílico, los vinos de las diferentes variedades presentaron concentraciones muy distintas, inferiores a 1.5 mg/L en Syrah, próximas a 4 mg/L en Merlot y llegando a valores superiores a 13 mg/L en algún momento de la maceración para las dos variedades restantes. En cuanto a su evolución, se observó un aumento en su concentración y un descenso posterior, alcanzando las máximas concentraciones de este compuesto a las 24 horas en el vino Merlot, a las 48 horas en Syrah y Cabernet Sauvignon y a las 72 horas en Tempranillo.

El ácido sirínico se encontró en los cuatro vinos en niveles diferentes dependiendo de la variedad de uva, siendo el vino Syrah el que presentó menor concentración de este compuesto (0.858 mg/L al final del proceso), y el vino Cabernet Sauvignon en el cual apareció más concentrado (4.45 mg/L en el mismo momento). El proceso estudiado no influyó de manera importante en la concentración de este ácido, encontrándose las mayores cantidades a las 24 ó 48 horas según la variedad, y descendiendo en las horas siguientes.

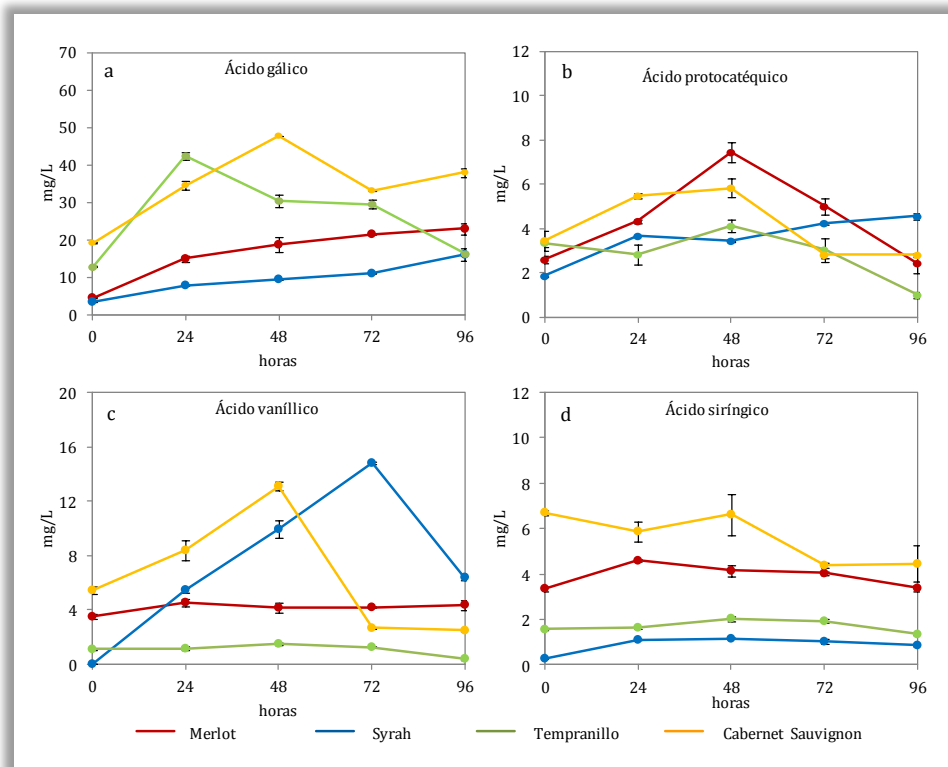


Figura 2.15. Evolución de la concentración de ácidos hidroxibenzoicos (media y desviación estándar) durante la maceración de los vinos obtenidos con uvas tintas pasificadas de las cuatro variedades estudiadas.

La figura 2.16 muestra las evoluciones de los ésteres tartáricos de los ácidos hidroxicinámicos cafeico, *p*-cumárico y ferúlico durante la maceración de los vinos con las partes sólidas de las bayas. Los dos isómeros del ácido caftárico aparecieron en concentraciones superiores a los correspondientes isómeros de los ácidos cutárico y feltárico, pero presentando concentraciones muy pequeñas e inferiores a 6 mg/L en todas las variedades. Además de las bajas concentraciones a las que aparecieron todos estos ésteres, las diferencias entre el inicio y el final de la maceración fueron muy pequeñas en la mayoría de los casos.

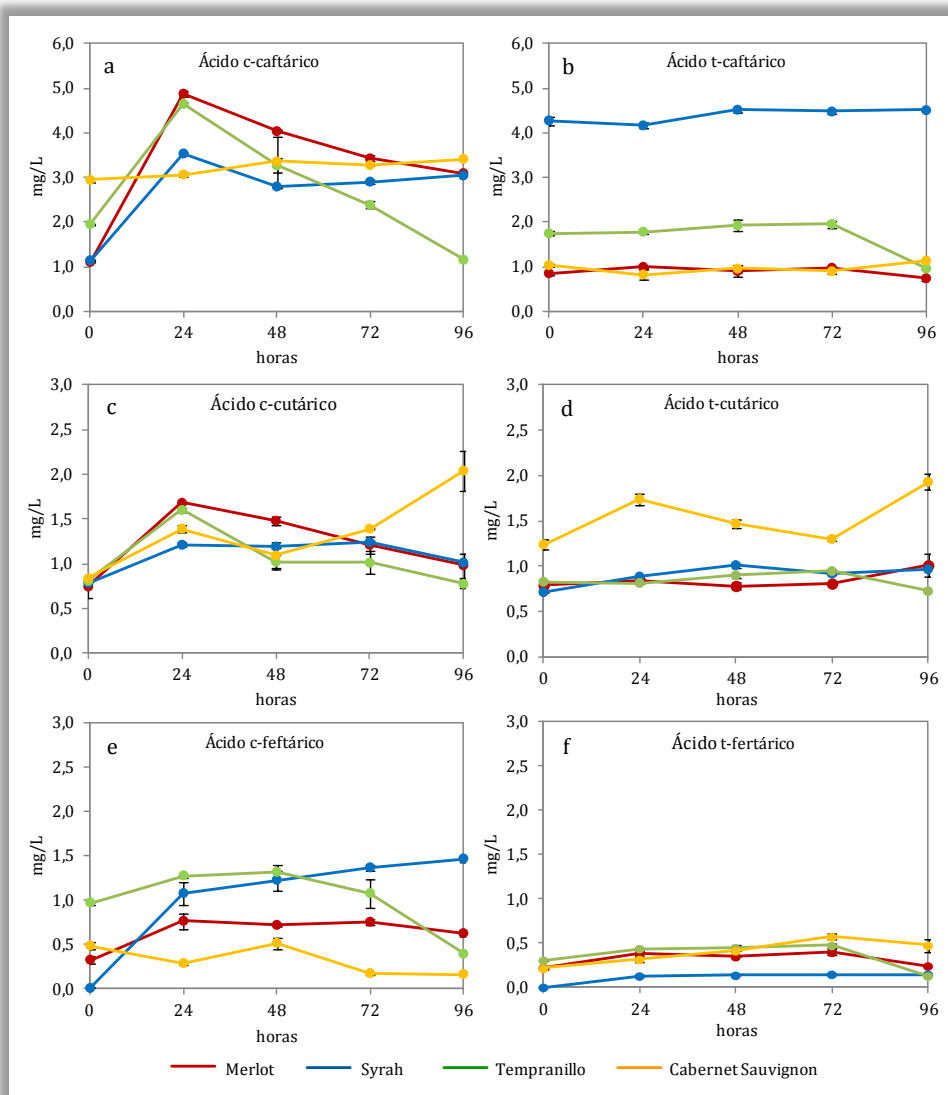


Figura 2.16. Evolución de la concentración de los ésteres tartáricos de los ácidos hidroxicinámicos (media y desviación estándar) durante la maceración de los vinos obtenidos con uvas tintas pasificadas de las cuatro variedades estudiadas.

Durante la maceración de los vinos tintos estudiados con las partes sólidas de uvas, se cuantificó la familia de derivados del flavan-3-ol, pudiendo distinguir entre monómeros, dímeros, trímeros y tetrámeros. En la figura 2.17 puede observarse la evolución de las concentraciones de (+)-catequina, (-)-epicatequina, así como de las procianidinas B1, B2, B3 y B4. En los vinos Syrah, Tempranillo y Cabernet Sauvignon, ocurrió un aumento de la concentración de estos compuestos hasta alcanzar un máximo, a partir del cual se observó un descenso que en la mayoría de los casos fue lento y llevó hasta concentraciones finales superiores a las iniciales. En el caso de la variedad Merlot, el aumento en la concentración de (+)-catequina, (-)-epicatequina y de las procianidinas se mantuvo hasta el final del estudio.

Durante la maceración tendría lugar la difusión de los flavanoles desde las partes sólidas hasta los vinos, que aumentarían su concentración, a la vez que ocurrirían reacciones en las que estos compuestos fenólicos están implicados, principalmente reacciones de polimerización para dar lugar a taninos de mayor peso molecular, junto a su readsorción por las partes sólidas, y que supondrían descensos en su concentración. Por ello, aunque para los vinos de las cuatro variedades estén ocurriendo a la vez extracción y degradación de flavanoles monómeros, dependiendo de la vía que tenga más importancia, el balance llevará a un aumento o un descenso en la concentración final de estos compuestos.

En este sentido, puede observarse que los derivados monómeros del flavan-3-ol, (+)-catequina y (-)-epicatequina, fueron los compuestos más abundantes de esta familia fenólica, y el vino de la variedad Cabernet Sauvignon fue el que presentó las concentraciones superiores de ambos compuestos, midiéndose valores de (+)-catequina al final del estudio de 186.2 mg/L y de (-)-epicatequina de 110.3 mg/L para dicha variedad. Los vinos Syrah y Tempranillo presentaron las concentraciones más bajas de ambos monómeros (38.7 y 13.7 mg/L para (+)-catequina respectivamente, y 44.6 y 61.9 mg/L para (-)-epicatequina en los mismos vinos).

En la figura 2.18 se muestra la evolución de las concentraciones durante la maceración de los compuestos galoilados epicatequín galato y epigalocatequín galato, así como de los dímeros B2-3-*O*-galato, B2-3-*O'*-galato y B1-3-*O*-galato. Los dos compuestos galoilados identificados se encontraron en los vinos Merlot y Tempranillo, estando también presente el epigalocatequín galato en el vino Cabernet Sauvignon, si bien la concentración de ambos compuestos no fue muy elevada en ningún caso, aumentando como consecuencia del proceso de maceración. Asimismo, puede observarse que el dímero B1-3-*O*-galato sólo se encontró en el vino Syrah, y la maceración conllevó un aumento en su concentración durante el primer día por su extracción desde los hollejos, manteniéndose después constante hasta el final del proceso. Para los otros dos dímeros (B2-3-*O*-galato y B2-3-*O'*-galato), puede observarse un aumento inicial en su concentración, generalmente durante las primeras 24-48 horas de maceración, y un descenso posterior hasta el final del proceso. Destacaron los vinos Cabernet Sauvignon y Syrah por sus altas concentraciones de estos compuestos en los puntos intermedios del estudio.

La figura 2.19 muestra la evolución de los trímeros y tetrámeros derivados del flavan-3-ol cuantificados en los vinos estudiados y cuyas concentraciones fueron inferiores a 8 mg/L durante todo el estudio. Los trímeros aumentaron su concentración en las primeras horas de maceración, de modo que en todos los casos

los valores finales fueron superiores a los correspondientes al inicio del estudio. En cuanto a los tetrámeros, el primero de ellos se pudo cuantificar en el vino Syrah, apareciendo el segundo para las cuatro variedades de uvas, si bien en ambos casos se registraron concentraciones muy pequeñas.

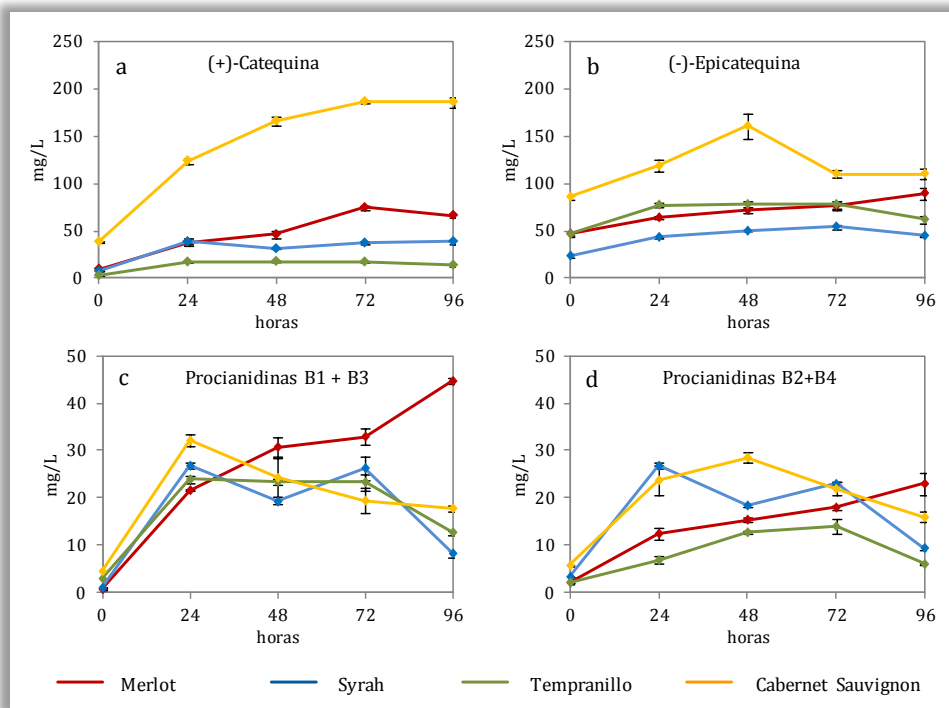


Figura 2.17. Evolución de la concentración de (+)-catequina, (-)-epicatequina y de las procianidinas B1, B2, B3 y B4 (media y desviación estándar) durante la maceración de los vinos obtenidos con uvas tintas pasificadas de las cuatro variedades estudiadas.

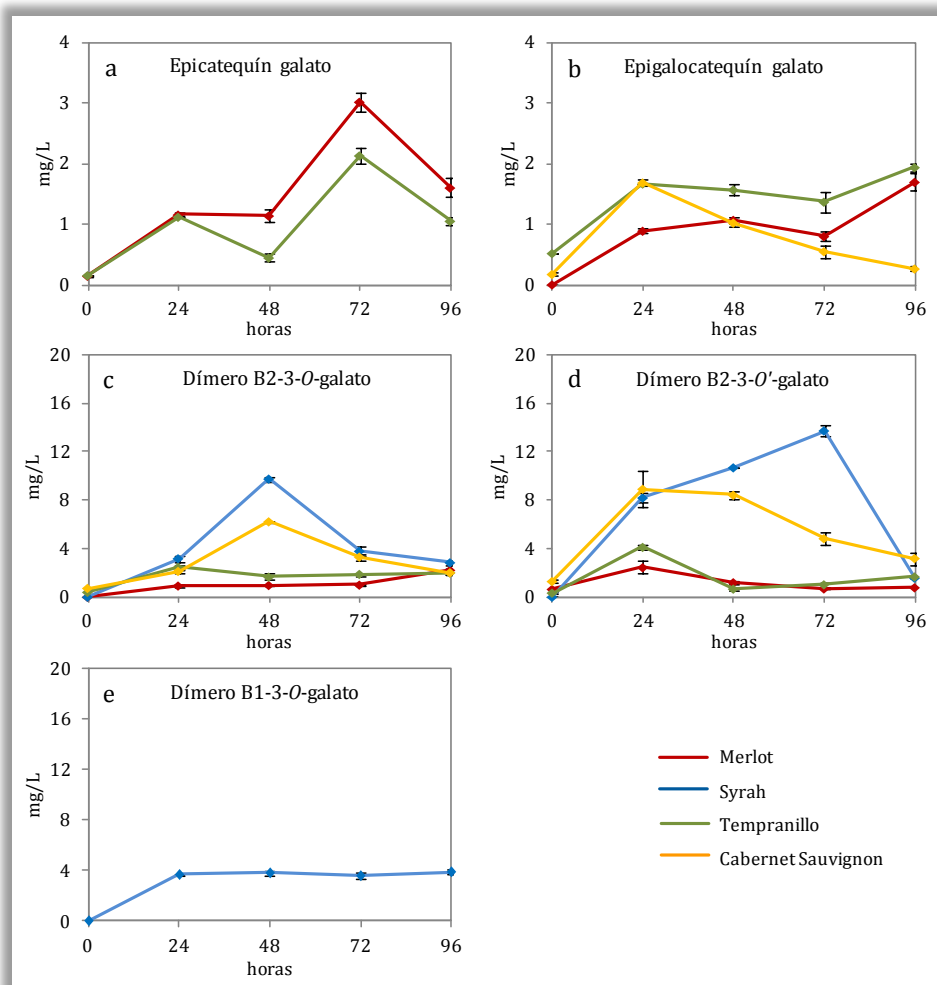


Figura 2.18. Evolución de la concentración de los compuestos epicatequín galato y epigalocatequín galato y de los dímeros B2-3-O-galato, B2-3-O'-galato y B1-3-O-galato (media y desviación estándar) durante la maceración de los vinos obtenidos con uvas tintas pasificadas de las cuatro variedades estudiadas.

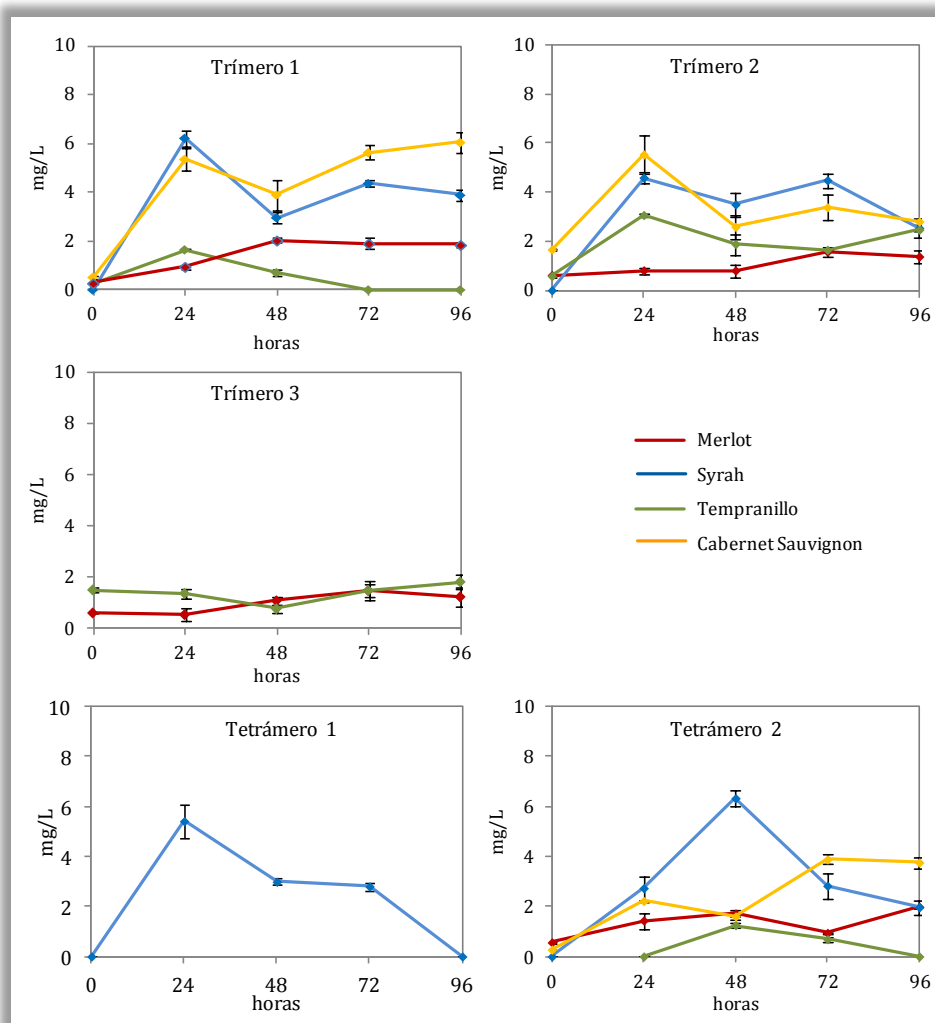


Figura 2.19. Evolución de la concentración de los cuatro derivados del flavan-3-ol trímeros y dos tetrámeros (media y desviación estándar) durante la maceración de los vinos obtenidos con uvas tintas pasificadas de las cuatro variedades estudiadas.



La evolución del contenido de taninos totales en los cuatro vinos estudiados durante el proceso de maceración se muestra en la figura 2.20. Puede verse que en las primeras horas del estudio se produjo un aumento importante en la concentración de taninos totales, que sería debido, en primer lugar, a su difusión desde las partes sólidas de las uvas hasta el vino, pero también a la formación de nuevos enlaces interflavano. Estos nuevos enlaces podrían formarse tras una rotura ácida del enlace interflavano original y una reacción de condensación posterior (Haslam, 1980; Vidal *et al.*, 2002) o tras una reacción de sustitución nucleofílica en el C6 o C8 del anillo A de numerosas unidades de flavan-3-ol (Timberlake and Bridle, 1977), siendo el acetaldehído uno de los más importantes electrófilos identificados en este tipo de uniones (Saucier *et al.*, 1997; Es-Safi *et al.*, 1999a).

En los cuatro vinos estudiados, la concentración de taninos totales aumentó durante las primeras 24 horas de maceración, manteniéndose la misma tendencia hasta las 48 horas en el vino Syrah. Tras este aumento inicial, se alcanzó en todos los casos un equilibrio que mantuvo constante la concentración de estos compuestos.

Puede observarse, que en las últimas horas del estudio se diferenciaban dos grupos de vinos según su concentración de taninos totales, por un lado Tempranillo y Cabernet Sauvignon, con 17.0 y 17.4 g/L, respectivamente, y por otro lado Syrah y Merlot, con concentraciones de 11.9 y 12.2 g/L, respectivamente. El proceso de maceración hizo aumentar la concentración de taninos totales entre 1.4 veces en Merlot y 1.9 veces en Syrah, si bien en la mayoría de los vinos no serían necesarias 96 horas, ya que con tiempos más cortos se alcanzarían concentraciones que no diferirían significativamente de las finales. Así, para Tempranillo y Merlot, bastaría con 24 horas, mientras para el vino Syrah convendría alargar el proceso hasta las 48 horas de maceración.

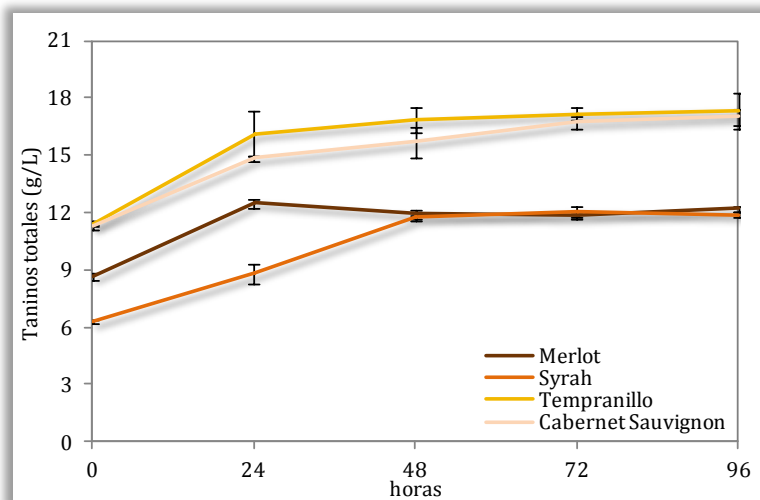


Figura 2.20. Evolución de la concentración de taninos totales (g/L) (media y desviación estándar) durante el proceso de maceración de los vinos de las cuatro variedades estudiadas.

La figura 2.21 muestra la evolución de los flavonoles glicosilados durante el proceso de maceración. Puede verse que los derivados de la quercetina y el kaempferol fueron los más abundantes, y que el proceso de maceración no influyó de manera importante en la concentración de la mayoría de los flavonoles, aunque provocó un ligero descenso en la concentración de estos compuestos, que podría explicarse por un desarrollo de reacciones de copigmentación entre flavonoles y antocianos (Boulton, 2001; González-Manzano *et al.*, 2004). Además, no se puede olvidar que estos compuestos flavonoideos se encuentran naturalmente en las pieles de las uvas, por lo que su extracción desde los hollejos hasta el vino tuvo que ocurrir durante el tiempo que estuvieron en contacto, de manera que se debió llegar a un balance de pérdidas y ganancias como ya se ha comentado para otras familias fenólicas, siendo en este caso las primeras más importantes para la mayoría de los compuestos cuantificados.

En relación a las diferencias existentes entre las distintas variedades de uvas, cabe destacar la elevada concentración que presentaron los compuestos kaempferol-3-*O*-glucurónido e isorhamnetín-3-*O*-glucósido en el vino Syrah (entre 9.1 y 11.0 mg/L), en comparación con los vinos de las tres variedades restantes, especialmente con la variedad Tempranillo, donde se midieron concentraciones muy bajas (entre 0.850 y 1.37 mg/L). El vino de esta última variedad presentó las menores concentraciones en la mayoría de los flavonoles, con la única excepción del kaempferol-3-*O*-glucósido, para el cual tanto la concentración inicial (1.29 mg/L) como la final (1.44 mg/L) fueron superiores a las de los vinos restantes.

La evolución de la concentración de las agliconas de los flavonoles a lo largo del periodo estudiado se muestra en la figura 2.22. Las concentraciones registradas para estos compuestos fueron muy bajas y del mismo orden de magnitud para los vinos de las cuatro variedades, apareciendo la quercetina como el compuesto presente en concentraciones superiores.

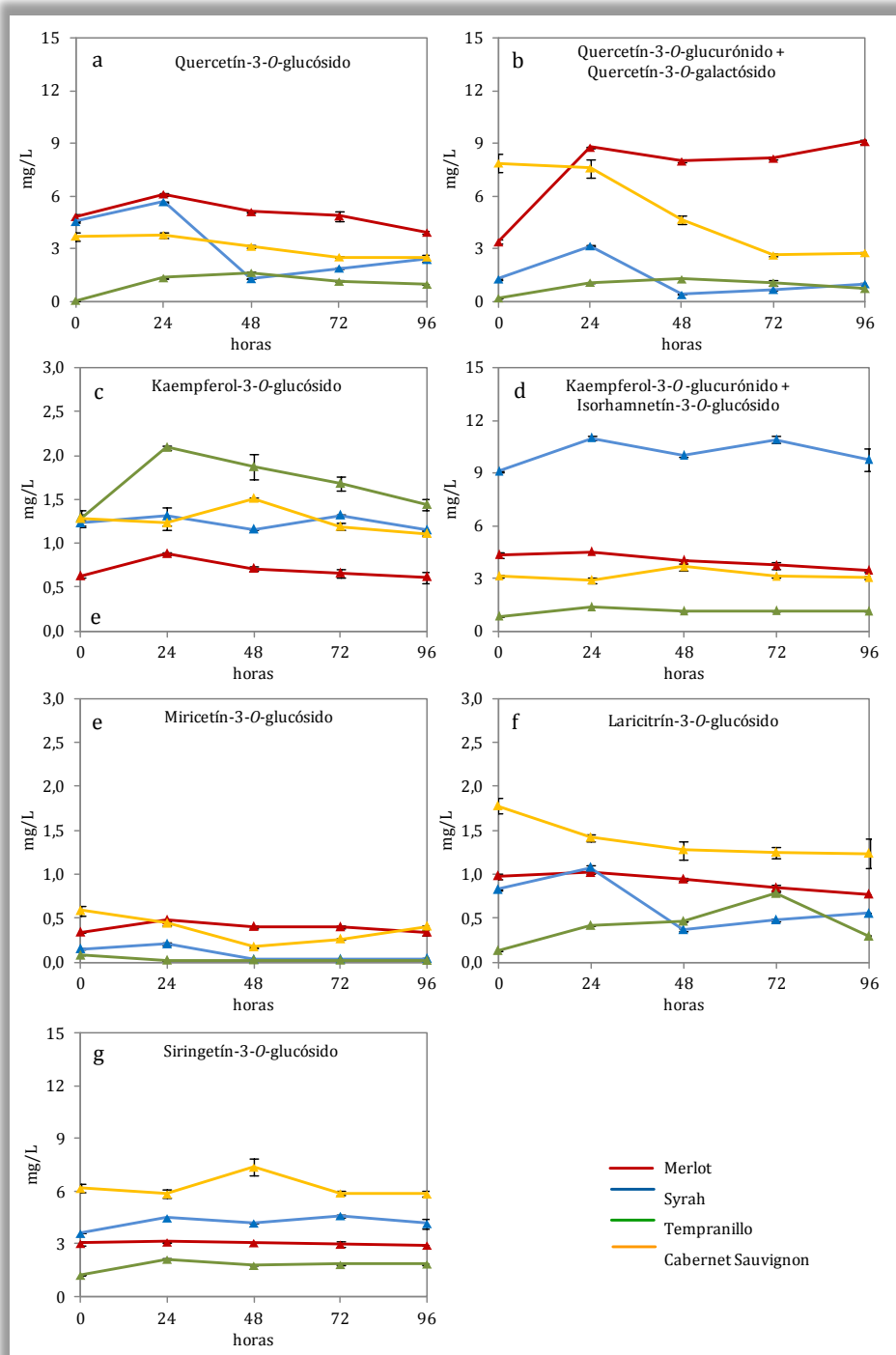


Figura 2.21. Evolución de la concentración de los flavonoles glicosilados (media y desviación estándar) durante la maceración de los vinos obtenidos con uvas tintas pasificadas de las cuatro variedades estudiadas.

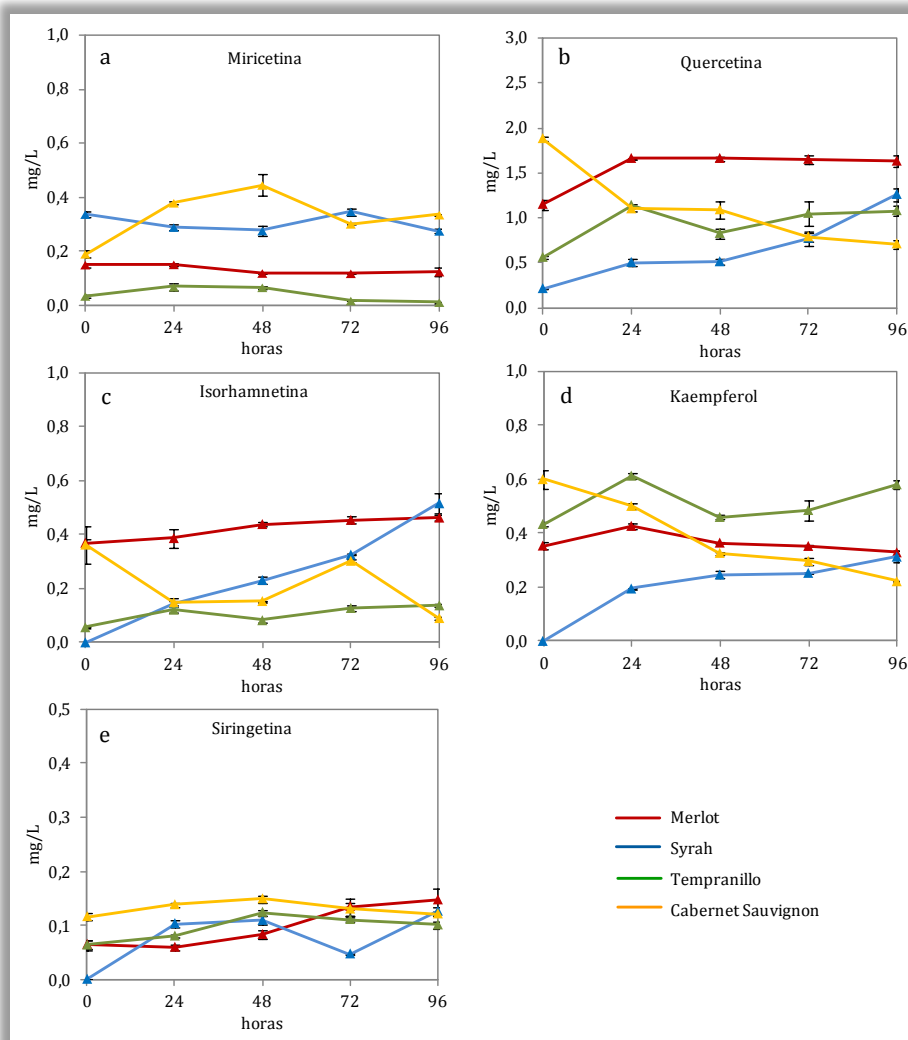


Figura 2.22. Evolución de la concentración de las agliconas de la familia de flavonoles (media y desviación estándar) durante la maceración de los vinos obtenidos con uvas tintas pasificadas de las cuatro variedades estudiadas.

La figura 2.23 muestra la evolución de la concentración de los compuestos poliméricos durante el proceso de maceración para los cuatro vinos tintos estudiados, observándose en todos los casos un aumento muy importante en la concentración durante las primeras 24 horas de contacto de los vinos con los hollejos, con aumentos de 2.8 veces para Merlot, 3.5 para Cabernet Sauvignon, 5.5 para Syrah y 6.3 veces para Tempranillo, debido a su extracción desde las partes sólidas, junto a las reacciones de polimerización de los compuestos fenólicos de menor peso molecular que debieron ocurrir. En estas primeras horas, la velocidad de la extracción de compuestos poliméricos fue muy alta, ya que a partir de este momento sólo se observó un ligero aumento en la concentración de los mismos en el vino Merlot, se mantuvo constante en el vino Tempranillo y disminuyó en los vinos Syrah y Cabernet Sauvignon. Esta evolución podría explicarse debido a la inestabilización de estos compuestos en el medio por el elevado peso molecular que fueron adquiriendo como consecuencia de la polimerización y su consecuente precipitación.

La evolución de la concentración de compuestos poliméricos coloreados durante el proceso de maceración de los vinos se muestra en la figura 2.24, observándose un aumento importante durante el primer día de estudio, como consecuencia de la extracción de estos polímeros desde las partes sólidas de las uvas. La evolución posterior de estos compuestos poliméricos coloreados fue mucho más estable, aunque se encontraron diferencias para los cuatro tipos de vinos. Así, mientras que en el vino Merlot su concentración aumentó hasta el final de la maceración debido a su continua extracción desde los hollejos, junto a su formación por reacciones de polimerización de antocianos, en los tres vinos restantes se midió una ligera disminución en su concentración en algún momento del estudio. Estos descensos podrían de nuevo explicarse debido a la posible precipitación como consecuencia del continuo aumento de peso molecular por las reacciones de polimerización que se estarían llevando a cabo durante la maceración.

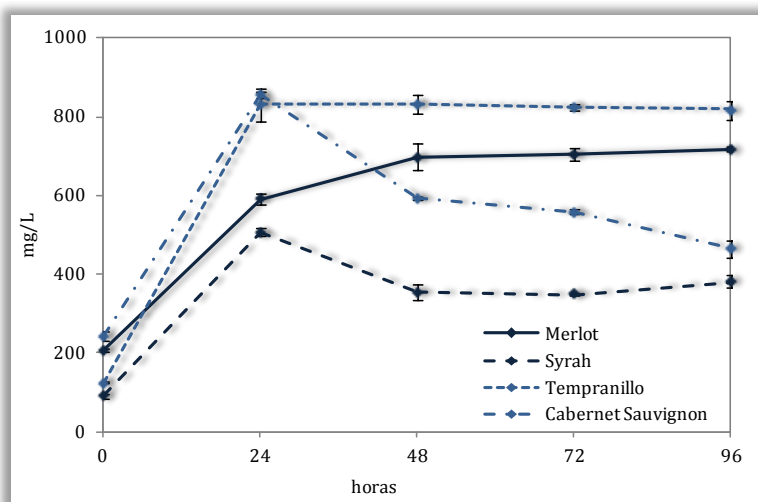


Figura 2.23. Evolución de la concentración (media y desviación estándar) de compuestos fenólicos poliméricos, durante la maceración de los vinos obtenidos con uvas tintas pasificadas de las cuatro variedades estudiadas.

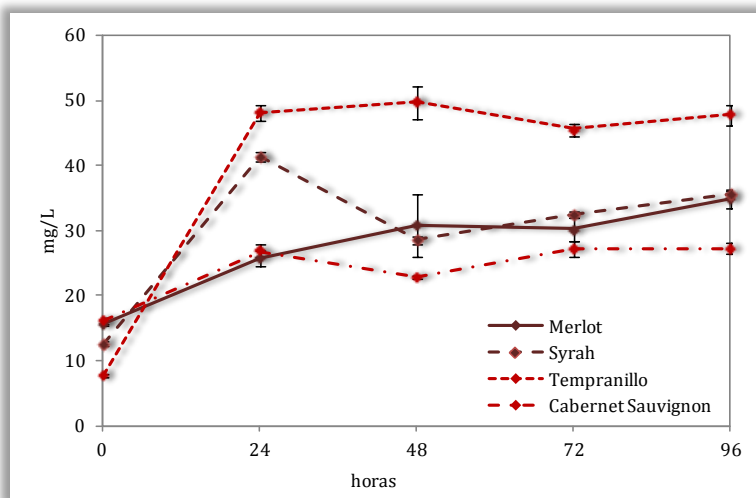


Figura 2.24. Evolución de la concentración (media y desviación estándar) de polímeros coloreados, durante la maceración de los vinos obtenidos con uvas tintas pasificadas de las cuatro variedades estudiadas.

Una vez que se ha estudiado la evolución individual de cada uno de los compuestos fenólicos durante el proceso de maceración, la figura 2.25 muestra los porcentajes relativos para cada familia a lo largo de los cuatro días de estudio.

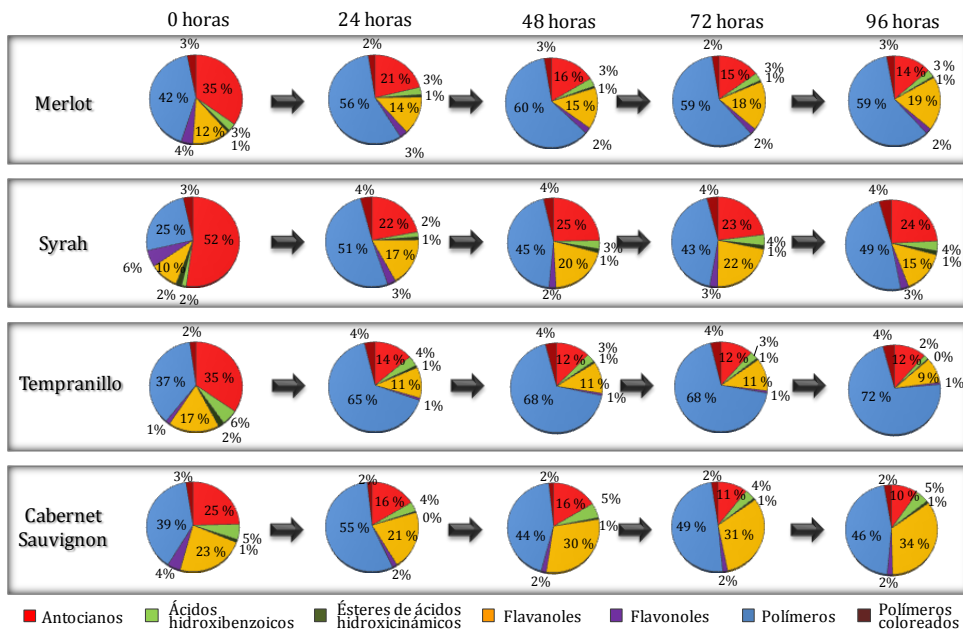


Figura 2.25. Porcentajes de las diferentes familias de compuestos fenólicos en los vinos tintos obtenidos con uvas pasificadas de las cuatro variedades estudiadas, durante el proceso de maceración.

En primer lugar, puede observarse que las familias mayoritarias fueron las de antocianos, polímeros y flavanoles, con porcentajes muy superiores a los correspondientes al resto de familias fenólicas, siendo además las tres que más variaron sus porcentajes durante el estudio. Por otro lado, para las cuatro variedades de uvas durante el proceso de maceración, los vinos se fueron enriqueciendo en compuestos poliméricos a la vez que disminuyeron los porcentajes correspondientes a los antocianos, indicando que ocurrieron reacciones de polimerización en las que se vieron implicados estos últimos compuestos. Por último, cabe destacar que tras el primer día de maceración, los compuestos poliméricos representaban en todos los casos porcentajes superiores al 50% y los antocianos entre el 14 y el 22%, sin cambios muy importantes a partir de ese momento.

El estudio de la actividad antioxidante durante la maceración de vinos tintos ha sido llevado a cabo por diversos autores con diferentes variedades de uvas y tipos de vinificación (Burns *et al.*, 2001; Baiano *et al.*, 2009; Sun *et al.*, 2011). En este sentido, Jordão *et al.* (2011) estudió la capacidad antioxidante con el método DPPH durante 9 días de maceración de dos variedades de uvas de Portugal, Tinta Rouriz y Touriga Nacional, encontrando un aumento durante los 3 primeros días, seguido de unas ligeras oscilaciones en los valores y un descenso final en los dos últimos días de maceración.

En el presente estudio, esta misma evolución de actividad antioxidante se encontró para el vino de la variedad Syrah (figura 2.26), pero en tiempos menores, de manera que ocurrió un aumento de 1.6 veces durante las primeras 24 horas de maceración, hasta llegar a un valor de 5.58 mmol TE/L, que se mantuvo sin cambios significativos a continuación, registrándose sólo un ligero descenso el último día. En el caso del vino Merlot, se registró un aumento de forma muy parecida durante las primeras 24 horas (1.7 veces) hasta un valor de 6.33 mmol TE/L, que a continuación se mantuvo más o menos constante, aumentando de nuevo en el último día de estudio hasta 6.74 mmol TE/L. Para las dos variedades restantes, el aumento observado en la actividad antioxidante fue también importante durante las primeras 24 horas de maceración, con aumentos de 1.2 y 1.3 veces para Tempranillo y Cabernet Sauvignon, respectivamente. A partir de este momento, no se observaron cambios significativos en el vino de la variedad Tempranillo, aumentando sin embargo la actividad antioxidante en el vino Cabernet Sauvignon durante los dos últimos días de estudio hasta 7.27 mmol TE/L.

Los valores medidos para el vino Cabernet Sauvignon a lo largo de la maceración fueron muy inferiores a los encontrados por Villaño *et al.* (2006) durante la fermentación/maceración de mostos provenientes de uvas de la misma variedad cultivadas en el sur de España. Estos autores midieron un aumento en la capacidad antioxidante durante 8 días de maceración, llegando a valores cercanos a 14 mmol TE/L. Sin embargo, estos mismos autores midieron la actividad antioxidante durante un proceso similar para la variedad Tempranillo, encontrando un aumento en los primeros 6 días, que se mantuvo constante hasta el final de la maceración (día 14). Aunque la evolución es igual a la encontrada en vinos Tempranillo provenientes de uvas pasificadas, los valores medidos por Villaño *et al.* (2006), entre 4 y 5 mmol TE/L, fueron inferiores a los encontrados en este estudio.

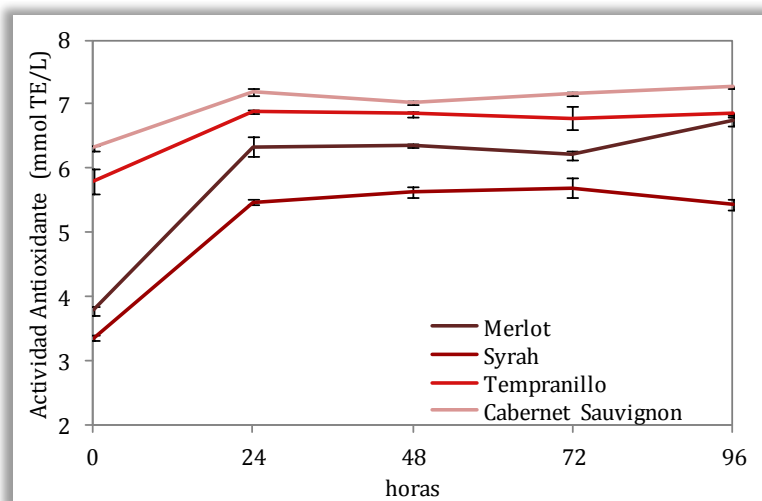


Figura 2.26. Evolución de la actividad antioxidante (media y desviación estándar) de polímeros coloreados, durante la maceración de los vinos obtenidos con uvas tintas pasificadas de las cuatro variedades estudiadas.

A partir de los datos anteriores, se calcularon los coeficientes de regresión entre la capacidad antioxidante y cada una de las diferentes fracciones de compuestos fenólicos analizados, así como para el total de fenoles, mediante una regresión simple, obteniendo los coeficientes que se recogen en la tabla 2.3.

<i>Coefficientes de correlación (r)</i>	<i>Merlot</i>	<i>Syrah</i>	<i>Tempranillo</i>	<i>Cabernet S.</i>
Antocianos glucósidos	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Antocianos acetilglucósidos	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Antocianos cumarilglucósidos	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Antocianos cafeoilglucósidos	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Aductos antociánicos	n.s.	n.s.	0.9262	0.8698
Ácidos benzoicos	0.9289	n.s.	n.s.	n.s.
Ésteres de ácidos cinámicos	n.s.	0.9870	n.s.	n.s.
Flavanoles	0.8938	0.9356	0.8719	0.8836
Flavonoles	n.s.	n.s.	0.9066	n.s.
Polímeros	0.9780	0.8686	0.9634	n.s.
Polímeros coloreados	0.8991	0.8608	0.9669	0.9698
Total	0.9852	0.8970	0.9632	n.s.

Tabla 2.3. Coeficientes de correlación obtenidos para un análisis de regresión simple entre la actividad antioxidante y cada una de las fracciones fenólicas analizadas durante la maceración de los vinos de las cuatro variedades estudiadas.

El análisis de regresión simple reveló la ausencia de correlaciones significativas de la actividad antioxidante con los antocianos, para una significancia del 99.9% ( $p < 0.001$ ), encontrándose únicamente coeficientes de correlación significativos para los aductos antociánicos en las variedades Tempranillo ( $r = 0.9262$ ) y Cabernet Sauvignon ( $r = 0.8698$ ). En cambio, se encontraron factores de correlación altos entre la capacidad antioxidante y la fracción de derivados del flavan-3-ol en



todas las variedades, al igual que para la familia de polímeros coloreados. Para la variedad Syrah, el factor de concentración más alto correspondió a la familia de ésteres de ácidos hidroxicinámicos ( $r=0.9870$ ), mientras que para Merlot, fue la fracción de polímeros la que presentó el factor más elevado ( $r=0.9780$ ). La correlación de la actividad antioxidante con el total de fenoles fue significativa para las variedades Merlot ( $r=0.9852$ ), Syrah ( $r=0.8970$ ) y Tempranillo ( $r=0.9632$ ), lo cual estaría influido principalmente por la concentración de polímeros, que fue la más alta de todas las fracciones analizadas.

### **Estudio estadístico**

A fin de estudiar si existían diferencias entre los vinos con diferentes tiempos de maceración, se han llevado a cabo cuatro análisis multivariantes de componentes principales, uno para cada variedad de uva. En cada uno de los análisis realizados, se ha representado el plano formado por las dos primeras componentes (figura 2.27), que en conjunto representaron el 93.8% de la varianza total para los vinos de la variedad Merlot y 92.1%, 97.3% y 89.3% para Syrah, Tempranillo y Cabernet Sauvignon, respectivamente. Asimismo, en cada uno de los cuatro planos, se han representado los autovectores correspondientes a cada una de las variables, y las puntuaciones de cada una de las muestras. En todos los casos, el vino inicial se diferenció de manera importante de los vinos con diferentes tiempos de maceración según la componente 1, indicando que durante la maceración se producen importantes cambios en los vinos de las cuatro variedades. Teniendo en cuenta las variables que más influyeron sobre la componente 1 (tablas 2.4 y 2.5), podría decirse que, en todos los casos, la intensidad colorante y la claridad fueron las variables con más peso estadístico, indicando que la maceración influyó especialmente en el color de los vinos de acuerdo a estos parámetros.

Por otro lado, los vinos obtenidos entre las 24 y las 96 horas de maceración se diferenciaron principalmente de acuerdo a la componente 2, siendo la familia de antocianos la que experimentó los cambios más importantes, de acuerdo a los autovectores obtenidos en las cuatro variedades (Merlot, -0.6351; Syrah, 0.5846; Tempranillo, -0.3531; Cabernet Sauvignon, -0.6269). Además, los flavonoles diferenciaban los diferentes vinos macerados de las variedades Merlot (-0.4843), Syrah (0.5694) y Cabernet Sauvignon (-0.4122), así como los ácidos hidroxibenzoicos para Tempranillo (-0.4604) y Cabernet Sauvignon (-0.4114).

En conjunto, el proceso de maceración ha sido necesario para aumentar la intensidad colorante de los vinos tintos dulces estudiados, mejorando su color, si bien la duración de dicho proceso podría variar en función de la variedad de uva considerada. Sin embargo, para todas ellas se ha visto que a partir de las 24 horas, las principales diferencias encontradas se deben a la composición fenólica de los vinos, por lo que lo más idóneo sería llevar a cabo una maceración pelicular, con una duración suficiente que la concentración de compuestos fenólicos aumente, pero sin alargar demasiado el proceso, ya que disminuyen los parámetros que miden el color rojo de los vinos.

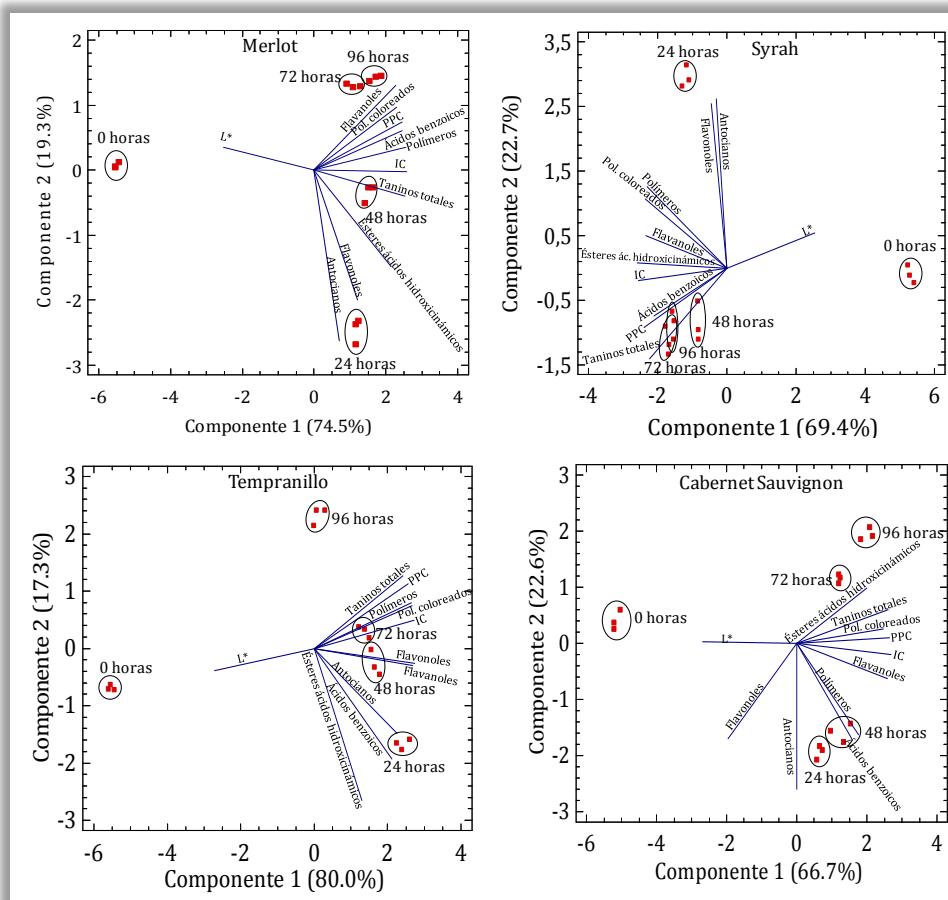


Figura 2.27. Análisis de componentes principales según los parámetros de color y composición fenólica de los vinos a diferentes tiempos de maceración, para las cuatro variedades de uva estudiadas.

	Merlot		Syrah	
	Comp. 1	Comp. 2	Comp. 1	Comp. 2
Antocianos	0.0937	-0.6351	-0.0437	0.5846
Ácidos benzoicos	0.3323	0.1477	-0.2937	-0.1648
Ésteres de ácidos cinámicos	0.2895	-0.3596	-0.3608	0.0170
Flavonoles	0.3057	0.3158	-0.3260	0.1118
Flavonoles	0.1637	-0.4843	-0.0634	0.5694
Polímeros	0.3432	0.0864	-0.3219	0.2811
Polímeros coloreados	0.3107	0.2339	-0.3285	0.2396
IC	0.3470	0.0064	-0.3555	-0.0439
PPC	0.3313	0.1796	-0.3346	-0.2069
Taninos totales	0.3418	-0.0965	-0.3116	-0.3138
L*	-0.3398	0.0864	0.3527	0.1237

Tabla 2.4. Autovectores obtenidos para el análisis de componentes principales según los parámetros de color y composición fenólica durante la maceración de los vinos de las variedades Merlot y Syrah.

	Tempranillo		Cabernet Sauvignon	
	Comp. 1	Comp. 2	Comp. 1	Comp. 2
Antocianos	0.2754	-0.3531	-0.0008	-0.6299
Ácidos benzoicos	0.2587	-0.4604	0.2117	-0.4114
Ésteres de ácidos cinámicos	0.1594	-0.6341	0.2719	0.2380
Flavonoles	0.3265	-0.0713	0.3518	-0.1530
Flavonoles	0.3332	-0.0613	-0.2664	-0.4122
Polímeros	0.3223	0.1900	0.2383	-0.3956
Polímeros coloreados	0.3253	0.1796	0.3349	0.0606
IC	0.3315	0.1169	0.3629	-0.0469
PPC	0.3118	0.2683	0.3585	0.0245
Taninos totales	0.2959	0.3013	0.3522	0.1445
L*	-0.3313	-0.0927	-0.3652	0.0076

Tabla 2.5. Autovectores obtenidos para el análisis de componentes principales según los parámetros de color y composición fenólica durante la maceración de los vinos de las variedades Merlot y Syrah.

A fin de evaluar las variables que mejor podrían caracterizar los vinos obtenidos tras diferentes tiempos de maceración, se ha realizado un análisis discriminante cuyos resultados se muestran en la figura 2.28. para llevar a cabo este tratamiento estadístico, se han eliminado las muestras iniciales, ya que en los análisis de componentes principales anteriores se ha visto que fueron muy diferentes de los vinos macerados.

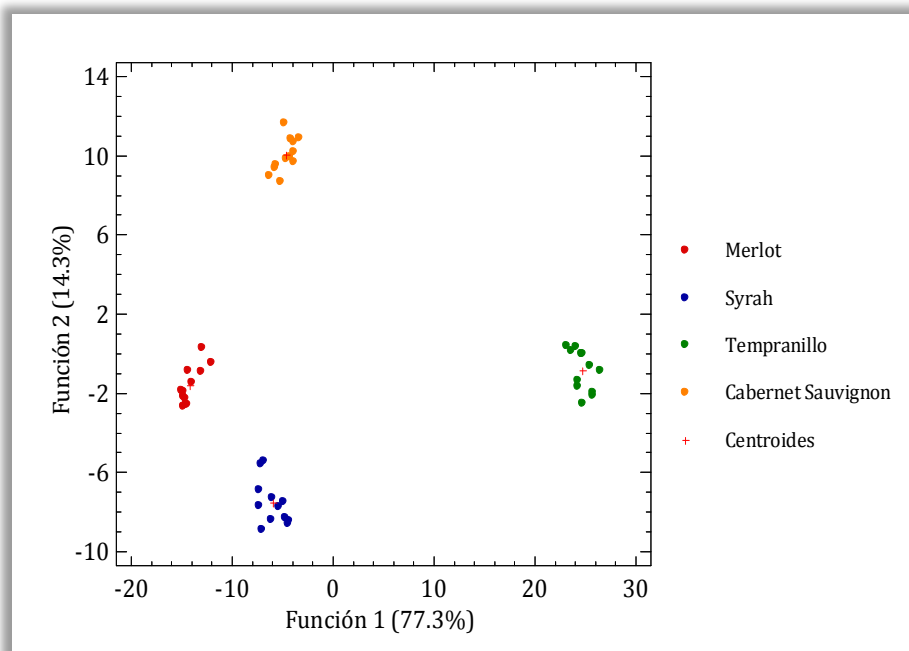


Figura 2.28. Análisis discriminante según los parámetros de color y composición fenólica de los vinos a diferentes tiempos de maceración, sin incluir el vino inicial, para las cuatro variedades de uva estudiadas.

En este análisis discriminante, se han obtenido tres funciones discriminantes con valores propios superiores a la unidad, la primera de las cuales representó un porcentaje del 77.3% del total (tabla 2.6). En conjunto, puede verse que los vinos de la variedad Tempranillo fueron muy diferentes de los de las tres variedades restantes y, de acuerdo a los coeficientes estandarizados de la función discriminante 1, las variables que más discriminan estos vinos fueron los antocianos (1.8682), PPC (1.2946) y ácidos hidroxibenzoicos (-1.2403). Los vinos de las variedades Syrah y Cabernet Sauvignon no podrían distinguirse de acuerdo a la primera función discriminante, pero sí en función de la segunda, cuyo porcentaje fue de un 14.3%, y las variables que más discriminan en este caso serían los flavanoles (1.1128), taninos totales (0.8853) y polímeros (0.8330).

Función discriminante	Valor propio	Porcentaje relativo	Correlación canónica	$\lambda$ de Wilks	p	Chi-cuadrado	Coefficientes estandarizados
1	236.8	77.3	0.998	0.000	0.000	496.2	Antocianos
							Ácidos benzoicos
							Ésteres ac. cinámicos
							Flavonoles
							Flavonoles
							Polímeros
							Polím. coloreados
							IC
							PPC
							Taninos totales
L*							
2	43.9	14.3	0.989	0.001	0.000	280.1	Antocianos
							Ácidos benzoicos
							Ésteres ac. cinámicos
							Flavonoles
							Flavonoles
							Polímeros
							Polím. coloreados
							IC
							PPC
							Taninos totales
L*							
3	25.8	8.41	0.981	0.037	0.000	129.8	Antocianos
							Ácidos benzoicos
							Ésteres ac. cinámicos
							Flavonoles
							Flavonoles
							Polímeros
							Polím. coloreados
							IC
							PPC
							Taninos totales
L*							

Tabla 2.6. Funciones obtenidas para el análisis discriminante según los parámetros de color y composición fenólica de los vinos a diferentes tiempos de maceración, sin incluir el vino inicial, para las cuatro variedades de uva estudiadas.

## **CONCLUSIONES/CONCLUSIONS**

---

### **Conclusiones**

En relación con el estudio llevado a cabo acerca del proceso de maceración pelicular de los vinos tintos dulces obtenidos a partir de uvas pasificadas de las variedades Merlot, Syrah, Tempranillo y Cabernet Sauvignon, se pueden obtener las siguientes conclusiones:

1. El proceso de maceración aumentó el pardeamiento de los cuatro vinos en las primeras 24 horas, posiblemente como consecuencia de la extracción de compuestos pardos desde los hollejos de las uvas. Los valores adquiridos por los vinos Tempranillo fueron muy superiores al resto de variedades.
2. En las primeras horas se produjo un aumento considerable en la  $A_{520}$ , como consecuencia de la rápida extracción de los compuestos rojos presentes en las pieles de las uvas, alcanzando el máximo a las 24 horas en los vinos Merlot y Tempranillo y a las 48 horas en Syrah y Cabernet Sauvignon. Asimismo, los vinos se hicieron más oscuros, fundamentalmente el de la variedad Tempranillo, que disminuyó su claridad hasta 13.3 unidades CIELAB.
3. El color de pigmentos poliméricos aumentó en las primeras 24 horas para los vinos de las cuatro variedades, como consecuencia de la formación de polímeros procedentes fundamentalmente de monómeros de antocianos. Estos compuestos favorecen la estabilidad del color del vino con el tiempo, y fueron más elevados en los vinos Tempranillo y Cabernet Sauvignon.
4. El índice de polifenoles totales aumentó en los cuatro vinos, sobre todo en las primeras 24 horas, debido a una nueva extracción de polifenoles de las pieles de las bayas. Los valores alcanzados fueron muy elevados, superando las 50 u.a. en los vinos Merlot, Tempranillo y Cabernet Sauvignon, por lo que podrían ser aptos para ser sometidos a un envejecimiento posterior.
5. El proceso de maceración consiguió una extracción de todos los derivados antociánicos desde las pieles de las uvas hacia el vino, obteniéndose las máximas concentraciones a las 24 horas de contacto, y descendiendo posteriormente debido a la readsorción de estos compuestos sobre las partes sólidas de las bayas, así como por las reacciones en que se vieron implicados. El vino de la variedad Tempranillo presentó las concentraciones más bajas, indicando que el color de este vino no se debe sólo a los antocianos monómeros. El vino de la variedad Cabernet Sauvignon fue el que más aumentó la concentración de estos compuestos en las primeras horas, pero también se registraron en él los mayores descensos en las horas posteriores, quedando finalmente con los menores valores.
6. En la mayoría de familias de compuestos fenólicos restantes, se obtuvieron las máximas concentraciones en las 24-48 horas de maceración. La familia de flavanoles aumentó inicialmente por difusión desde las partes sólidas, midiéndose descensos posteriores como consecuencia de reacciones de polimerización, para dar taninos de más alto peso molecular.

7. El proceso de maceración ha sido necesario para aumentar la intensidad colorante de los vinos, perdida ligeramente por la dilución que origina la adición de alcohol a los mostos de uvas pasificadas. La duración del proceso podría variar dependiendo de la variedad de uva, ya que si bien se requiere un mínimo de 24 horas, podría ser de 48 horas, pero sin alargar demasiado, ya que disminuye el color rojo y aumenta el pardeamiento y la concentración de taninos.

### **Conclusions**

En ce qui concerne à l'étude du processus de macération des pellicules avec les vins rouges doux, élaborés à partir des raisins secs des cépages Merlot, Syrah, Tempranillo et Cabernet Sauvignon, les conclusions suivantes peuvent être obtenues:

1. La macération a augmenté le brunissement des quatre vins pendant les 24 premières heures, probablement en raison de l'extraction de composés bruns des pellicules des raisins. Les valeurs du Tempranillo étaient beaucoup plus hautes que ceux des autres cépages.
2. Pendant les premières heures de macération, une augmentation considérable de l'absorbance à 520 nm a été produite, par suite d'une extraction rapide des composés rouges des pellicules. Le maximum a été obtenu à 24 heures pour le Merlot et le Tempranillo et à 48 heures pour la Syrah et le Cabernet Sauvignon. Aussi, les vins étaient plus sombres, principalement pour le cépage Tempranillo, qui a diminué sa luminosité jusqu'à 13.3 unités CIELAB.
3. La couleur des pigments polymères a augmenté au cours des premières 24 heures pour les vins des quatre cépages, comme conséquence de la formation de polymères à partir, principalement, des monomères d'anthocyanes. Ces composés favorisent la stabilité de la couleur du vin au fil du temps, et leurs concentrations étaient plus hautes pour le Tempranillo et le Cabernet Sauvignon.
4. L'indice des polyphénols totaux a augmenté pour les quatre vins, en particulier pendant les premières 24 heures, en raison d'une extraction des polyphénols des pellicules des baies. Les valeurs obtenues ont été hautes, plus de 50 u.a. pour le Merlot, le Tempranillo et le Cabernet Sauvignon. Ces vins pouvaient être utilisés pour un élevage postérieur.
5. La macération a impliqué une extraction de tous les dérivés d'anthocyanes des pellicules au vin. Les concentrations maximales ont été obtenues après 24 heures de contact, pour diminuer après comme conséquence de la réadsorption de ces composés sur les parties solides des baies, en plus de sa implication en différentes réactions. Le vin du cépage Tempranillo présentait les concentrations les plus faibles, ce qui indique que la couleur de ce vin n'est pas due seulement aux anthocyanines monomères. Les concentrations de ces composés pendant les premières heures ont augmenté le plus pour le Cabernet Sauvignon. Pendant les heures suivantes, les plus importantes

diminutions ont été mesurées pour le même cépage, et le vin final a présenté les valeurs les plus faibles.

6. Dans la plupart des autres familles de composés phénoliques, les concentrations maximales ont été obtenues aux 24-48 heures de macération. Initialement, la famille de flavanols a augmenté par sa diffusion des parties solides. Après, des diminutions ont été mesurées comme conséquence des réactions de polymérisation, pour obtenir des tanins de poids moléculaire plus élevés.
7. La macération a été nécessaire pour augmenter l'intensité colorante des vins, qui avait diminué à cause de la dilution pour l'addition d'alcool aux moûts de raisins secs. Le temps de traitement peut varier en fonction du cépage, puisque si un minimum de 24 heures est nécessaire, le temps pourrait augmenter jusqu'à 48 heures. Des temps supérieures à 48 heures ne sont pas appropriés, car la couleur rouge diminue et le brunissement et la concentration de tanins augmente.





*Envejecimiento con virtutas y  
evolución en botella de vinos  
tintos dulces*

---



## **INTRODUCCIÓN**

En los últimos años, el uso de virutas de roble (chips) para el envejecimiento de vinos es una práctica cada vez más extendida en enología, siendo habitual en bodegas de los llamados países del nuevo mundo en el ámbito vitivinícola, como Chile, Sudáfrica, Australia o USA. A los productores europeos se les prohibía la aplicación de esta práctica, a pesar de la existencia desde 1983, de acuerdos comerciales bilaterales que aceptaban las importaciones en territorio europeo de vinos sometidos a estos tratamientos. A partir de 1993 se permitió utilizar virutas y otros granulados de roble “a título experimental”, respetando las limitaciones dictadas por el RCE 822/87. Posteriormente se publicó el Reglamento 1507/2006, por el que se permite el uso de trozos de madera de roble más o menos tostados durante la elaboración de los vinos, el 95% de los cuales debe superar los 2 mm y no liberar ninguna sustancia que pueda presentar un riesgo para la salud (Comunidad Europea, 2006). En vinos de denominaciones de origen, el uso de virutas está supeditado a lo que decida cada consejo regulador dentro del ámbito de aplicación de la propia D.O. En concreto, la Denominación de Origen Rioja ha prohibido su uso en la elaboración y almacenamiento de vinos protegidos por la misma, de acuerdo a la orden APA/3332/2007 que modificó el Reglamento de la D.O. Rioja.



En las características finales de un vino que haya sido sometido a un envejecimiento acelerado con virutas influyen numerosos factores, como la especie y el origen geográfico de la madera (Frangipane *et al.*, 2007b; Rodríguez-Bencomo *et al.*, 2009; Fernández de Simón *et al.*, 2010), a la vez que su secado (Martínez *et al.*, 2008). Asimismo, numerosos autores han estudiado la influencia de los distintos grados de tostado (Bozalongo *et al.*, 2007; Koussissi *et al.*, 2009) y diferentes formas y tamaños de las virutas (Bautista-Ortín *et al.*, 2008; Cano-López *et al.*, 2008; Del Álamo *et al.*, 2010; Gallego *et al.*, 2012). Otros aspectos importantes a tener en cuenta serían la dosis de fragmentos de madera empleados (Pérez-Coello *et al.*, 2000; Bautista-Ortín *et al.*, 2008), el tiempo de contacto (Cano-López *et al.*, 2008; Fernández de Simón *et al.*, 2010), así como el momento de la vinificación en el que se añaden las virutas (García-Carpintero *et al.*, 2011; García-Carpintero *et al.*, 2012) y el uso combinado de chips y microoxigenación (Rodríguez-Bencomo *et al.*, 2008; Del Álamo *et al.*, 2010).



La utilización de virutas de roble tiene como principal finalidad reducir los costes y mejorar el proceso tecnológico de envejecimiento de vinos. Como técnica complementaria o alternativa a la crianza tradicional en bodega presenta, como principal ventaja, un dominio técnico y preciso del enmaderado, que influye de forma importante sobre el color, el dulzor, el perfil aromático, el ajuste cromático y la complejidad del vino (Natali *et al.*, 2006; Del Álamo *et al.*, 2008; Rodríguez-Bencomo *et al.*, 2008). Aunque la mayoría de los estudios realizados se centran en el análisis de la composición volátil, algunos trabajos han estudiado también la influencia de la

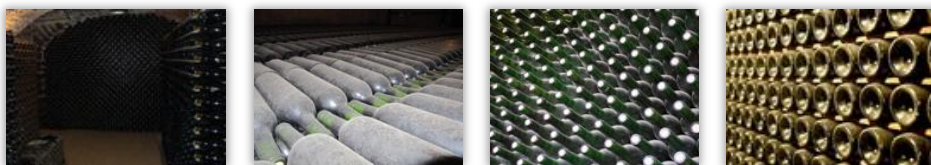
maceración del vino con virutas de roble sobre su composición fenólica (Del Álamo-Sanza *et al.*, 2004; Coninck *et al.*, 2006; De Beer *et al.*, 2008; Pérez-Magariño *et al.*, 2009; Ortega-Eras *et al.*, 2010). A este respecto, hay que tener en cuenta que ocurre un cambio en el perfil sensorial del producto final, ya que muchos compuestos, como ácidos gálico, ferúlico, vanílico, siríngico y elágico, así como elagitaninos (Viriot *et al.*, 1994) y taninos (Fernández de Simon *et al.*, 1996) se extraen desde los trozos de madera. Además del flavor a madera, se busca una mejora de la estructura final del producto, favoreciendo las reacciones y/o combinaciones de antocianos-taninos que aseguren la estabilidad del color.

Desde un punto de vista económico, los costes de producción de los vinos con este tipo de envejecimiento alternativo son más bajos que con la crianza en barrica, siendo posible ponerlos en el mercado a un precio más competitivo. Igualmente, se consigue un envejecimiento mucho más rápido, reduciendo el vino inmovilizado en bodega y aumentando el espacio disponible para otros vinos.

Por otro lado, la evolución de los vinos tintos con el tiempo conlleva cambios importantes en la composición fenólica de los mismos, apareciendo compuestos más estables y complejos (Cruz *et al.*, 2008b), a la vez que el color va cambiando hacia tonos teja-anaranjados (Somers, 1971; Zamora, 2003) y ocurre una clarificación espontánea de los vinos. La concentración de antocianos, copigmentos, acetaldehído y otros metabolitos de las levaduras, así como el pH, la temperatura y la presencia de oxígeno y dióxido de azufre, entre otros, son factores que afectan al progreso de las reacciones químicas de los compuestos fenólicos durante el envejecimiento del vino (Somers and Evans, 1986; Dallas *et al.*, 1995; Romero and Bakker, 1999; Romero and Bakker, 2000).

En cuanto a la estabilización del color con el tiempo, los compuestos fenólicos en general, y los antocianos, flavanoles, flavonoles y ácidos fenólicos en particular, juegan un papel muy importante. El color inicial de los vinos, se debe principalmente a los antocianos que se extraen desde las pieles de las uvas durante el proceso de vinificación, pero durante el envejecimiento ocurren numerosas reacciones que van modificándolo. Entre estas reacciones se encuentran procesos de oxidación, además de reacciones de copigmentación, cicloadición, condensación o polimerización. Así, los antocianos pueden reaccionar con derivados del flavan-3-ol, bien directamente o mediante una molécula de acetaldehído (Dallas *et al.*, 1996b; Francia-Aricha *et al.*, 1997; Vivar-Quintana *et al.*, 2002), aunque también pueden ocurrir reacciones de condensación de antocianos y/o flavanoles con otros compuestos de menor peso molecular, como ácido pirúvico, vinilfenol o ácido glioxílico (Bakker *et al.*, 1997; Fulcrand *et al.*, 1998; Es-Safi *et al.*, 2000c), dando lugar a nuevos pigmentos más estables y que mantienen la intensidad del color del vino con el tiempo (Bakker and Timberlake, 1997; Revilla and González-Sanjosé, 2001). Además, recientemente se han encontrado unos pigmentos azulados en vinos tintos, resultantes de la reacción entre aductos antociano-ácido pirúvico con vinilflavanoles. Asimismo, los flavanoles están involucrados en reacciones de pardeamiento oxidativo, a la vez que interaccionan con las proteínas originando una turbidez en el vino (Cheynier and Ricardo da Silva, 1991a). Todas estas reacciones modifican el color del vino, pero también dan lugar a un descenso en la astringencia y amargor, resultando finalmente vinos más suaves.

Asimismo, durante el envejecimiento del vino ocurren otras reacciones químicas en las que participan los compuestos fenólicos, tales como la transformación del ácido gálico a ácido elágico bajo condiciones oxidativas (Tulyathan *et al.*, 1989) y la hidrólisis de glicósidos de flavonoles hasta agliconas y de ésteres tartáricos de los ácidos hidroxicinámicos hacia sus correspondientes formas libres (Somers *et al.*, 1987; Zafrilla *et al.*, 2003). En este sentido, Schwarz *et al.* (2003c) demostraron que los ácidos hidroxicinámicos pueden también reaccionar con los antocianos, dando lugar a pigmentos de tipo piranoantociano. Además, Monagas *et al.* (2005a) encontraron que, durante el envejecimiento en botella de vinos tintos de las variedades Graciano, Cabernet Sauvignon y Tempranillo, ocurría un aumento de concentración de ácidos hidroxicinámicos libres, lo que podría atribuirse a la hidrólisis de los ésteres tartáricos propuesta por otros autores (Somers *et al.*, 1987). Asimismo, y teniendo en cuenta el importante incremento de ácido *t-p*-cumárico asociado a la desaparición de antocianos *p*-cumarilacilados, Monagas *et al.* (2005a) propusieron que el aumento del ácido hidroxicinámico podría deberse en parte a la hidrólisis del grupo acilado de esta familia antocianina.



En el presente capítulo, se planteó como primer objetivo el estudio del color y composición fenólica de vinos tintos dulces tras el contacto con virutas de roble americano, a fin de que esta etapa de envejecimiento mejore el perfil sensorial de los vinos, que fueron obtenidos a partir de uvas cultivadas en Andalucía y pasificadas en cámara a temperatura controlada. Asimismo, se planteó como segundo objetivo estudiar el almacenamiento en botella durante un año de los vinos tintos dulces obtenidos, con y sin envejecimiento previo con virutas de roble americano, haciendo asimismo un seguimiento de la evolución del color y composición fenólica.

## MATERIAL EXPERIMENTAL

Para el desarrollo del presente estudio, se tomaron lotes de aproximadamente 30 Kg de uvas de la misma cosecha a las empleadas en los capítulos anteriores. De esta forma, uvas de las variedades Merlot, Syrah, Tempranillo y Cabernet Sauvignon fueron descongeladas a 25 °C durante 24 horas y a continuación, se llevó a cabo la pasificación de las mismas de acuerdo al procedimiento descrito en el capítulo 3, que se dio por finalizado cuando la concentración de azúcares reductores fue de aproximadamente 300 g/L. En este momento se procedió al prensado de las pasas, y el mosto resultante fue fortificado con alcohol de origen vínico de modo que el grado alcohólico de los vinos finales fuese 15% (v/v).

Los vinos obtenidos presentaron unos valores de pH de 3.46 para la variedad Merlot, 3.53 para Cabernet Sauvignon, 3.84 para Syrah y 3.80 para Tempranillo, por lo que se procedió a la corrección del pH en los dos últimos. Para ello, se acidificaron con ácido tartárico, en una concentración de 1.4 g/L para Syrah y 1.3 g/L para Tempranillo, disminuyendo el pH hasta valores de 3.62 y 3.56 respectivamente. La adición de ácido tartárico se realizó disolviendo el mismo en una pequeña cantidad de vino, y homogeneizando posteriormente con todo el volumen disponible. Asimismo, se realizó la medida de la acidez volátil de los vinos de las cuatro variedades, presentando la variedad Cabernet Sauvignon un valor muy elevado ( $2.86 \pm 0.024$  g ácido acético/L), por lo que se excluyó este vino del estudio de la evolución en botella.

A continuación, se llevó a cabo la maceración del vino con los hollejos de las uvas, previamente despalilladas, en un tanque de acero inoxidable de 50 L según se detalla en el capítulo 4. El tiempo de maceración se fijó en 48 horas, tras lo cual se extrajo el vino y se procedió a una segunda prensada de los hollejos.



El vino obtenido de cada variedad se dividió en dos lotes iguales, siendo uno de ellos envejecido con virutas de roble antes de su embotellado. Para ello, se utilizaron escamas de roble americano (*Quercus alba*), suministradas por Anatriide

Ibérica, S. L. (Zaragoza, España), de tostado medio (las características del proceso de tostado están protegidas por secreto industrial). Las escamas empleadas eran fragmentos no uniformes con unas medidas aproximadas de 1 cm x 1.5 cm x 0.2 cm de tamaño y un peso medio de 0.158 g.

Para llevar a cabo el envejecimiento acelerado, se introdujeron fracciones de 500 mL de vino en matraces de fondo plano de 1 litro y se añadieron escamas en una concentración de 4 g/L. Los matraces fueron tapados con algodón hidrófilo e introducidos en un baño de agua a una temperatura constante de 20 °C, durante 4 días. Cada 24 horas, los matraces se agitaron en presencia de aire para homogeneizar el medio y favorecer el contacto de las escamas con el vino, a la vez que se facilitó la entrada de oxígeno.



Para fijar el tiempo de maceración con virutas, se llevó a cabo una experiencia previa con vinos obtenidos mediante el mismo procedimiento, y dos concentraciones de escamas (4 y 8 g/L), durante 8 días. La elección del tipo de virutas, así como de las concentraciones ensayadas, se basó en estudios previos realizados por el grupo de investigación con vinos dulces. Posteriormente al ensayo de ambas concentraciones de escamas, mediante un análisis sensorial, se pidió a un panel de catadores que evaluaran los vinos envejecidos con ambas concentraciones de virutas a los 2, 4 y 8 días de contacto respecto al inicial, siendo el vino envejecido durante 4 días con 4 g/L de escamas el que obtuvo las mejores puntuaciones. El vino que había estado dos días de contacto, apenas presentaba notas diferenciadoras con el inicial, mientras que en el vino tras 8 días de envejecimiento aparecían notas a madera demasiado marcadas para vinos dulces, según las apreciaciones de los catadores.

Los dos lotes de vinos que se obtuvieron para cada variedad, con y sin envejecimiento con escamas de roble, fueron envasados en botellas de vidrio oscuro de 360 mL (para los análisis químicos posteriores) y de 750 mL (para los análisis sensoriales). Las botellas se llenaron con las muestras de vino y el aire del espacio de cabeza fue sustituido por nitrógeno, tras lo cual las botellas se cerraron con tapones de corcho, sellando con parafina para evitar la entrada de oxígeno. Las botellas fueron etiquetadas y se conservaron en ausencia de luz a  $20 \pm 3$  °C durante 12 meses. Todas las determinaciones se realizaron en el momento inicial de estudio y cada tres meses, obteniendo para cada tipo de vino medidas a tiempo cero y tras 3, 6, 9 y 12 meses de envejecimiento en botella. Previamente a su análisis, el vino de cada botella fue centrifugado a 3000 rpm y filtrado, realizando todas las determinaciones por triplicado.





## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Estudio de los vinos tras el contacto con escamas de roble

El tiempo de envejecimiento acelerado de algunos vinos tintos con virutas de roble suele estar entre uno y dos meses, con concentraciones de virutas del orden de entre 2 y 7 g/L, buscando notas a madera similares a las de un envejecimiento en barrica (Sartini *et al.*, 2007; Pérez-Magariño *et al.*, 2009; Cejudo-Bastante *et al.*, 2011). En los vinos tintos dulces estudiados, el tiempo de contacto con las virutas fue mucho más corto (4 días), pero suficiente para encontrar en este tipo de vinos unas características sensoriales adecuadas. Además, se estudiaron los parámetros de color y la concentración de compuestos fenólicos de diferentes familias, para ver si el contacto con las virutas ocasionó en los vinos cambios en este sentido.

La figura 5.1 muestra los valores de absorbancias medidos a 420, 520 y 620 nm de los vinos tintos estudiados antes y tras el contacto con escamas de roble, pudiendo observarse que  $A_{420}$  aumentó ligeramente en el vino de la variedad Tempranillo, sin cambios significativos para los restantes. En relación a la absorbancia a 520 nm, el contacto de los vinos con las virutas conllevó un descenso en este parámetro hasta valores de 3.68 u.a. para Tempranillo, 3.82 u.a. para Merlot y 4.09 u.a. para Syrah, indicando que habría disminuido el color rojo de los vinos, paralelamente a un descenso en la absorbancia a 620 nm y consecuentemente en la componente azul de los mismos.

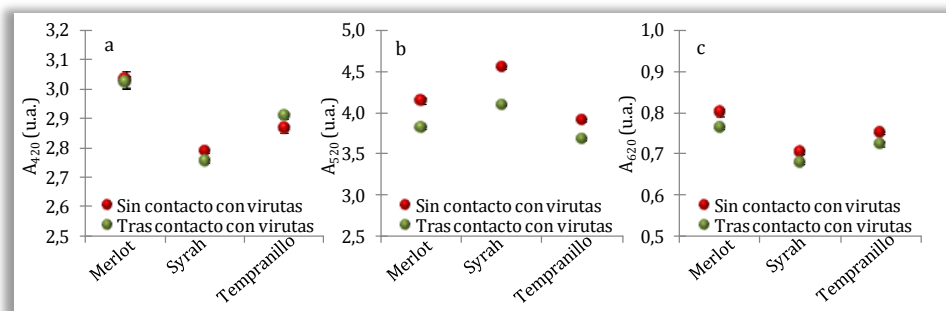


Figura 5.1. Absorbancias a 420, 520 y 620 nm (u.a.) de los vinos tintos dulces antes y tras contacto con virutas de roble.

En la figura 5.2 pueden observarse los valores de tonalidad ( $A_{420}/A_{520}$ ) para los vinos antes y tras el envejecimiento acelerado, observándose en todos los casos un aumento en este parámetro debido al contacto con las virutas, siendo el crecimiento experimentado muy parecido en los tres casos y midiéndose aumentos en la tonalidad de 0.058 para Tempranillo y 0.060 para Merlot y Syrah. De acuerdo con estos datos, los vinos tras el envejecimiento presentaron mayor participación de coloraciones amarillas frente a tonos rojos que los vinos iniciales, algo que sería debido al contacto con las escamas. En los dos vinos de la variedad Syrah, sin y con envejecimiento, se midieron los valores de tonalidad más bajos (0.613 y 0.673, respectivamente),

mientras que las dos variedades restantes presentaron valores más próximos entre ellas.

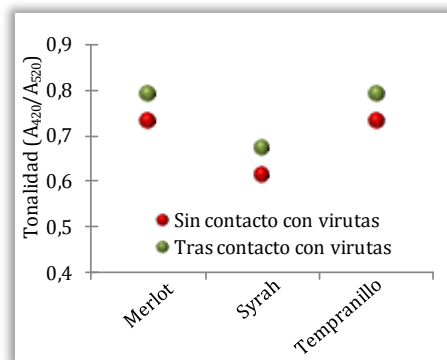


Figura 5.2. Tonalidad ( $A_{420}/A_{520}$ ) de los vinos antes y tras el contacto con virutas de roble.

La figura 5.3 muestra los porcentajes de color amarillo, rojo y azul para los vinos de las tres variedades estudiadas antes y tras el contacto con escamas de roble. En todos los casos se midió una evolución similar, que implicó un descenso en el porcentaje de color rojo y un aumento en el correspondiente al color amarillo como consecuencia de la maceración de los vinos con virutas de roble.

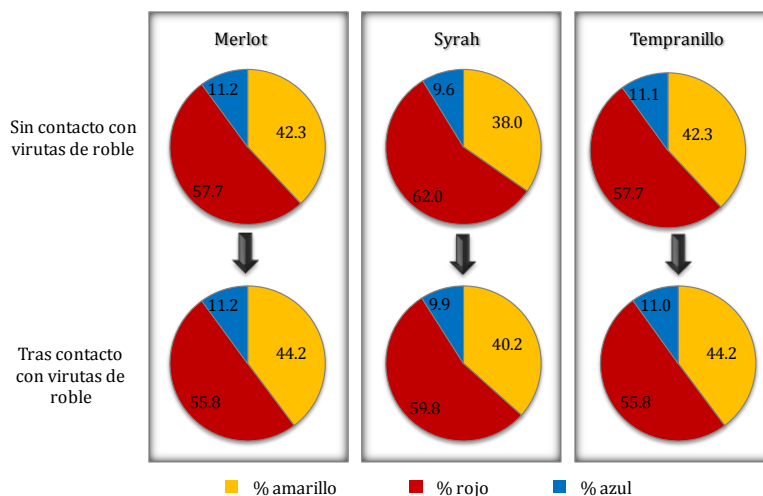


Figura 5.3. Porcentajes de color amarillo, rojo y azul de los vinos antes y tras el contacto con virutas de roble.

Las diferencias entre los porcentajes iniciales y finales no fueron muy importantes, pero sí a tener en cuenta en tan solo 4 días de maceración con las virutas, aumentando desde 42.3 a 44.2% el porcentaje de color amarillo en las variedades Merlot y Tempranillo y de 38.0 a 40.2% para Syrah, disminuyendo paralelamente el porcentaje de color rojo de 57.7 a 55.8 % para las dos primeras variedades y de 62.0 a

59.8 % en el caso de Syrah. Estos descensos del porcentaje de color rojo pudieron deberse a la participación de antocianos libres en reacciones de condensación y/o polimerización, dando lugar a otros compuestos con el máximo de absorbancia desplazado hipsocrómicamente respecto a los antocianos de partida, aumentando de esta forma la contribución de las tonalidades pardas al color final del vino. En cuanto al porcentaje de color azul de los vinos, apenas se observaron diferencias entre los vinos iniciales y finales, presentando todas las muestras porcentajes entre el 10 y 11%.

El cambio en el color total de pigmentos (WCA) de los vinos estudiados como consecuencia del envejecimiento acelerado con escamas de roble se muestra en la figura 5.4, encontrándose que este parámetro fue menor en todos los casos tras el contacto con virutas, no encontrándose diferencias significativas para la variedad Tempranillo. Para la variedad Syrah, el descenso en el valor de este parámetro fue el más importante de los medidos, disminuyendo desde 12.0 hasta 9.41 u.a., lo que podría explicarse de nuevo como consecuencia de la degradación, polimerización o condensación de los antocianos monómeros.

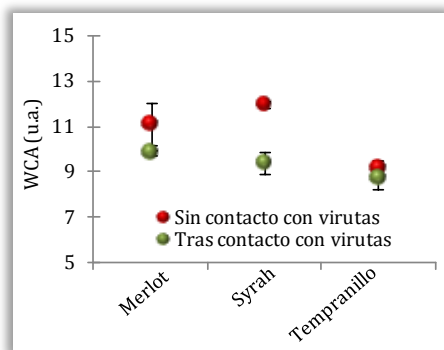


Figura 5.4. Color total de pigmentos (u.a.) de los vinos antes y tras el contacto con virutas de

En la figura 5.5 se recogen los valores de color de pigmentos poliméricos (PPC), para los vinos que habían estado en contacto con virutas de roble, en comparación con aquellos que no fueron envejecidos. Puede observarse como el proceso de envejecimiento acelerado conllevó un aumento en la absorbancia correspondiente a los compuestos poliméricos rojos, debido posiblemente a reacciones de polimerización de los antocianos de los vinos con compuestos de mayor peso molecular extraídos de la madera, como taninos, además de por la presencia de oxígeno durante todo el tiempo de contacto, que favorecería las reacciones de oxidación de los compuestos del vino.

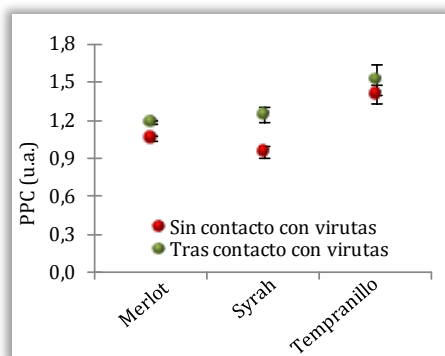


Figura 5.5. Color de pigmentos poliméricos (u.a.) de los vinos antes y tras el contacto con virutas de

Además de todos los parámetros de color ya estudiados, se midieron los parámetros del espacio CIELAB para los vinos antes y tras 4 días de contacto con escamas de roble. Los parámetros  $a^*$ ,  $b^*$  y  $L^*$  para las cuatro variedades se muestran en la figura 5.6, en la cual puede observarse que la maceración con virutas conllevó un aumento de  $a^*$  y de  $b^*$  para Merlot, Syrah y Tempranillo. En relación con las coordenadas polares  $C^*_{ab}$  y  $h_{ab}$ , se midió un ligero aumento en el tono para las tres variedades estudiadas, aumentando ligeramente la cromaticidad para los vinos Merlot y Tempranillo como consecuencia del contacto con las escamas.

En cuanto a la claridad de los vinos, representada por el parámetro  $L^*$ , el contacto de los vinos con las virutas conllevó un aumento en su valor, lo que indicaría que los vinos tras el envejecimiento eran más claros que los vinos de partida.

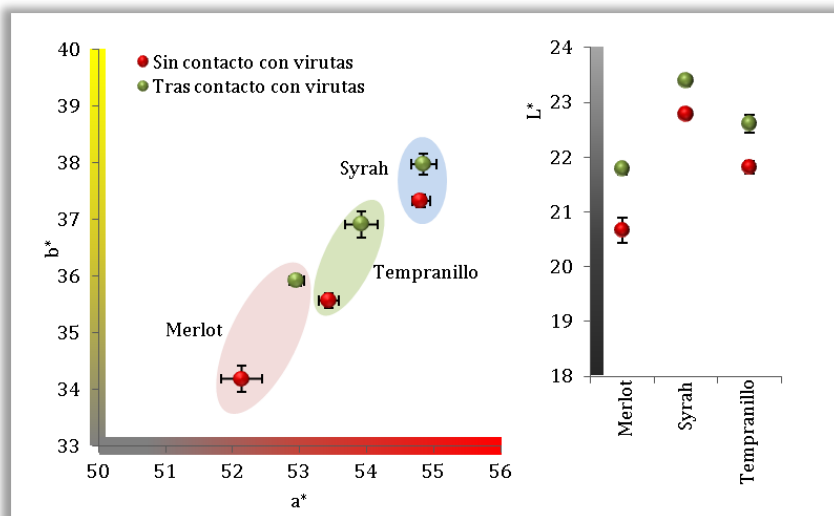


Figura 5.6. Parámetros del espacio CIELAB  $a^*$ ,  $b^*$  y  $L^*$  (unidades CIELAB) de los vinos antes y tras el contacto con virutas de roble.

La figura 5.7 muestra las concentraciones de las diferentes familias antocianicas cuantificadas en los vinos antes y después del contacto con virutas. Puede observarse que durante el tiempo de maceración del vino con las escamas, las familias de antocianos monómeros disminuyeron, encontrándose en todos los vinos concentraciones más pequeñas tras el envejecimiento. Para las variedades Merlot y Syrah, esta disminución fue mayor que para Tempranillo, especialmente en los antocianos glucosilados (a) y acetilglucosilados (b), que eran los más abundantes.

Esta disminución de monómeros de antocianos podría ser debida a su participación en diferentes tipos de reacciones, dando lugar a la formación de otros tipos de derivados entre los que podrían encontrarse polímeros, pero también a posibles reacciones de síntesis de algunos piranoantocianos y aductos de condensación de antocianos y flavanoles a través de una molécula de acetaldehído, cuya concentración se muestra en la figura 5.7d. De acuerdo con este razonamiento, puede observarse que la concentración de estos aductos aumentó por el envejecimiento con virutas de roble en los vinos Merlot y Syrah, indicando que durante el contacto con la madera ocurrió síntesis de estos aductos, disminuyendo en el vino Tempranillo desde 6.11 mg/L hasta 5.25 mg/L. El diferente comportamiento en la evolución de estos compuestos podría deberse a las pequeñas concentraciones en las que estaban presentes, de manera que cambios en la cinética de las reacciones, o lo que es lo mismo, diferentes velocidades de formación, podrían dar lugar a distintas evoluciones dependiendo de la variedad estudiada.

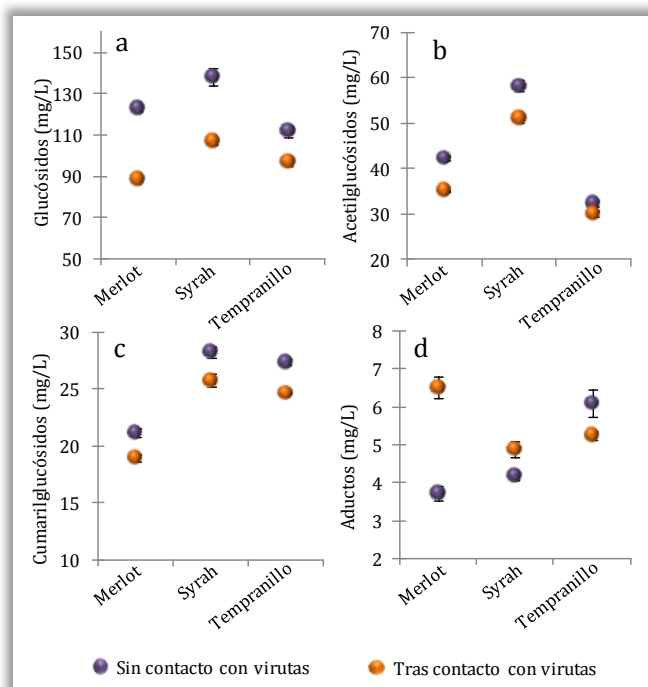


Figura 5.7. Concentración de antocianos (mg/L), agrupados por familias, de los vinos antes y tras el contacto con virutas de roble.

La figura 5.8 recoge las concentraciones de los ácidos hidroxicinámicos cuantificados (ácidos gálico, protocatéquico, vanílico y siríngico) y de los ésteres tartáricos de los ácidos hidroxicinámicos (ácidos *c*- y *t*-caftárico, *c*- y *t*-cutárico y *c*- y *t*-fertárico) de los tres vinos estudiados antes y después de la adición de virutas de roble. En primer lugar, puede verse que los ácidos hidroxibenzoicos cuantificados aumentaron como consecuencia del contacto con la madera, algo que sería debido a la extracción de dichos ácidos desde las virutas. Aunque el ácido gálico fue el compuesto mayoritario de esta familia fenólica, en la mayoría de las variedades el ácido vanílico fue el que aumentó en mayor proporción, por lo que es razonable pensar que ha ocurrido una extracción de este compuesto desde la madera hasta el vino. En concreto, los vinos de la variedad Syrah tuvieron los mayores aumentos de ácido vanílico (de 9.02 a 16.0 mg/L), pero debido a que la concentración del ácido gálico disminuyó de 29.4 a 25.9 mg/L en este vino, el incremento en la concentración total de ácidos hidroxibenzoicos fue el menor de todos. Para los vinos restantes, los dos ácidos aumentaron (salvo en la variedad Tempranillo donde no se midieron diferencias significativas para el ácido vanílico), por lo que el incremento en las concentraciones de ácidos hidroxibenzoicos de los vinos antes y tras el envejecimiento con virutas fue más importante. El ácido protocatéquico solo estuvo presente en ambos vinos en la variedad Merlot y no se midieron diferencias significativas entre ellos, lo mismo que ocurrió para el ácido siríngico.

Para los ésteres de ácidos hidroxicinámicos (figura 5.8b), se encontraron evoluciones diferentes dependiendo de la variedad considerada. Así, mientras en los vinos Merlot y Syrah su concentración disminuyó ligeramente debido al contacto con las virutas, en el vino Cabernet Sauvignon se midió un aumento de estos compuestos, no encontrándose diferencias para la variedad Tempranillo.

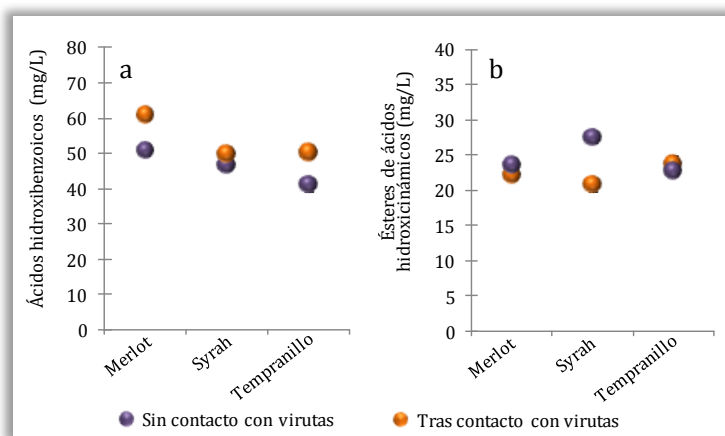


Figura 5.8. Concentración de ácidos hidroxibenzoicos (a) y ésteres de los ácidos hidroxicinámicos (b) (mg/L) de los vinos antes y tras el contacto con virutas de roble.

La figura 5.9 muestra las concentraciones de flavanoles y flavonoles en los vinos antes y tras el contacto con las virutas de roble. Los primeros aparecen agrupados como suma de los monómeros catequina y epicatequina (a) y procianidinas B1, B2, B3 y B4 (b). En el caso de los monómeros derivados de flavan-3-ol, la evolución medida fue diferente dependiendo de la variedad considerada. Así, para el vino Syrah la concentración de estos compuestos aumentó, registrando un incremento importante para la epicatequina y no significativo para la catequina. El aumento fue mucho mayor en la variedad Merlot, en la que ambos flavanoles aumentaron su concentración. Sin embargo, en el vino Tempranillo se midió un descenso de ambos tras el tiempo de contacto con virutas.

En el caso de las cuatro procianidinas cuantificadas, puede observarse como sus concentraciones aumentaron en todos los vinos como consecuencia del contacto con la madera, lo cual podría explicarse debido a la formación de las mismas a partir de flavanoles monómeros.

Para la familia de flavonoles (figura 5.9c), el contacto con las escamas conllevó un descenso en su concentración, debido principalmente a la disminución en la concentración de flavonoles glicosilados, que fue más importante en los vinos Syrah y Tempranillo, justificando así el destacado cambio de concentración que ocurrió en ambas variedades. Estos compuestos podrían haberse hidrolizado durante los días de envejecimiento acelerado, disminuyendo así su concentración.

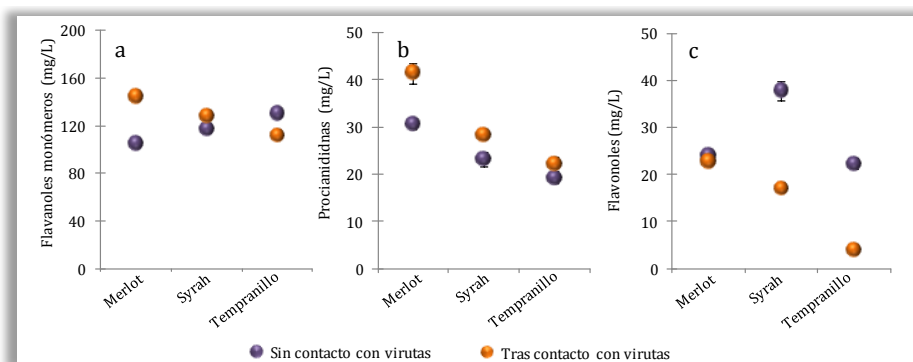


Figura 5.9. Concentración de procianidinas (B1, B2, B3 y B4), monómeros de flavanoles (catequina y epicatequina) y flavonoles (mg/L) de los vinos antes y tras el contacto con virutas de roble.

La figura 5.10 muestra las concentraciones de taninos totales de los vinos antes y tras contacto con virutas de roble, pudiéndose observar que con esta etapa de envejecimiento acelerado se consiguió una extracción de taninos de la madera hacia con los vinos, con el consecuente aumento de concentración de estos compuestos. Este aumento fue más importante en el vino de la variedad Syrah, aumentando desde 6.35 hasta 8.35 g/L, seguido por la variedad Merlot (de 8.81 a 9.34 g/L). En el vino Tempranillo, los cambios en la concentración de taninos totales no fueron significativos durante esta etapa, pero sin embargo, esta variedad fue la que presentó tras el contacto con las virutas el valor superior (9.95 g/L).

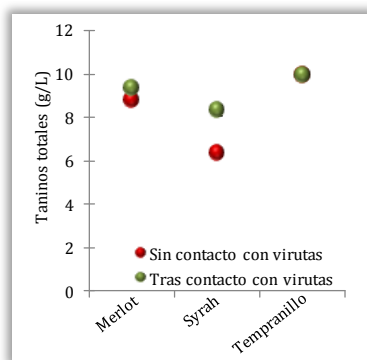


Figura 5.10. Concentración de taninos totales (g/L) de los vinos antes y tras el contacto con virutas de roble.

La figura 5.11 muestra los resultados obtenidos al realizar un análisis multivariante de componentes principales de los vinos de las cuatro variedades antes y después del envejecimiento acelerado con escamas de roble, según los parámetros de color y concentraciones de compuestos fenólicos, agrupados por familias. La primera componente representaba un 39.6% de la varianza total y sobre ella influyeron de manera positiva las absorbancias a 420 nm (0.417) y 620 nm (0.395), mientras que influyeron negativamente las coordenadas CIELAB  $a^*$  (-0.411),  $L^*$  (-0.373) y  $b^*$  (-0.366). Puede verse en la figura que, de acuerdo a esta primera componente, se pudieron diferenciar los vinos estudiados según su variedad, quedando con los mayores valores los correspondientes a Merlot y con menores los vinos de la variedad Syrah, y sin prácticamente ninguna separación según el tipo de envejecimiento.

Por otro lado, la segunda componente representaba el 32.7 % de la varianza explicada, y sobre ella influyeron positivamente los parámetros color total de pigmentos (0.431), concentración de flavonoles (0.399),  $A_{520}$  (0.391) y concentración de antocianos (0.347), y de manera negativa el color de pigmentos poliméricos (-0.398). Esta segunda componente permitió explicar las diferencias entre los vinos antes y tras el contacto con virutas, presentando los primeros valores superiores en todos los casos. De acuerdo a los datos de este análisis estadístico, podría decirse que los vinos iniciales y los obtenidos tras envejecimiento acelerado con las escamas de roble durante 4 días se diferenciaron, para cada variedad, por los parámetros que miden el color rojo de las muestras.



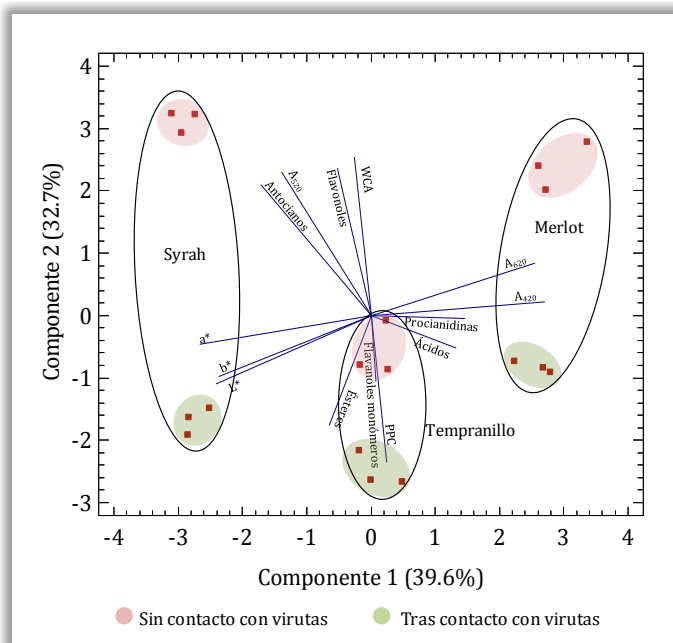


Figura 5.11. Análisis multivariante de componentes principales de los vinos antes y tras el contacto con virutas de roble, de acuerdo a parámetros de color y familias de compuestos fenólicos.

### Análisis sensorial de los vinos antes y tras contacto con virutas de roble

A fin de evaluar la mayor o menor aceptación por los consumidores de los diferentes vinos tintos dulces elaborados a partir de uvas secadas en cámara, con maceración pelicular y con adición o no de virutas de roble americano, se ha realizado un análisis sensorial de acuerdo a las normas ISO para evaluar sus características organolépticas.

En primer lugar, se realizó una prueba triangular con los vinos de las cuatro variedades que no habían estado en contacto con virutas, con el objetivo de comprobar si los catadores eran capaces de diferenciar, en función de la variedad de uva, los tres vinos tintos dulces elaborados de la misma forma.

Los resultados obtenidos se muestran en la tabla 5.1, en la que puede observarse que en la mayoría de los casos las características varietales permitieron a los jueces diferenciar entre los diferentes vinos. Para los vinos Merlot y Tempranillo, todos los catadores fueron capaces de encontrar la muestra diferente, siendo las muestras Tempranillo y Syrah las que resultaron más difíciles de diferenciar entre ellas, según esta prueba sensorial. De esta forma, parece razonable pensar que, aunque el secado previo de las uvas consiguió aparentemente unas características sensoriales más o menos similares de frutos pasificados, sin embargo, en la elaboración de este producto, la variedad es un factor importante a tener en cuenta.

Vinos	Si	No
Merlot-Tempranillo	14	0
Merlot-Syrah	10	4
Tempranillo-Syrah	6	8

Tabla 5.1. Resultados de la prueba triangular llevada a cabo con los vinos tintos dulces sin contacto con virutas. Se indican el número de catadores que encontraron (Si) y que no encontraron (No) la muestra diferente.

En una segunda prueba, se evaluó el aroma, el gusto y el color de todos los vinos obtenidos, sin y con maceración con escamas de roble, mediante una prueba de escalas con tres grados y seis puntuaciones: indeseable (1-2), aceptable (3-4) y deseable (5-6), cuyos resultados se muestran en las tablas 5.2 y 5.3, respectivamente. En estas tablas se recogen el número de jueces que asignaron, a cada parámetro evaluado, cada una de las puntuaciones de la escala establecida.

	Puntuación	Indeseable		Aceptable		Deseable	
		1	2	3	4	5	6
Merlot	Aroma	2	1	5	4	2	0
	Sabor	0	0	3	4	6	1
	Color	1	1	5	3	2	2
Syrah	Aroma	1	1	7	4	1	0
	Sabor	0	1	5	4	1	3
	Color	0	1	1	6	4	2
Tempranillo	Aroma	0	4	4	2	4	0
	Sabor	0	1	7	3	3	0
	Color	0	1	5	3	5	0

Tabla 5.2. Puntuaciones del análisis sensorial de los vinos tintos dulces sin contacto con virutas de roble.

	Puntuación	Indeseable		Aceptable		Deseable	
		1	2	3	4	5	6
Merlot	Aroma	0	2	5	5	1	1
	Sabor	1	2	3	3	5	0
	Color	0	1	1	5	6	1
Syrah	Aroma	1	5	3	3	2	0
	Sabor	1	1	2	6	3	1
	Color	0	1	2	6	5	0
Tempranillo	Aroma	0	2	3	7	2	0
	Sabor	3	2	3	2	4	0
	Color	2	4	3	3	2	0

Tabla 5.3. Puntuaciones del análisis sensorial de los vinos tintos dulces tras contacto con virutas de roble.

A partir de estos datos, y para una más fácil comprensión de los resultados obtenidos, se calculó la media de las puntuaciones obtenidas para cada parámetro en los diferentes vinos (figura 5.12).

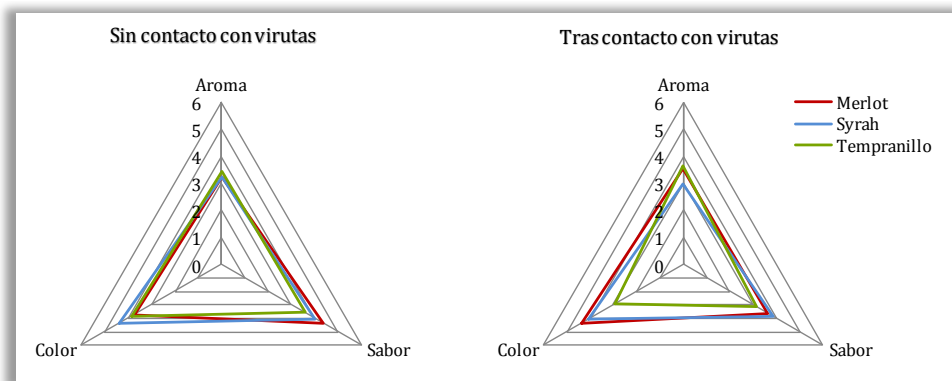


Figura 5.12. Valores obtenidos tras el análisis sensorial de aroma, gusto y color de los vinos tintos dulces estudiados.

En primer lugar, en cuanto al aroma, puede observarse que los vinos Tempranillo, sin y con envejecimiento acelerado, fueron los que presentaron puntuaciones superiores y aceptables (3.4 y 3.6 puntos, respectivamente), seguidos por los correspondientes a las variedades Merlot y Syrah. En relación al sabor, para los dos vinos de la variedad Merlot, sin y con envejecimiento con virutas, se calcularon medias de 4.4 y 3.6, respectivamente, no encontrando mucha diferencia en los correspondientes de la variedad Syrah, con puntuaciones de 4.0 y 3.9, también aceptables para los catadores. El color fue el parámetro mejor evaluado en la mayoría de los casos, con resultados muy parecidos para todos los vinos, próximos o superiores a 4 puntos. El vino que obtuvo la menor puntuación fue el de la variedad Tempranillo envejecido con virutas, con 2.9 puntos y los mejor valorados los correspondientes a Merlot tras contacto con escamas y Syrah sin envejecimiento acelerado, con 4.4 puntos. Las altas puntuaciones obtenidas en el análisis del color indicarían que se consiguió uno de los objetivos fijados al principio de este trabajo, que fue elaborar vinos tintos dulces a partir de uvas pasificadas, pero manteniendo los tonos rojos característicos de los vinos tintos.

Por otra parte, si se comparan los vinos antes y tras el contacto con las escamas para cada una de las tres variedades estudiadas (figura 5.13), puede observarse que para el aroma, los vinos Merlot y Tempranillo que habían estado en contacto con virutas de roble obtuvieron puntuaciones ligeramente superiores a los que no habían sido macerados con escamas. Por el contrario, fueron los vinos sin envejecimiento acelerado los que obtuvieron mejores puntuaciones en relación al sabor para las tres variedades estudiadas y, de igual manera, estos vinos fueron mejor valorados en cuanto al color en el caso de Syrah y Tempranillo, con una diferencia importante para esta última variedad.

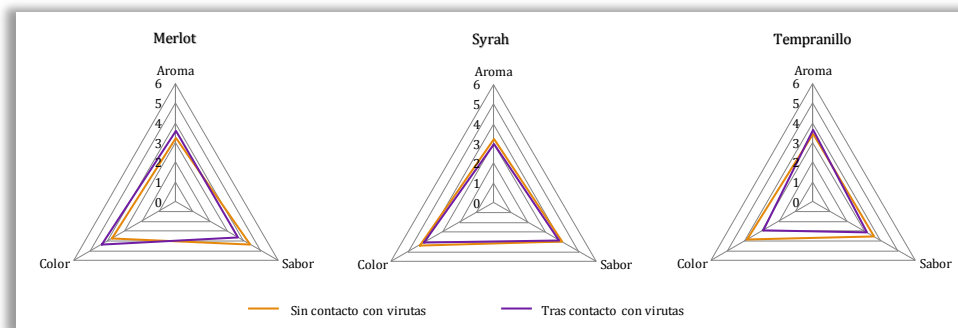


Figura 5.13. Valores obtenidos de aroma, gusto y color en función de la variedad de los vinos tintos dulces estudiados.

Finalmente, se realizó otro análisis sensorial de los vinos con catadores expertos, los cuales describieron cada uno de los vinos antes y tras contacto con virutas de roble, en relación a su aroma, sabor y color.

Para los vinos que no habían estado en contacto con virutas, los catadores encontraron un aroma parecido para las variedades Merlot y Tempranillo, encontrando sin embargo, en el vino Syrah, un aroma un poco herbáceo, pero bastante adecuado, siendo el vino más complejo en cuanto a sabor. Para el vino de la variedad Merlot, los catadores destacaron en su aroma un carácter meloso, que recordaba mucho a uvas pasificadas, a licor de frutas o a fruta escarchada, encontrando en su sabor un toque anisado, con notas a higos maduros, con más acidez que el resto y alcohol bien equilibrado. En el caso del vino sin virutas de la variedad Tempranillo, todos los catadores coincidieron en que su color, más pardeado, y un aroma más neutro y menos intenso que el resto, indicaban que el vino estaba más evolucionado. En boca, este vino fue descrito como más dulce y más tánico que el resto, presentando algunos toques de tanino verde debido a los raspones pero, de acuerdo a la opinión de los catadores, su tanicidad lo podría hacer un poco más estructurado. Por vía retronasal, aparecieron notas a chocolate.

En cuanto a los vinos que habían estado en contacto con virutas de roble, los catadores opinaron que ganaban en complejidad respecto a los vinos anteriores, pero que en general los toques debidos a la madera no eran demasiado acusados. En relación al vino de la variedad Merlot, los catadores encontraron un aroma más vinoso, debido posiblemente por los toques a vainilla debidos al envejecimiento acelerado, aunque seguía apareciendo la fruta madura. En cuanto a sabor, fue uno de los mejor valorados, apareciendo de nuevo toques a higos maduros, pero la mayor tanicidad como consecuencia de la extracción de taninos de las virutas lo hicieron más estructurado y equilibrado, con un posgusto más largo. En cuanto a su color, los catadores lo encontraron algo menos intenso, pero más rojo. En el caso del vino de la variedad Syrah, de nuevo se encontró aroma herbáceo, pero los catadores coincidieron en que presentaba el aroma más complejo. Asimismo, en boca apareció como el más ligero, por lo que fue descrito como el vino más diferente del resto. Finalmente, los catadores encontraron el vino de la variedad Tempranillo tras contacto con virutas más evolucionado que los de las dos variedades anteriores, con aroma a pasas y pastelería, siendo descrito de la misma forma en cuanto a su sabor.

## Estudio de la evolución en botella de los vinos

Los vinos tintos dulces obtenidos de las tres variedades estudiadas, sin y con contacto con virutas de roble, fueron embotellados, y se realizó un seguimiento de su evolución durante un año, llevando a cabo las determinaciones generales, de color y composición fenólica de los mismos.

En primer lugar, se midió el pH durante todo el proceso de vinificación llevado a cabo, mostrándose en la tabla 5.4 los valores correspondientes a los mostos de uvas frescas y de uvas pasificadas, y a los vinos sin y con contacto con virutas de roble, medido cada 3 meses durante el proceso de evolución en botella. En todos los casos, los valores de pH de los mostos disminuyeron durante el proceso de secado de las uvas, manteniéndose más o menos constante en los vinos durante el periodo de almacenamiento, con valores de pH comprendidos entre 3.5 y 3.8.

Variedad	Mostos		Sin contacto con virutas					Tras contacto con virutas				
	Inic	Fin	Mes 0	Mes 3	Mes 6	Mes 9	Mes 12	Mes 0	Mes 3	Mes 6	Mes 9	Mes 12
Merlot	3.9	3.8	3.5	3.8	3.8	3.8	3.7	3.9	3.7	3.8	3.7	3.6
Syrah	3.9	3.5	3.6	3.6	3.5	3.6	3.5	3.8	3.6	3.7	3.6	3.6
Tempranillo	4.0	3.8	3.6	3.7	3.7	3.7	3.8	3.6	3.6	3.6	3.6	3.7

Tabla 5.4. Valores de pH medidos en los mostos al inicio y al final del proceso de pasificación y en los vinos de las tres variedades, sin y tras el contacto con virutas de roble, durante el proceso de evolución en botella.

Se midió la acidez volátil en los mostos de uva fresca y en los vinos al inicio y tras un año de almacenamiento, siendo los elevados valores encontrados en este parámetro para los vinos Cabernet Sauvignon los que hicieron que se excluyera esta variedad del estudio de la evolución en botella. Para las tres variedades restantes, los valores recogidos en la tabla 5.5 muestran que durante el secado de las uvas en la cámara y la maceración de los vinos con los hollejos, aumentó la acidez volátil en las variedades Merlot y Tempranillo, no encontrando cambios significativos en Syrah. A pesar de ello, los valores medidos en los vinos no fueron en ningún caso elevados, quedando dentro de los límites permitidos legalmente para la elaboración y comercialización de vinos. Posteriormente, la evolución en botella no supuso un aumento de la acidez volátil en ninguno de los vinos estudiados, lo que indicaría que dichos vinos se podrían almacenar hasta su consumo sin riesgos importantes de ataques bacterianos.

Variedad	Mosto de uva fresca	Sin contacto con virutas		Tras contacto con virutas	
		Inicio	Final	Inicio	Final
Merlot	0.074±0.001	0.392±0.008	0.407±0.008	0.402±0.017	0.392±0.017
Syrah	0.147±0.051	0.137±0.008	0.152±0.008	0.157±0.008	0.152±0.008
Tempranillo	0.064±0.008	0.196±0.008	0.195±0.011	0.250±0.015	0.202±0.009

Tabla 5.5. Valores de acidez volátil (g ácido acético/L) en el mosto de uva fresca y en los vinos de las cuatro variedades, sin y tras el contacto con virutas de roble, al inicio y al final de la evolución en botella.

En relación a la evolución del color de los vinos durante su almacenamiento en botella, la figura 5.14 muestra los valores de las absorbancias a 420, 520 y 620 nm durante los 12 meses de estudio, donde puede verse que en todos los casos se produjo un aumento en la absorbancia a 420 nm, quedando los vinos de la variedad Tempranillo con los valores más altos (4.48 u.a. y 4.20 u.a. para los vinos sin y con contacto con virutas, respectivamente). Asimismo, se observó un descenso en la absorbancia a 520 nm en la mayoría de los vinos, especialmente importantes para los correspondientes a las variedades Syrah y Tempranillo.

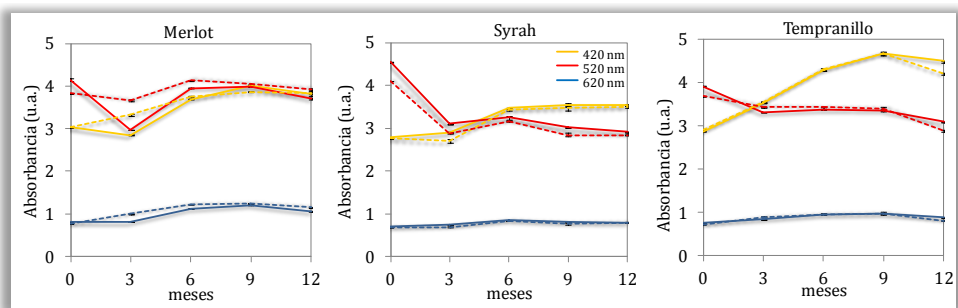
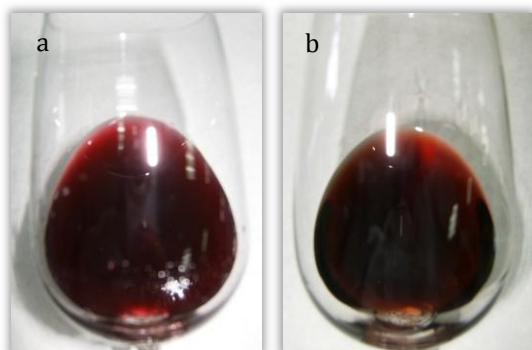


Figura 5.14. Evolución de las absorbancias a 420, 520 y 620 nm durante el proceso de evolución en botella de los vinos tintos dulces de las tres variedades estudiadas. Las líneas rayadas corresponden a los vinos que habían estado previamente en contacto con virutas de roble.

Al final del periodo estudiado, la absorbancia a 420 nm fue superior a la correspondiente a 520 nm en todas las variedades, excepto en el vino Merlot que había estado en contacto con virutas, en el cual se registraron valores muy próximos, lo que indicaría que este almacenamiento ha sido negativo para la conservación del color rojo, que predominaba sobre el color pardo en los vinos iniciales. Esto provoca un cambio en el color de los vinos hacia tonalidades teja, lo cual puede observarse en esta imagen en la que se muestran un vino antes (a) y otro tras el proceso de almacenamiento estudiado (b). A pesar de la degradación de color experimentada, los vinos finales seguían mostrando tonalidades rojas importantes, a diferencia de los vinos tintos dulces comerciales obtenidos por pasificación tradicional de la uva al sol.



Por último, en todos los vinos estudiados se ha observado un aumento de la absorbancia a 620 nm, aunque los valores fueron mucho más pequeños que para las absorbancias anteriores y, por ello, los cambios no fueron tan acusados.

Por último, en todos los vinos estudiados se ha observado un aumento de la absorbancia a 620 nm, aunque los valores fueron mucho más pequeños que para las absorbancias anteriores y, por ello, los cambios no fueron tan acusados.

A partir de los valores de absorbancia medidos a 420, 520 y 620 nm, se calcularon los porcentajes de color rojo, amarillo y azul en los vinos, resultados que se recogen en las tablas 5.6 y 5.7.

<i>Meses estabilización</i>		<i>0</i>	<i>3</i>	<i>6</i>	<i>9</i>	<i>12</i>
Merlot	% rojo	57.7	51.1	51.7	49.8	49.3
	% amarillo	42.3	48.9	48.3	50.2	50.7
	% azul	11.2	13.7	14.6	15.1	14.0
Syrah	% rojo	62.0	51.7	48.2	45.9	45.1
	% amarillo	42.3	48.9	48.3	50.2	50.7
	% azul	9.60	12.4	12.8	12.4	12.4
Tempranillo	% rojo	57.7	48.4	44.1	41.9	40.8
	% amarillo	42.3	51.6	55.9	58.1	59.2
	% azul	11.1	12.3	12.3	12.0	11.5

Tabla 5.6. Porcentajes de colores rojo, amarillo y azul durante el proceso de evolución en botella de los vinos tintos dulces estudiados.

<i>Meses estabilización</i>		<i>0</i>	<i>3</i>	<i>6</i>	<i>9</i>	<i>12</i>
Merlot	% rojo	55.8	52.4	52.4	51.0	50.5
	% amarillo	44.2	47.6	47.6	49.0	49.5
	% azul	11.2	14.3	15.4	15.7	14.8
Syrah	% rojo	59.8	51.7	48.1	45.1	44.8
	% amarillo	40.2	48.3	51.9	54.9	55.2
	% azul	9.90	12.5	12.5	12.2	12.4
Tempranillo	% rojo	55.8	49.2	44.3	42.1	40.6
	% amarillo	44.2	50.8	55.7	57.9	59.4
	% azul	11.0	12.9	12.5	12.2	11.4

Tabla 5.7. Porcentajes de colores rojo, amarillo y azul durante el proceso de evolución en botella de los vinos tintos dulces estudiados que habían estado previamente en contacto con virutas de roble.

La figura 5.15 muestra los valores de tonalidad ( $A_{420}/A_{520}$ ) correspondientes a los diferentes vinos a lo largo del proceso de almacenamiento en botella, registrándose un aumento de este parámetro a lo largo del estudio y alcanzando valores superiores a la unidad en la mayoría de los casos.

Los vinos de la variedad Tempranillo, junto con los de la variedad Syrah, aumentaron mucho su tonalidad durante la evolución en botella, presentando la primera los valores superiores tras 12 meses (1.45 y 1.46, sin y tras contacto previo con virutas, respectivamente). Consecuentemente, los cambios en el color de los vinos Tempranillo y Syrah debieron ser más importantes que para la variedad Merlot, y de acuerdo con lo ya comentado, la mayor participación de tonalidades pardas frente a las rojas daría lugar a un color menos deseable.

El aumento de tonalidad durante el envejecimiento de los vinos es un efecto que se ha observado desde hace mucho tiempo por numerosos autores (Ribéreau-Gayon, 1982; Bakker *et al.*, 1986; Somers and Vérette, 1988), debido a la formación de pigmentos específicos a expensas de antocianos monómeros libres (Brouillard and Dangles, 1994). Según Ribéreau-Gayon *et al.* (1998), los valores normales de tonalidad para vinos tintos jóvenes, estarían comprendidos entre 0.5 y 0.7 y aumentarían hasta valores superiores a 1.3 en el caso de vinos envejecidos.

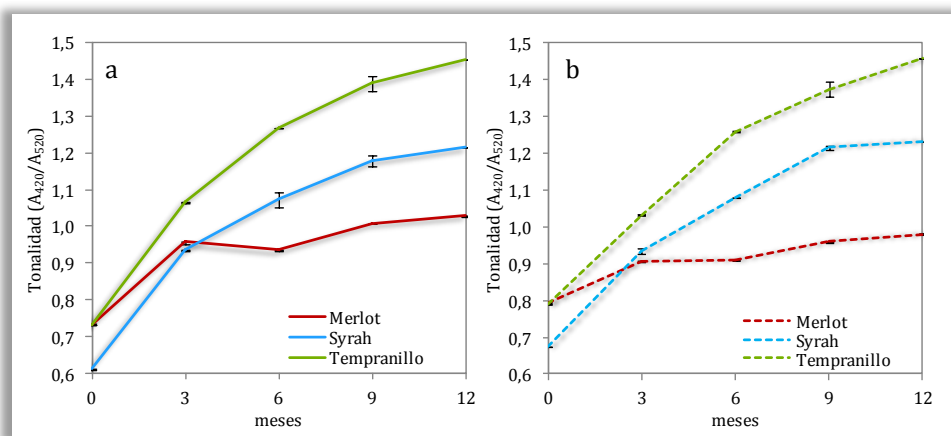


Figura 5.15. Evolución de la tonalidad durante el proceso de estabilización en botella de los vinos tintos dulces de las tres variedades estudiadas sin contacto previo con virutas de roble (a) y tras contacto con virutas de roble (b).

Los valores correspondientes a los parámetros CIELAB  $a^*$ ,  $b^*$  y  $L^*$  para los diferentes tiempos de estabilización en botella de los vinos tintos dulces estudiados se muestran en la figura 5.16. Puede observarse que durante el proceso de evolución en botella se midió un descenso de la coordenada polar  $C^*$  para todos los vinos estudiados, lo que indicaría que la viveza de su color disminuyó durante este tiempo. Sin embargo, la evolución de la coordenada  $h^*$  con el tiempo dependió de la variedad estudiada, disminuyendo a lo largo del estudio para Merlot, mientras aumentaba para los vinos Tempranillo y Syrah.

Los valores de claridad ( $L^*$ ) descendieron como consecuencia de la estabilización que sufre el vino durante su almacenamiento en botella, siendo los vinos más oscuros los correspondientes a los 6 meses para la variedad Syrah y 9 meses para Merlot y Tempranillo. A pesar de estas diferencias, los valores de la claridad no experimentaron cambios importantes durante todo el proceso para Syrah y Tempranillo, midiéndose un descenso de varias unidades CIELAB para los vinos Merlot al inicio y tras 3 meses de estabilización.



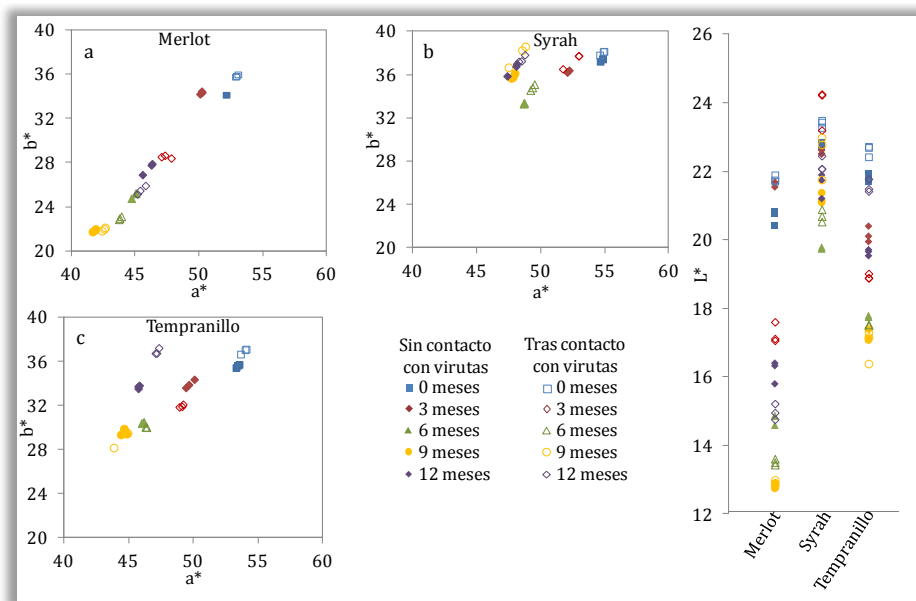


Figura 5.16. Parámetros a\*, b\* y L\* del espacio CIELAB durante el proceso de estabilización en botella de los vinos tintos dulces de las tres variedades estudiadas. Se representan como puntos rellenos los valores correspondientes a los vinos que no habían estado en contacto con virutas de roble y sin relleno los vinos que habían sido macerados con virutas.

Los valores de distancia euclidiana ( $\Delta E^*$ ) se han calculado, en primer lugar, para los vinos de las tres variedades estudiadas, sin y con envejecimiento acelerado previo con virutas de roble, a fin de comparar las diferencias cromáticas que presentaban los vinos durante el periodo de almacenamiento estudiado (tabla 5.8). Puede observarse, que en la mayoría de las etapas estudiadas se podrían diferenciar los vinos visualmente por los cambios experimentados en su color. En concreto, para las variedades Merlot y Tempranillo, los vinos serían distinguibles prácticamente en cada momento del estudio y para los vinos Syrah en las etapas intermedias de estabilización (desde el tercer hasta el noveno mes).

Variedad	Virutas	Meses estabilización			
		0-3	3-6	6-9	9-12
Merlot	No	2.19	12.7	4.88	10.8
	Si	10.3	7.53	1.73	6.61
Syrah	No	2.87	5.32	3.03	0.794
	Si	2.42	5.16	3.67	0.563
Tempranillo	No	4.38	5.58	1.80	4.93
	Si	7.86	3.63	2.15	9.43

Tabla 5.8. Valores de distancia euclidiana para los vinos estudiados a lo largo del proceso de evolución en botella.

En segundo lugar, se han calculado las distancias euclidianas a fin de comparar los vinos de las diferentes variedades durante el proceso de evolución en

botella (tabla 5.9), encontrándose que, de acuerdo a los valores mostrados, en la mayoría de las etapas estudiadas los vinos fueron distinguibles por el ojo humano. Los vinos iniciales fueron los más parecidos entre ellos y consecuentemente los valores de  $\Delta E^*$  medidos en este momento fueron pequeños, pero a partir del tercer mes de estabilización en botella, los valores de distancia euclidiana registrados aumentaron, destacando las diferencias encontradas entre los vinos de las variedades Merlot y Syrah.

Variedad	Escamas	Meses estabilización				
		0	3	6	9	12
Merlot - Syrah	No	4.63	2.86	10.3	17.3	10.6
	Si	3.23	12.1	14.9	19.4	14.2
Merlot - Tempranillo	No	2.21	1.61	6.22	9.25	7.03
	Si	1.62	4.12	8.45	8.41	13.2
Syrah - Tempranillo	No	2.43	4.12	4.37	8.12	4.05
	Si	1.61	8.09	6.49	11.0	1.57

Tabla 5.9. Valores de distancia euclidiana, entre variedades, para los vinos estudiados a lo largo del proceso de evolución en botella.

La figura 5.17 muestra la evolución del color total de pigmentos (WCA) durante el almacenamiento en botella de los vinos. Parece interesante destacar el gran descenso medido en todas las muestras como consecuencia de la evolución en botella, de manera especialmente notable durante los 3 ó 6 primeros meses de estudio, posiblemente como consecuencia de la degradación de los antocianos que ocurrió en los primeros meses de envejecimiento. Los dos vinos de la variedad Merlot quedaron al final del estudio con los mayores valores de este parámetro (3.97 u.a. para el vino que no había estado en contacto con virutas y 3.55 u.a. para el vino que había sido sometido al envejecimiento acelerado).

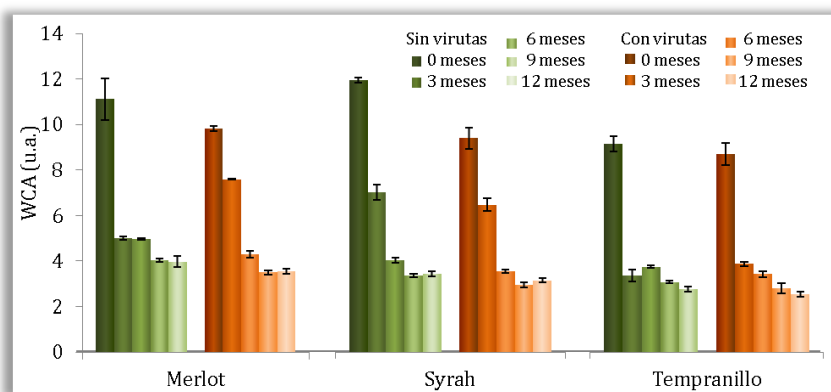


Figura 5.17. Evolución del color total de pigmentos durante la evolución en botella de los vinos tintos dulces de las tres variedades estudiadas.

La figura 5.18 muestra la evolución del color de pigmentos poliméricos durante el almacenamiento en botella de los vinos, en la cual puede observarse que los polímeros coloreados aumentaron durante el proceso en todos los vinos estudiados.

De acuerdo con lo comentado anteriormente, los cambios más importantes se encontraron en los primeros meses de estudio, por lo que parece razonable pensar entre los cambios químicos que ocurrieron en esta primera etapa, fundamentalmente debieron de producirse reacciones de polimerización de compuestos fenólicos, provocando un incremento de PPC. Al final del estudio, los vinos de la variedad Merlot fueron los que presentaron valores superiores de PPC, y los de la variedad Syrah los valores más pequeños.

Comparando los vinos que habían sido previamente envejecidos con escamas de roble y los que no estuvieron sometidos a esa etapa, puede observarse que este tratamiento no influyó en el color de pigmentos poliméricos, y se muestra más dependiente de la variedad de uva de la cual proceden los vinos. En el caso de la variedad Merlot, el vino que había estado en contacto con virutas presentó mayor valor de PPC (3.12 u.a.) que el que no había sido sometido a este envejecimiento acelerado (2.84 u.a.), contrariamente a los vinos Syrah (2.41 y 2.24 u.a. para los vinos sin y tras contacto con virutas, respectivamente), no encontrándose diferencias en Tempranillo (2.65 u.a.).

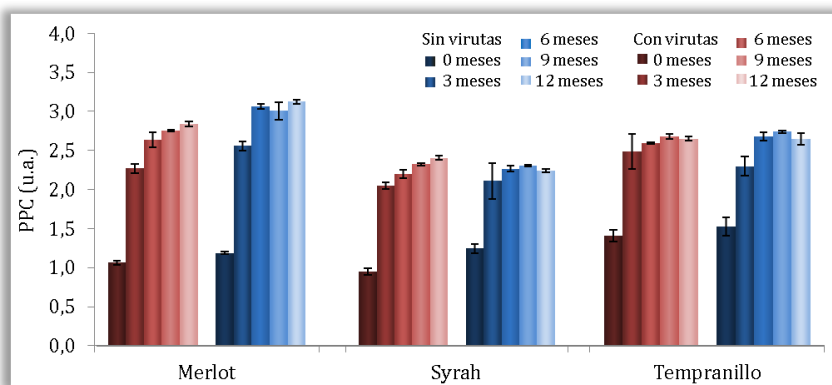


Figura 5.18. Evolución del color de pigmentos poliméricos durante la evolución en botella de los vinos tintos dulces de las tres variedades estudiadas.

Con todos los parámetros de color analizados se ha realizado un análisis multivariante de componentes principales para los vinos al inicio y tras un año de almacenamiento en botella, de las tres variedades estudiadas (figura 5.19).

Las dos primeras componentes representaron conjuntamente un 96.8% de la varianza total del proceso, correspondiendo un 72.0% a la primera, sobre la que influyeron principalmente el parámetro CIELAB  $a^*$  (-0.409), PPC (0.405) y la absorbancia a 420 nm (0.371). Esta primera componente permitió diferenciar los vinos iniciales de los vinos finales, pudiéndose comprobar que al inicio de la evolución en botella, los vinos eran muy parecidos entre ellos y, sin embargo, tras el proceso de estabilización, los vinos de cada variedad eran muy diferentes, con valores superiores de los parámetros  $A_{420}$  y PPC que los correspondientes vinos iniciales. Estos resultados corroborarían que el proceso de estabilización en botella conllevó un aumento de los tonos pardos de los vinos, así como un aumento del color debido a pigmentos poliméricos.

La segunda componente representó un 24.0% de la varianza total y permitió diferenciar, para cada variedad de uva, los vinos que no habían estado en contacto con virutas y los que sí fueron sometidos a esta etapa, presentando los primeros siempre puntuaciones superiores de esta componente. Los principales factores que influyeron sobre la componente 2 fueron la absorbancia a 520 nm (0.582) y las coordenadas CIELAB  $b^*$  (-0.475) y  $L^*$  (0.401).

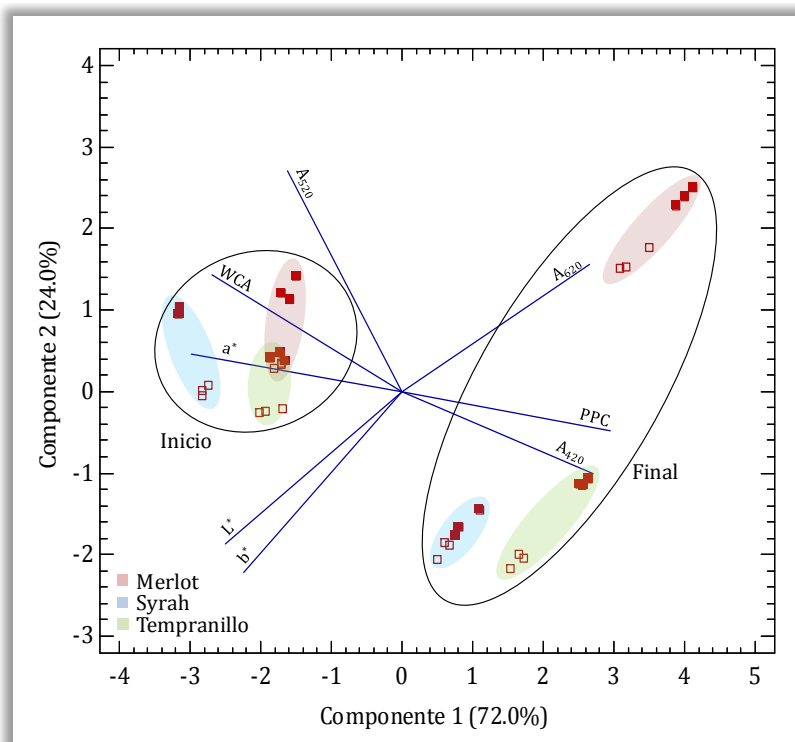


Figura 5.19. Análisis multivariante de componentes principales de los vinos de las tres variedades, en relación a los parámetros del color, al inicio y al final de la evolución en botella. Los puntos rellenos corresponden a los vinos que no habían estado en contacto con virutas y los puntos huecos representan los vinos que habían estado en contacto con virutas.

Tras el análisis de la evolución los parámetros de color a lo largo de un año de almacenamiento en botella de vinos tintos dulces, podría concluirse que durante esta etapa ocurrieron cambios importantes en el color de los mismos, fundamentalmente una degradación de los compuestos responsables del color rojo, con el consiguiente descenso de las medidas de absorbancia a 520 nm, paralelamente a un aumento en los tonos pardos y los compuestos poliméricos de los vinos. Por todo ello, la coloración de los vinos fue cambiando desde los tonos rojos típicos de vinos jóvenes hacia colores más teja, que por otra parte es una señal evidente de envejecimiento en los vinos tintos.

Se ha estudiado la evolución de las diferentes familias de compuestos fenólicos durante la estabilización en botella de los vinos de las tres variedades estudiadas, con y sin contacto previo con escamas de roble.

En primer lugar, se estudió la composición antociánica de los distintos vinos, observándose una tendencia general a la disminución de concentración de los antocianos monómeros, según puede apreciarse en los cromatogramas de la figura 5.20, durante el proceso de evolución en botella.

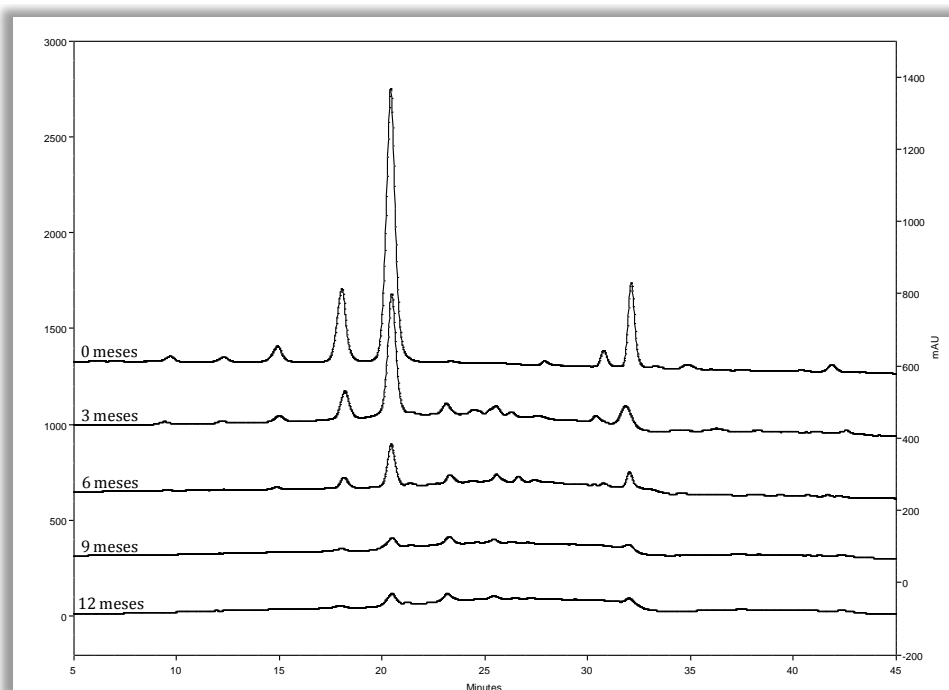


Figura 5.20. Cromatogramas correspondientes a la fracción antociánica de los vinos tintos dulces cada 3 meses durante el proceso de evolución en botella.

La figura 5.21 muestra la evolución de antocianos glucosilados, pudiéndose observar una disminución de los mismos durante el tiempo de estabilización para todos los vinos estudiados. Los derivados de la delphinidina, cianidina y petunidina desaparecieron totalmente de los vinos entre los 3 y los 9 meses en todos los casos, encontrándose sólo el malvidín-3-*O*-glucósido y el peonidín-3-*O*-glucósido en los vinos tras un año, para las variedades Merlot y Syrah. La evolución de estos antocianos en los vinos de cada variedad que habían estado en contacto con las virutas de roble y los que no, fue bastante parecida, no encontrándose diferencias debido a esta etapa anterior de la vinificación.

La disminución en las concentraciones de antocianos monómeros durante la estabilización en botella de los mismos ha sido ya estudiada por numerosos autores (Pérez-Magariño and González San-José, 2004; Del Álamo Sanza and Nevares Domínguez, 2006; Alen-Ruiz *et al.*, 2009), comprobándose que el descenso en la

concentración de estos compuestos ocurre porque se transforman progresivamente en oligómeros o polímeros más estables (Monagas *et al.*, 2006), llegándose a medir disminuciones del 72 y 85% en vinos Mencía y Brancellao, respectivamente, tras 12 meses de estabilización en botella (García-Falcón *et al.*, 2007).

En cuanto a los derivados acetilglucosilados (figura 5.22), cumaril y cafeoilglucosilados (figura 5.23), la evolución fue similar a la ya comentada para los monómeros anteriores, con un descenso de sus concentraciones durante el tiempo de estudio. Los derivados de la delphinidina y cianidina, así como los derivados de la petunidina y peonidina en algunas de las variedades estudiadas, además del compuesto malvidín-3-*O*-cafeoilglucósido, sólo se identificaron en los vinos iniciales. El resto de antocianos estudiados fueron desapareciendo en los meses intermedios del estudio, encontrándose en los vinos finales sólo los antocianos malvidín-3-*O*-acetilglucósido y malvidín-3-*O*-cumarilglucósido, debido a que inicialmente presentaban las concentraciones superiores. Aún así, las concentraciones a las que aparecían dichos compuestos en los diferentes vinos estudiados fueron muy pequeñas, encontrándose valores de 2.23 y 2.66 mg/L para el malvidín-3-*O*-acetilglucósido en las variedades Merlot y Syrah sin contacto previo con escamas, respectivamente, y 3.46 y 2.53 mg/L para las mismas variedades sometidas anteriormente a contacto con virutas de roble. Asimismo, las concentraciones finales para el antocianos cumarilado derivado de la malvidina fue inferior a 1.6 mg/L para los vinos de las cuatro variedades.

La disminución de todos estos compuestos sería debida a su implicación en reacciones de polimerización, debiendo ocurrir dichas reacciones a velocidades muy parecidas para los antocianos acetilados y cumarilados ya que la desaparición de los mismos fue similar. Este resultado no estaría de acuerdo con lo encontrado por Del Álamo-Sanza and Nevares-Domínguez (2006), quienes estudiando la estabilización en botella de vinos de la variedad Tempranillo sometidos a diferentes envejecimientos previos (virutas, staves o barrica de distintos orígenes), encontraron que los antocianos acetilados disminuían más lentamente que los no acetilados, debido por un lado, a que las combinaciones con taninos son más rápidas para los primeros, y por otro lado, a causa de los posibles procesos de hidrólisis, que dan lugar a antocianos no acetilados (Dallas *et al.*, 1995).

Por otro lado, es conocido que la temperatura influye de manera importante en las reacciones de los antocianos durante el envejecimiento del vino y que a medida que la temperatura aumenta, los complejos de copigmentación que se forman durante esta etapa se vuelven menos estables (Brouillard and Dangles, 1994). A este respecto, y como se ha comprobado que las disminuciones en las concentraciones de antocianos ocurren durante los primeros meses tras el embotellado, la pérdida o degradación del color rojo de los vinos también tendría lugar en este primer periodo, por lo que se podrían ensayar otras temperaturas de almacenamiento para intentar alargar el tiempo en el cual ocurre la degradación de los antocianos.

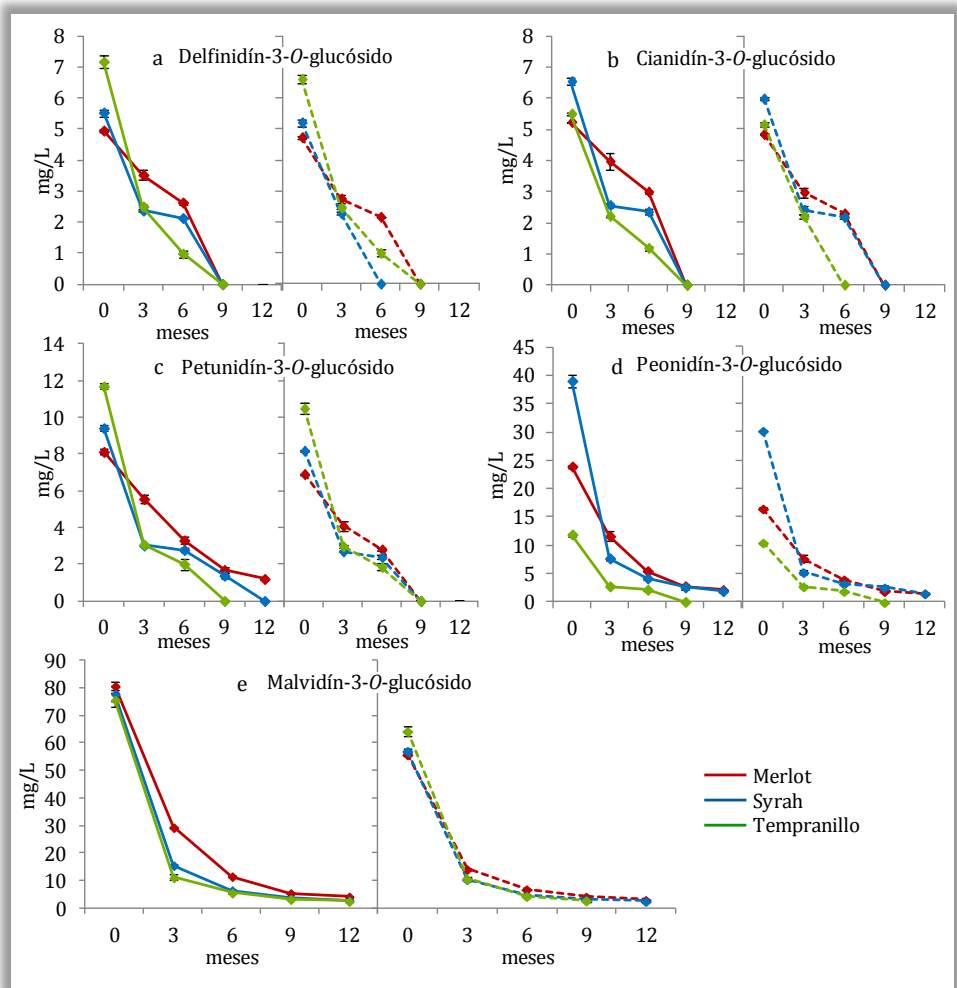


Figura 5.21. Evolución de antocianos glucosilados (mg/L) durante el proceso de evolución en botella de los vinos tintos dulces de las tres variedades estudiadas. Las líneas continuas corresponden a los vinos sin contacto con virutas y las líneas rayadas a los vinos tras contacto con virutas de roble.

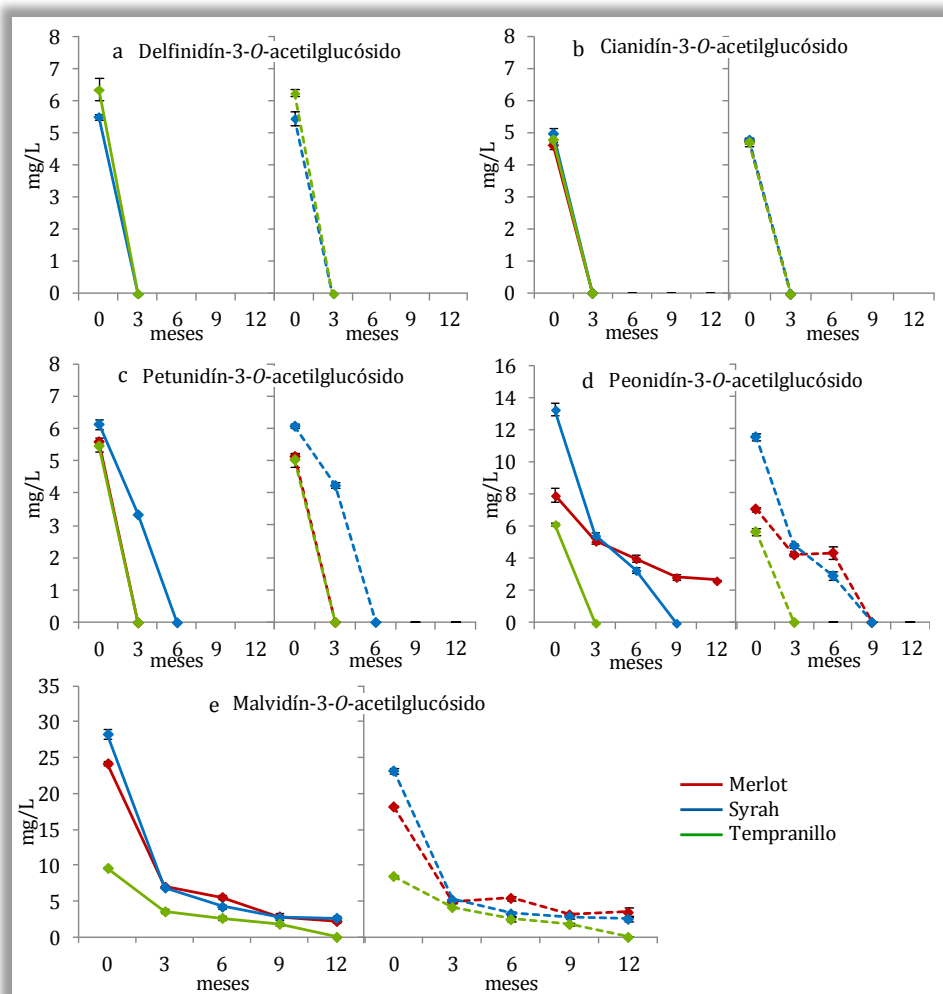


Figura 5.22. Evolución de antocianos acetilglucosilados (mg/L) durante el proceso de evolución en botella de los vinos tintos dulces de las tres variedades estudiadas. Las líneas continuas corresponden a los vinos sin contacto con virutas y las líneas rayadas a los vinos tras contacto con virutas de roble.



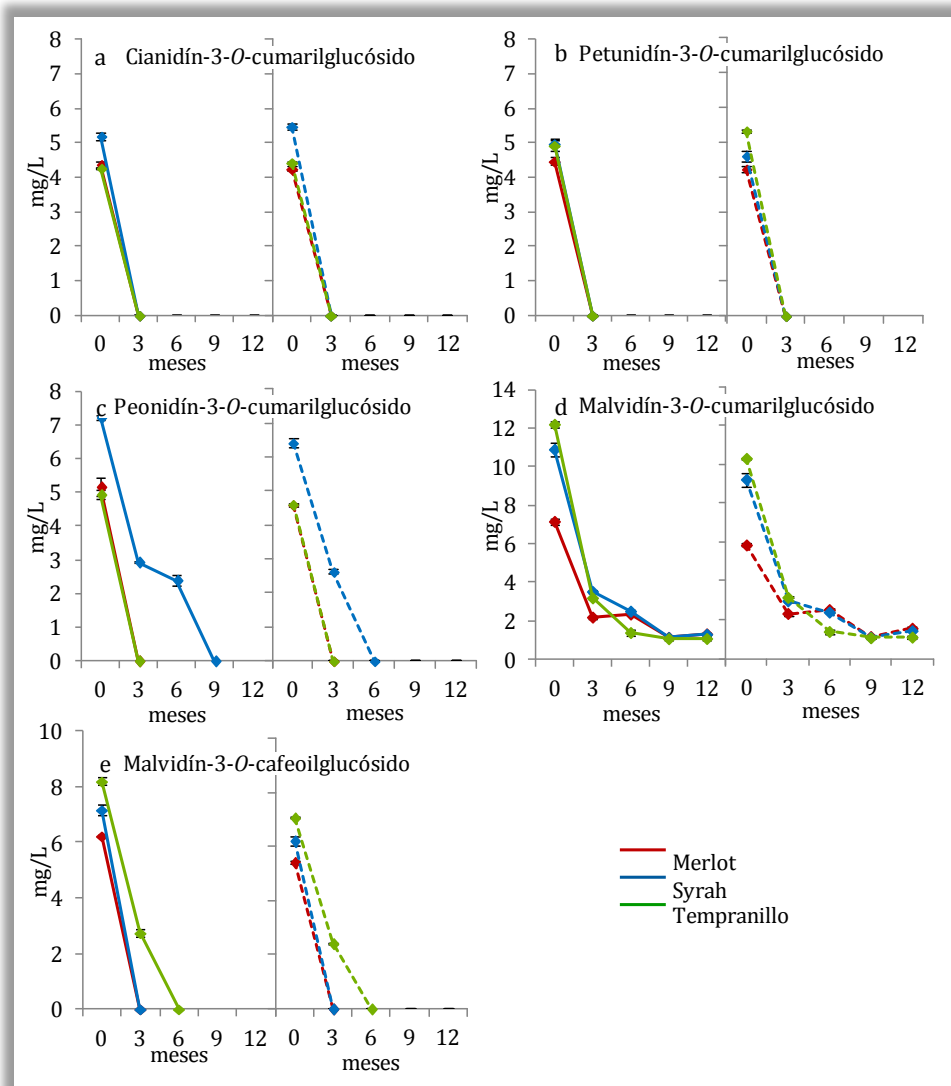


Figura 5.23. Evolución de antocianos cumaril y cafeoilglucosilados (mg/L) durante el proceso de evolución en botella de los vinos tintos dulces de las tres variedades estudiadas. Las líneas continuas corresponden a los vinos sin contacto con virutas y las líneas rayadas a los vinos tras contacto con virutas de roble.

Además de los antocianos monómeros anteriores, durante la evolución en botella de los vinos se estudiaron derivados tipo vitisina (figura 5.24) y compuestos de fórmula antociano-metilmetileno-flavanol (figura 5.25). En relación a los piranoantocianos, o compuestos tipo vitisina, se identificaron los tres compuestos que ya se habían podido cuantificar durante la pasificación de las uvas en la cámara y durante el proceso de maceración posterior (figura 5.24a, 5.24c y 5.24e), pero además se sintetizaron durante la etapa de estabilización una vitisina tipo A derivada del peonidín-3-*O*-acetilglucósido y una vitisina tipo B derivada del peonidín-3-*O*-glucósido, ésta última sólo en los vinos de las variedades Merlot y Syrah. Para todos los compuestos representados y en todos los vinos, las concentraciones a las que se cuantificaron los piranoantocianos fueron muy pequeñas, si bien durante el año de estudio ocurrió, en general, un aumento en sus concentraciones y con tendencias parecidas para los vinos que habían y no habían estado en contacto con virutas de roble.

De acuerdo a algunos autores, la síntesis de vitisinas tipo A puede ocurrir siempre que haya ácido pirúvico libre (Asenstorfer *et al.*, 2003; Fulcrand *et al.*, 2006; González-Neves *et al.*, 2010b), consecuencia por la que los piranoantocianos de este tipo debieron aumentar durante la estabilización en botella y, asimismo, la presencia de acetaldehído en el medio conllevaría de la misma forma la síntesis de vitisinas tipo B durante el presente estudio.

En relación a los derivados de fórmula antociano-metilmetileno-flavanol (figura 5.25), durante la evolución en botella de los vinos tintos dulces estudiados se identificaron los tres compuestos de fórmula malvidín-3-*O*-glucósido-metilmetileno-(epi)catequina, cuantificados ya en las etapas de vinificación estudiadas en los capítulos anteriores, pero aparecieron igualmente dos derivados de fórmula peonidín-3-*O*-glucósido-metilmetileno-(epi)catequina y dos de fórmula malvidín-3-*O*-acetilglucósido-metilmetileno-(epi)catequina. Puede observarse, que la evolución de las concentraciones fue bastante similar para todos los vinos y los distintos compuestos, con un aumento de concentración durante los primeros meses de estabilización tras el embotellado, llegando a un máximo y disminuyendo a continuación, si bien las concentraciones finales fueron en la mayoría de los casos superiores a las iniciales.

Los compuestos derivados del antociano malvidín-3-*O*-glucósido fueron los que se encontraron en concentraciones superiores y en todos los vinos estudiados, debido a que las concentraciones del antociano de partida fueron superiores a las correspondientes a los dos antocianos restantes durante el estudio. Posiblemente por este mismo motivo, los compuestos derivados de peonidín-3-*O*-glucósido y malvidín-3-*O*-acetilglucósido sólo se pudieron identificar en los vinos de las variedades Merlot y Syrah, no estando ninguno presente en Tempranillo. La síntesis de estos compuestos y el aumento de su concentración ocurrió durante la estabilización en botella de los vinos, de acuerdo a lo propuesto Wang *et al.* (2003a), que indicaron que durante el envejecimiento de vinos tintos de la variedad Cabernet Sauvignon, ocurría una transformación progresiva de antocianos en sus derivados, dentro de los cuales se encontraban los aductos de antocianos y flavanoles mediados por acetaldehído.

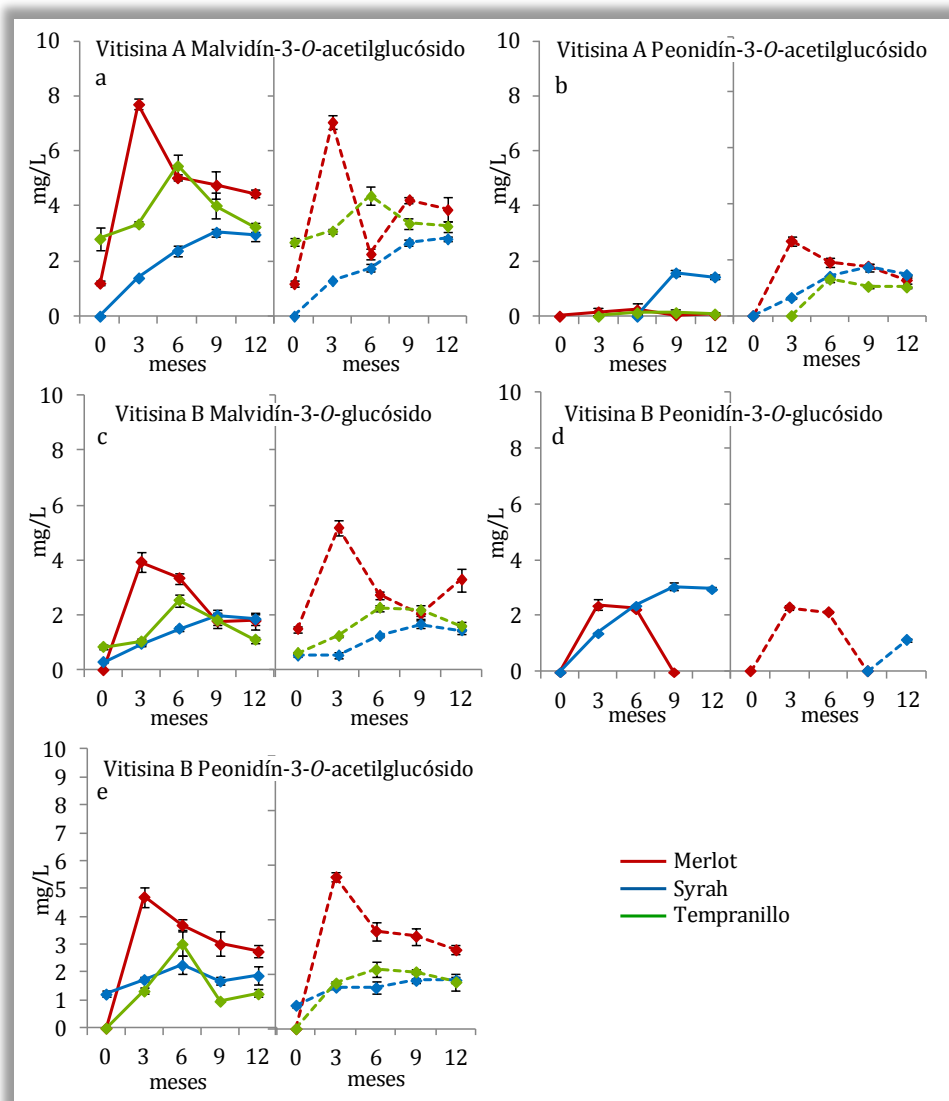


Figura 5.24. Evolución de derivados antociánicos tipo vitisina (mg/L) durante el proceso de evolución en botella de los vinos tintos dulces de las tres variedades estudiadas. Las líneas continuas corresponden a los vinos sin contacto con virutas y las líneas rayadas a los vinos tras contacto con virutas de roble.

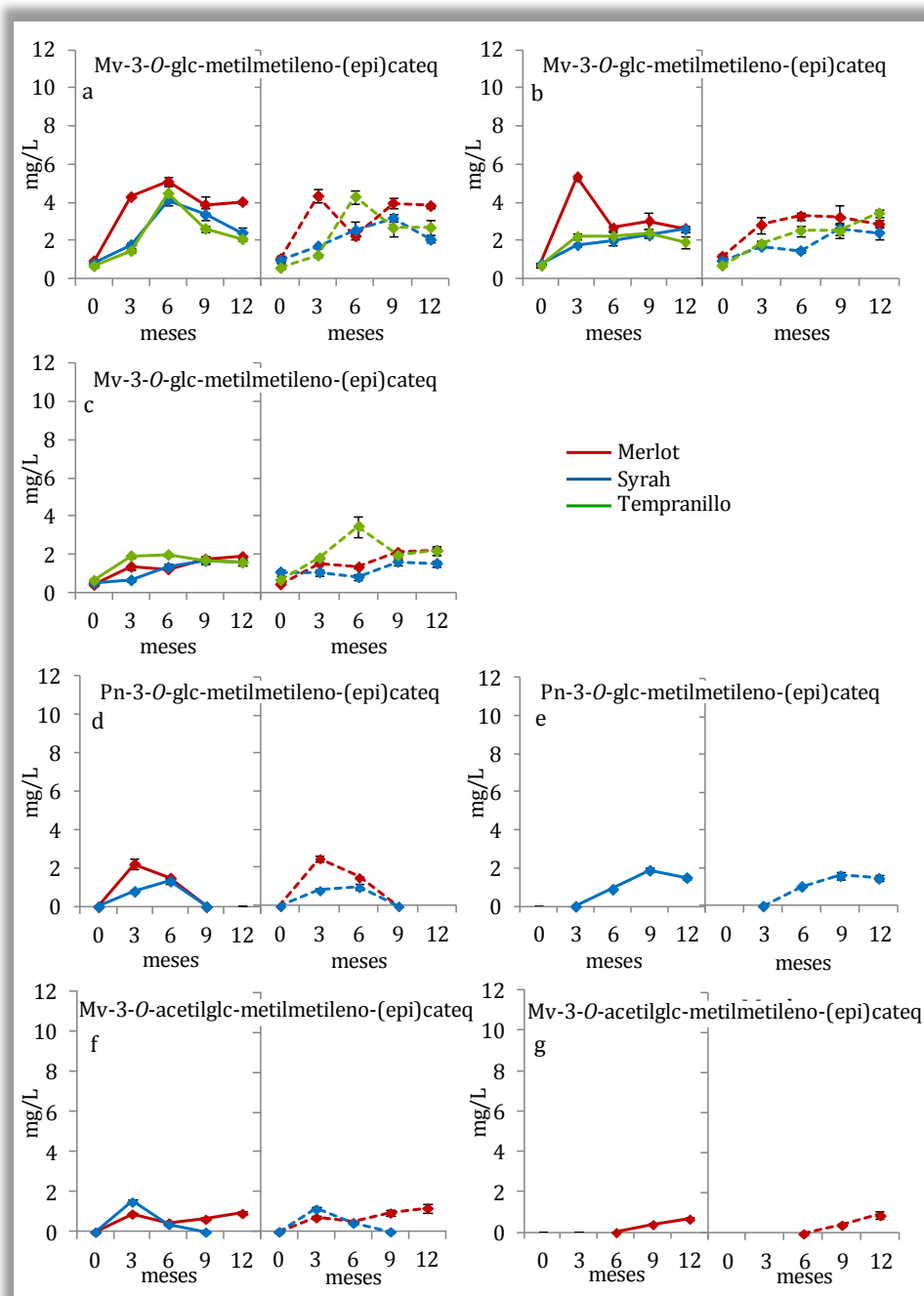


Figura 5.25. Evolución de derivados antocínicos de fórmula antociano-metilmetileno-flavanol (mg/L) durante el proceso de evolución en botella de los vinos tintos dulces de las tres variedades estudiadas. Las líneas continuas corresponden a los vinos sin contacto con virutas y las líneas rayadas a los vinos tras contacto con virutas de roble.

En relación a los ácidos hidroxibenzoicos, la figura 5.26 muestra la evolución de los ácidos gálico, vanílico y siríngico durante la estabilización en botella de los vinos estudiados, pudiéndose ver que el ácido gálico aumentó su concentración durante el periodo estudiado para las tres variedades, llegando a los valores superiores para los vinos Tempranillo. El aumento de la concentración de ácido gálico durante la estabilización en botella de vinos tintos había sido anteriormente encontrado por Monagas *et al.* (2005a) en las variedades Graciano y Cabernet Sauvignon, si bien las concentraciones cuantificadas por estos autores eran inferiores a las medidas en el presente estudio. Alén-Ruiz *et al.* (2009) encontraron que en vinos Mencía, el ácido gálico disminuía durante una estabilización en botella de 12 meses, mientras aumentaba en vinos de la variedad Brancellao sometidos a las mismas condiciones. Este aumento de ácido gálico fue justificado como consecuencia de su formación a partir de los flavonoles (+)-galocatequina y (-)-epigalocatequina, por acción de enzimas tanasas o tanino acilhidrolasas (Flanzy, 2000).

En relación a los ácidos vanílico y siríngico, sus concentraciones no variaron demasiado durante la evolución de los vinos en botella, encontrándose valores finales del mismo orden que los iniciales para todos los vinos estudiados.

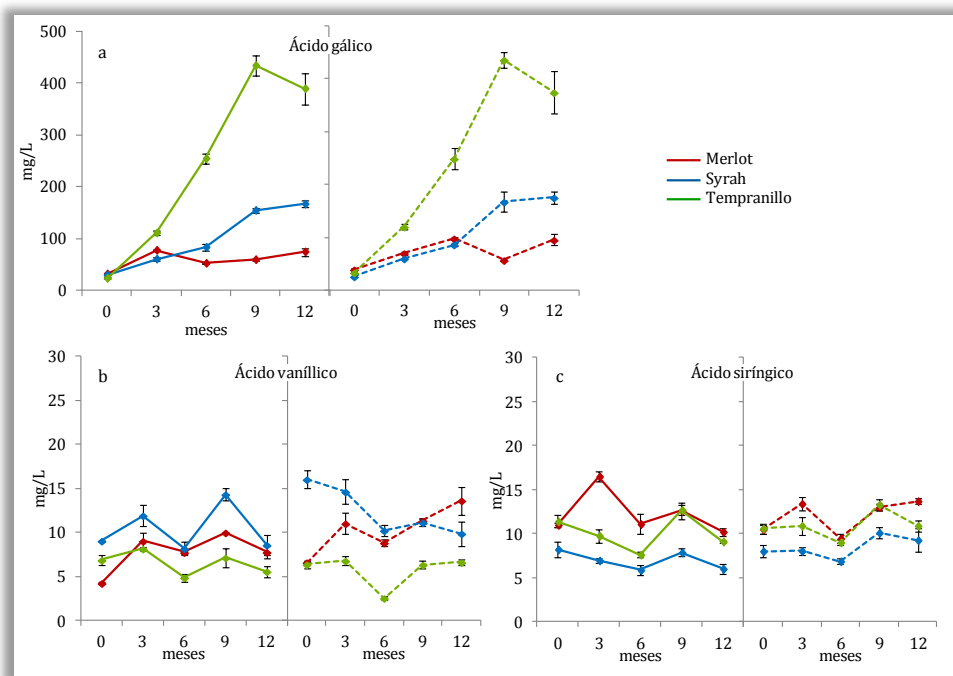


Figura 5.26. Evolución de ácidos hidroxibenzoicos (mg/L) durante el proceso de evolución en botella de los vinos tintos dulces de las tres variedades estudiadas. Las líneas continuas corresponden a los vinos sin contacto con virutas y las líneas rayadas a los vinos tras contacto con virutas de roble.

Las concentraciones de los diferentes ésteres de los ácidos hidroxicinámicos durante la evolución en botella de los vinos se muestra en la figura 5.27, observándose que los derivados del ácido cafeico fueron los que se encontraron en concentraciones superiores durante todo el estudio, seguidos por los ésteres cumáricos, y encontrándose en concentraciones inferiores los ésteres tartáricos del ácido ferúlico.

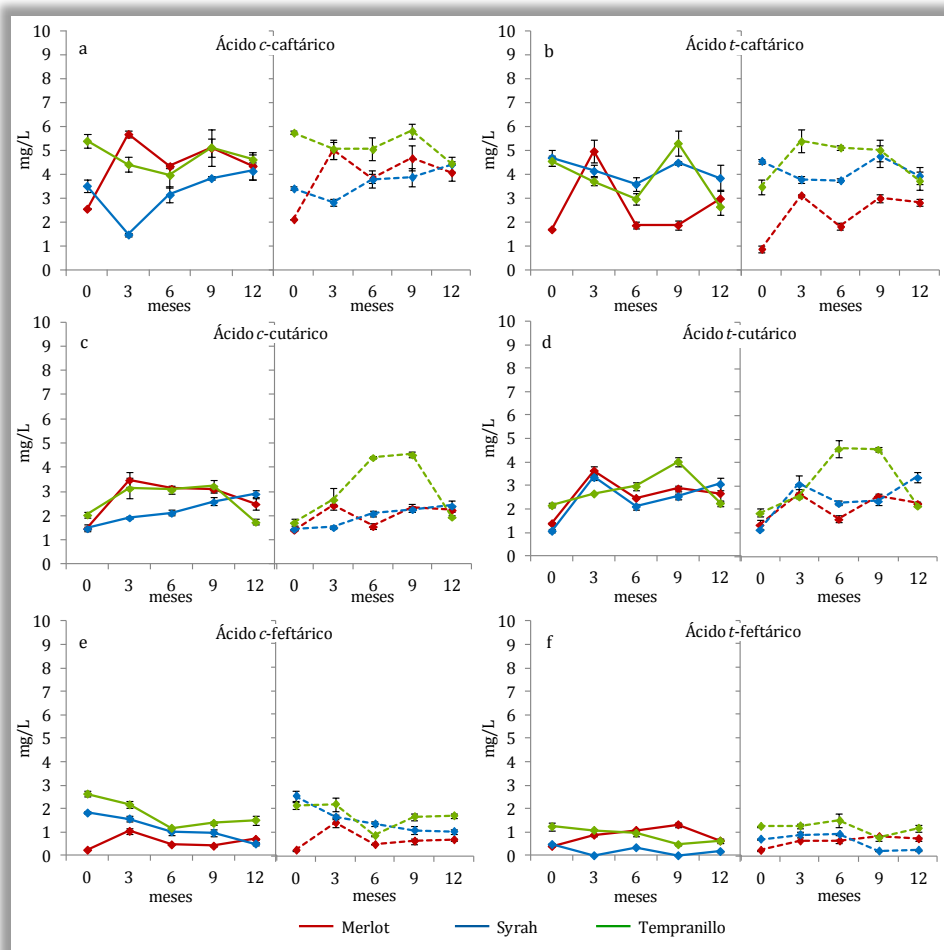


Figura 5.27. Evolución de ésteres tartáricos de los ácidos hidroxicinámicos (mg/L) durante el proceso de evolución en botella de los vinos tintos dulces de las tres variedades estudiadas. Las líneas continuas corresponden a los vinos sin contacto con virutas y las líneas rayadas a los vinos tras contacto con virutas de roble.

Si bien algunos autores habían medido un descenso en estos compuestos durante el envejecimiento en botella de los vinos, y un aumento paralelo en la forma libre de los ácidos (Monagas *et al.*, 2005a), el presente estudio no conllevó cambios muy importantes en los compuestos estudiados, encontrándose diferentes comportamientos dependiendo de la variedad de uva estudiada y el compuesto en cuestión. Asimismo, los vinos de las tres variedades estudiadas presentaron

concentraciones parecidas para estos compuestos, no encontrándose tampoco diferencias considerables en los vinos que habían estado en contacto previamente con virutas de roble. En el caso de los ácidos *c*- y *t*-cutárico, sus concentraciones parecieron aumentar ligeramente durante el tiempo de estabilización, lo cual podría haber sido resultado de la degradación de los antocianos cumarilados (Flanzy, 2000; Alen-Ruiz *et al.*, 2009), cuya concentración había disminuido apreciablemente en este periodo.

Con respecto a los derivados del flavan-3-ol, la figura 5.28 muestra las concentraciones de los monómeros (+)-catequina y (-)-epicatequina y de las procianidinas B1, B2, B3 y B4 durante la estabilización en botella de los vinos estudiados, observándose para los dos primeros compuestos un descenso general durante el periodo estudiado. Dicho descenso fue especialmente importante para la (-)-epicatequina, que no se identificó en los vinos finales de las variedades Syrah y Tempranillo, cuantificándose en concentraciones de 4.64 y 9.38 mg/L para los vinos Merlot sin y con contacto con virutas, respectivamente.

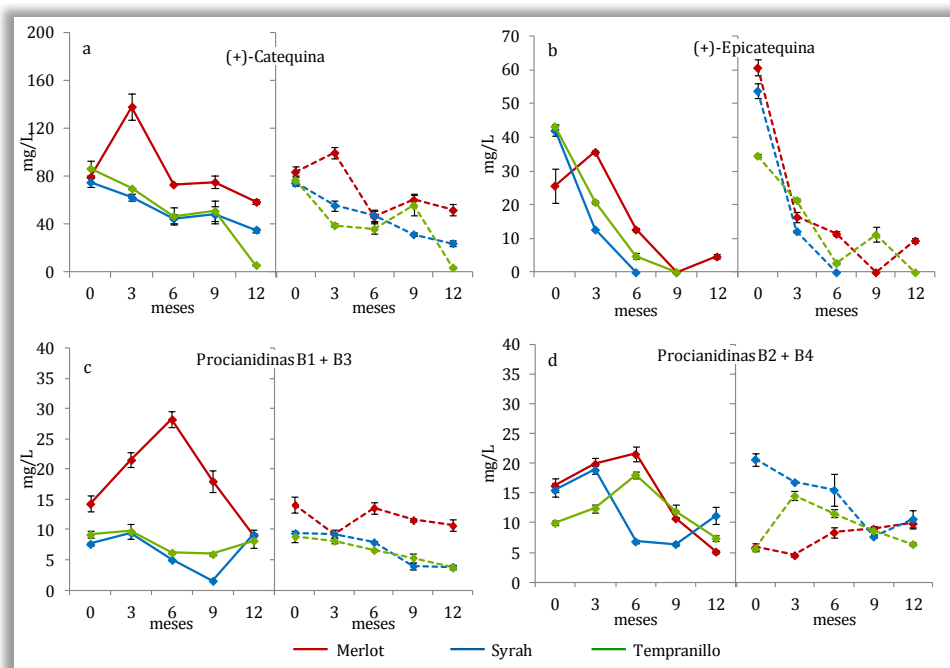


Figura 5.28. Evolución de (+)-catequina, (-)-epicatequina y procianidinas B1, B2, B3 y B4 (mg/L) durante el proceso de evolución en botella de los vinos tintos dulces de las tres variedades estudiadas. Las líneas continuas corresponden a los vinos sin contacto con virutas y las líneas rayadas a los vinos tras contacto con virutas de roble.

El compuesto (+)-catequina disminuyó también su concentración durante la evolución en botella de los vinos para las tres variedades. Aunque Alén-Ruiz *et al.* (2009) midieron un aumento en la concentración de (+)-catequina en vinos de las variedades Mencía y Brancellao tras 12 meses de estabilización en botella, la mayoría de los autores han encontrado un descenso para ambos monómeros derivados del

flavan-3-ol (Gómez-Plaza *et al.*, 2000; Revilla and González-San José, 2003), de acuerdo a lo encontrado en el presente estudio. La disminución de concentración de (+)-catequina y (-)-epicatequina debería ser consecuencia de la participación de estos monómeros en reacciones de polimerización hacia compuestos de mayor peso molecular, así como por su implicación en reacciones de formación de aductos antocianicos, como los encontrados en estos vinos con fórmula antociano-metilmetileno-(epi)catequina.

En el caso de las procianidinas B1, B2, B3 y B4, durante la estabilización en botella de los vinos se pudo medir una disminución de sus concentraciones para la mayoría de los vinos estudiados, si bien en algunos de ellos se registró un primer aumento y un descenso posterior, lo que podría explicarse como el posible resultado de procesos de polimerización y depolimerización paralelos, acompañados además por la combinación con antocianos para dar lugar a pigmentos más estables (Alén-Ruiz *et al.*, 2009).

En relación al resto de compuestos derivados del flavan-3-ol, la figura 5.29 muestra las concentraciones de los dímeros B2-3-*O*-galato, B2-3-*O'*-galato y B1-3-*O*-galato durante el estudio de estabilización de los vinos en botella. La evolución de los compuestos epicatequín galato y epigalocatequín galato no se representan en las gráficas, ya que sólo se identificaron en los vinos iniciales, no encontrándose en ninguno de los vinos posteriores. Asimismo, los trímeros y tetrámeros cuantificados durante los estudios previos, aparecieron en los vinos iniciales en concentraciones muy pequeñas (menos de 2 mg/L en todos los casos), no siendo posible estudiar su evolución durante el tiempo de envejecimiento en botella.

Con respecto a los dímeros cuantificados, el compuesto B2-3-*O*-galato fue el más importante y el que apareció en concentraciones superiores durante el estudio llevado a cabo (figura 5.29a), aumentando su concentración en todos los vinos, llegando a ser uno de los flavanoles más importantes en los vinos finales. En las tres variedades, las concentraciones finales de este compuesto se situaron entre 20.2 y 36.3 mg/L para los vinos sin envejecimiento acelerado de las variedades Syrah y Merlot, respectivamente y entre 18.4 y 34.5 mg/L para los vinos de las mismas variedades que habían estado previamente al embotellado en contacto con virutas de roble.

Los dos dímeros restantes aparecieron en concentraciones inferiores, no siendo posible su cuantificación en los vinos durante algunas etapas intermedias del estudio. La evolución del dímero B2-3-*O'*-galato dependió de la variedad de uva considerada, midiéndose sin embargo un aumento en la concentración del compuesto B1-3-*O*-galato para todos los vinos analizados.



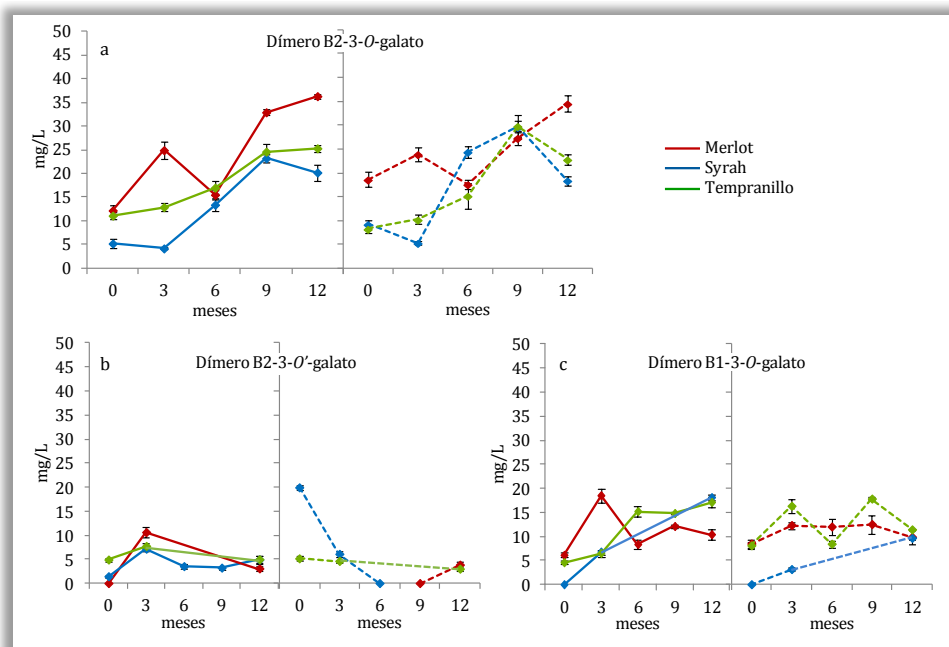


Figura 5.29. Evolución de los dímeros B2-3-O'-galato, B2-3-O-galato y B1-3-O-galato (mg/L) durante el proceso de evolución en botella de los vinos tintos dulces de las tres variedades estudiadas. Las líneas continuas corresponden a los vinos sin contacto con virutas y las líneas rayadas a los vinos tras contacto con virutas de roble.

La figura 5.30 muestra la evolución de los taninos totales durante la estabilización en botella de los tintos dulces de las tres variedades estudiadas, observándose que los vinos de Syrah presentaron las concentraciones superiores durante todo el estudio, midiéndose finalmente valores de 11.2 y 10.3 g/L para los vinos de dicha variedad sin y con contacto previo con virutas de roble. Los vinos de la variedad Merlot fueron los que presentaron las menores concentraciones de estos compuestos (8.70 g/L para el vino sin envejecimiento acelerado y 9.11 g/L para el vino que había estado en contacto con escamas).

En todos los casos, tuvo lugar un aumento de la concentración de taninos totales durante los 6 primeros meses de estudio y una disminución posterior, debida posiblemente a la precipitación de los taninos de mayor peso molecular que se estarían formando a partir de unidades más pequeñas durante el tiempo de estudio. Chira *et al.* (2012) encontraron igualmente una disminución de taninos totales durante el almacenamiento de vinos tintos de la variedad Cabernet Sauvignon, y sugirieron que dicha evolución a medida que aumentaba la edad del vino podría estar de acuerdo con la participación de estos compuestos, junto con los antocianos, en reacciones no oxidativas, catalizadas por ácidos (Somers, 1971; Mateus *et al.*, 2004).

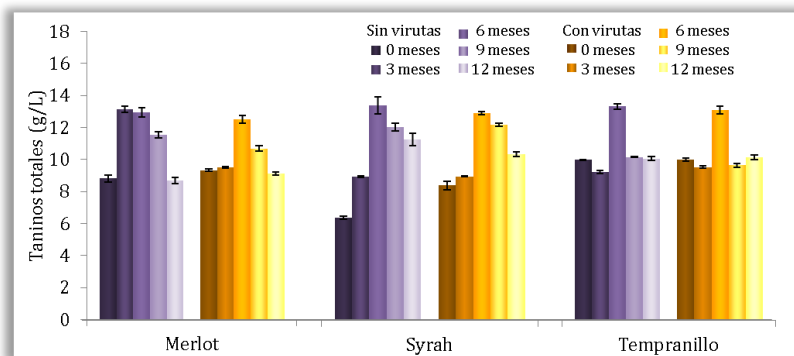


Figura 5.30. Evolución de taninos totales (g/L) durante el proceso de evolución en botella de los vinos tintos dulces de las tres variedades estudiadas.

En relación a la familia de flavonoles, la figura 5.31 muestra la evolución de las concentraciones de los compuestos glicosilados durante la estabilización en botella de los vinos tintos dulces, y en la figura 5.32 las correspondientes agliconas. Para los flavonoles glicosilados, se puede observar una tendencia general que conllevó un descenso en sus concentraciones, dando lugar a la desaparición de la mayoría de los compuestos durante el tiempo de evolución de los vinos en botella. Dependiendo de la variedad de uva y el compuesto considerado, la disminución en las concentraciones fue diferente, desapareciendo algunos compuestos tras 3 meses de estabilización en botella, como los derivados glucurónico y galactósido de la quercetina en los vinos Merlot, tras 6 meses de estudio, caso del compuesto kaempferol-3-O-glucósido en el vino Tempranillo sin contacto previo con virutas, o en los meses posteriores. Finalmente, tras 12 meses de estabilización sólo fue posible identificar los compuestos kaempferol-3-O-glucurónico e isorhamnetín-3-O-glucósido en el vino Syrah que no había sido envejecido previamente con virutas de roble, y los mismos compuestos, además del quercetín-3-O-glucurónico y quercetín-3-O-galactósido para el vino de la misma variedad con envejecimiento acelerado. La disminución de la concentración de los flavonoles glicosilados podría ser debida a reacciones de hidrólisis durante el tiempo que el vino permaneció en botella, algo que ha sido demostrado por numerosos autores (Zafrilla *et al.*, 2003; Monagas *et al.*, 2005a; Alén-Ruíz *et al.*, 2009), los cuales han propuesto la degradación de estos compuestos glicosilados liberando las agliconas correspondientes.

En el presente estudio, la figura 5.32 muestra que las agliconas aumentaron inicialmente, llegando a un máximo de concentración a partir del cual disminuyeron, si bien las concentraciones al final del estudio fueron en la mayor parte de los casos superiores a las iniciales. Las agliconas quercetina e isorhamnetina fueron las que presentaron los valores superiores durante el tiempo de almacenamiento en botella, como consecuencia de que los flavonoles glicosilados correspondientes a las mismas, que se estarían hidrolizando durante este periodo, estaban presentes en concentraciones superiores en los vinos iniciales. Asimismo, la aglicona siringetina, que no había sido identificada en los vinos tintos dulces en ninguna de las etapas previas de estabilización, se identificó 3 meses después del embotellado en los vinos de las variedades Merlot y Tempranillo con envejecimiento acelerado con virutas, identificándose y a partir de los 6 meses de estudio en Syrah.

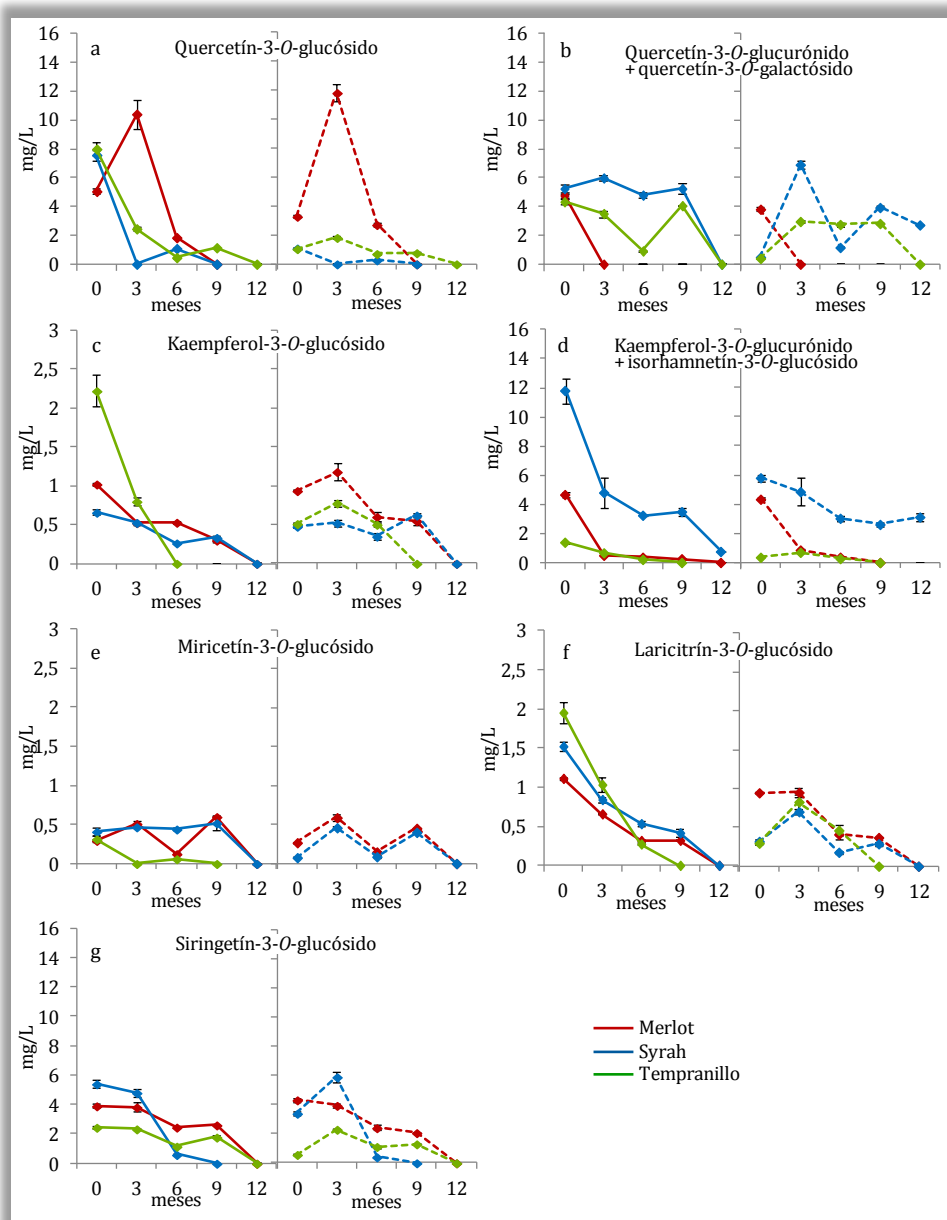


Figura 5.31. Evolución de flavonoles glicosilados (mg/L) durante el proceso de evolución en botella de los vinos tintos dulces de las tres variedades estudiadas. Las líneas continuas corresponden a los vinos sin contacto con virutas y las líneas rayadas a los vinos tras contacto con virutas de roble.

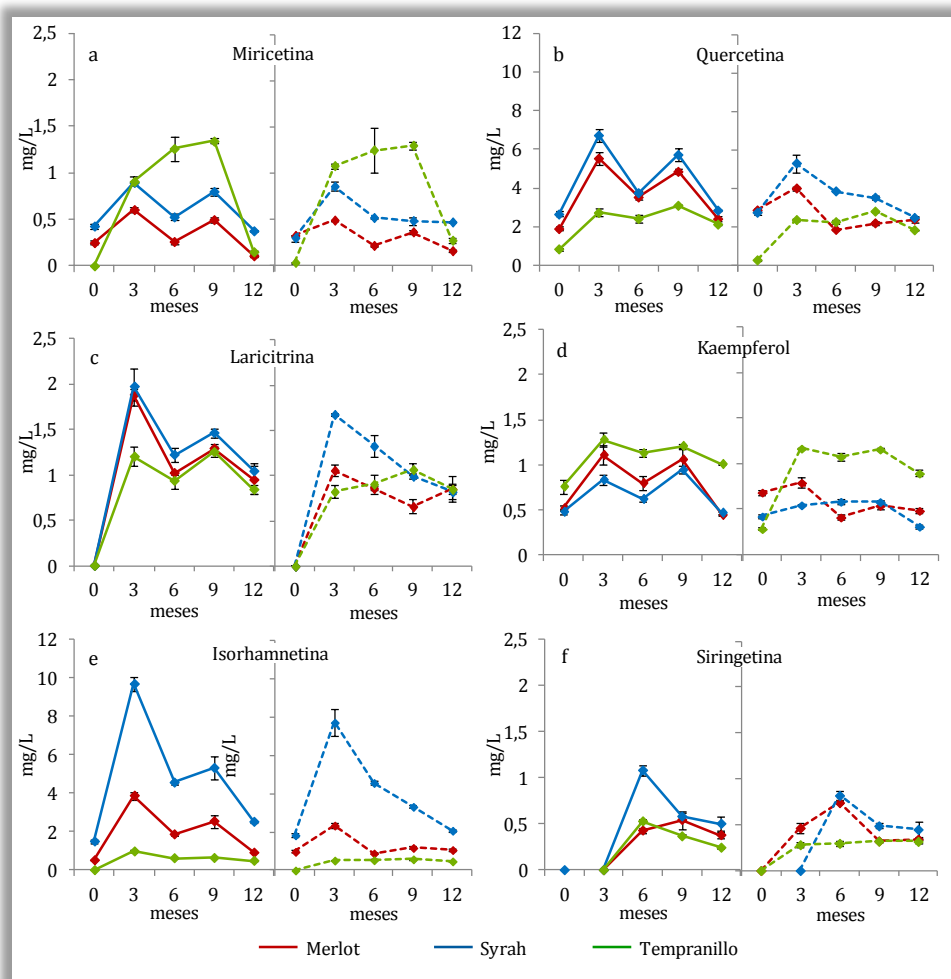


Figura 5.32. Evolución de las agliconas de flavonoles (mg/L) durante el proceso de evolución en botella de los vinos tintos dulces de las tres variedades estudiadas. Las líneas continuas corresponden a los vinos sin contacto con virutas y las líneas rayadas a los vinos tras contacto con virutas de roble.

La figura 5.33 muestra la evolución de los compuestos poliméricos y polímeros coloreados durante la estabilización en botella de los vinos tintos dulces estudiados. Puede observarse que en todos los casos se midió un aumento de estos compuestos durante los 3 primeros meses tras el embotellado, debido a las reacciones de polimerización de fenoles con menor peso molecular, seguido de un descenso posterior en la concentración como consecuencia posiblemente de la precipitación de estos compuestos. Dicha precipitación sería debida a un aumento en el peso molecular de los polímeros, llegando a una situación de inestabilidad que provocaría finalmente su sedimentación por no mantenerse en la disolución del vino, hecho que fue confirmado con la aparición de un precipitado en el fondo de las botellas durante el almacenamiento de los vinos. Como consecuencia de la disminución en las concentraciones de los compuestos poliméricos, los valores medidos al final del estudio fueron muy bajos (entre 100 y 250 mg/L para los polímeros y entre 4.7 y 15 mg/L para los polímeros coloreados), en comparación con las medidas en los vinos iniciales.

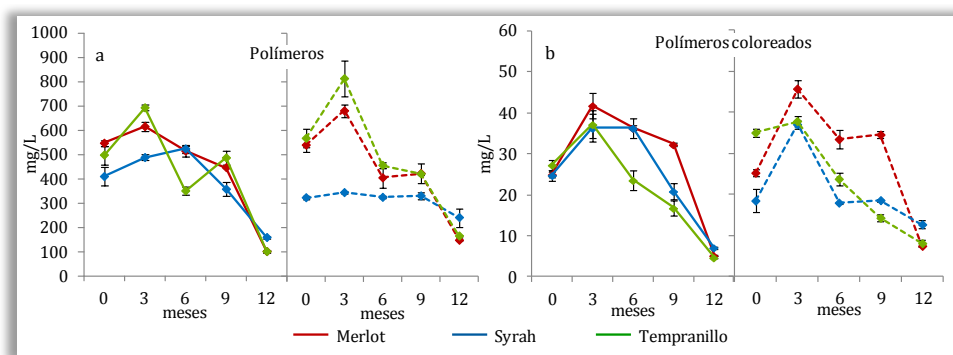


Figura 5.33. Evolución de polímeros y polímeros coloreados (mg/L) durante el proceso de evaluación en botella de los vinos tintos dulces de las tres variedades estudiadas. Las líneas continuas corresponden a los vinos sin contacto con virutas y las líneas rayadas a los vinos tras contacto con virutas de roble.

La figura 5.34 muestra la evolución de la actividad antioxidante de los vinos de las tres variedades estudiadas, y puede observarse que la evolución en botella no conllevó cambios importantes en la actividad antioxidante, siendo no significativas las diferencias en muchos de los intervalos estudiados. Los vinos de la variedad Tempranillo fueron los que presentaron los mayores valores de este parámetro, midiéndose al final del estudio 6.09 y 5.84 mmol TE/L para los vinos sin y con contacto previo con virutas de roble, seguidos por la variedad Merlot. Los vinos Syrah presentaron los menores valores de la actividad antioxidante en ambos casos, con valores finales de 3.78 mmol TE/L para el vino sin envejecimiento acelerado y 4.38 mmol TE/L para el vino con envejecimiento acelerado.

Algunos autores han intentado estudiar los cambios de la actividad antioxidante durante el almacenamiento de los vinos, pero los resultados son contradictorios, ya que mientras algunos han encontrado que los vinos presentan mayor actividad antioxidante a medida que aumenta el tiempo de almacenamiento de los mismos (Larrauri *et al.*, 1999; Alén-Ruiz *et al.*, 2009), otros indican que la actividad

antioxidante no se correlaciona con la edad del vino (Zafrilla *et al.*, 2003; Giovanelli, 2005), lo que estaría de acuerdo con los resultados obtenidos en el presente estudio para vinos tintos dulces obtenidos a partir de uvas secadas en condiciones controladas. De igual manera, Mulero *et al.* (2009), estudiando vinos orgánicos y convencionales de la variedad Monastrell durante su almacenamiento, encontraron que la actividad antioxidante medida como DPPH no variaba significativamente después de 6 meses tras el embotellado.

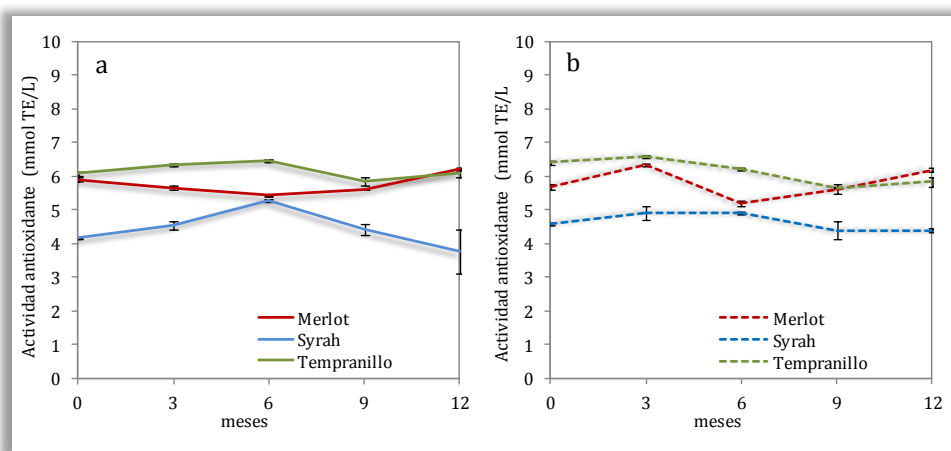


Figura 5.34. Evolución de la actividad antioxidante (mmol TE/L) durante el proceso de evolución en botella de los vinos tintos dulces de las tres variedades estudiadas sin contacto con virutas de roble (a) y tras un contacto previo con virutas de roble (b).

A fin de estudiar las diferencias entre los vinos al inicio y al final del proceso de almacenamiento en botella durante un año en función de la composición fenólica, se ha llevado a cabo un análisis multivariante de componentes principales. La figura 5.35 muestra el plano formado por las dos primeras componentes, que explicaron el 82.7% de la varianza total. En dicho plano se representaron los autovectores correspondientes a cada una de las variables, y las puntuaciones de cada una de las muestras de vino. El 68.0% de la varianza fue explicada por la primera componente, sobre la cual influyeron principalmente los antocianos, los compuestos poliméricos, los polímeros coloreados y los flavanoles. La ecuación que describe a esta primera componente sería siguiente:

$$\text{Componente 1} = 0.432 \cdot \text{Antocianos} + 0.419 \cdot \text{Polímeros} + 0.407 \cdot \text{Polímeros coloreados} + 0.406 \cdot \text{Flavanoles} - 0.382 \cdot \text{Ácidos hidroxibenzoicos} + 0.355 - 0.187 \cdot \text{Ésteres de ácidos hidroxicinámicos}$$

En el plano, puede observarse en primer lugar que los vinos al inicio y al final del almacenamiento en botella se diferenciaron en función de esta primera componente, y además se pone de manifiesto que la familia de ácidos hidroxibenzoicos fue la única que aumentó en el periodo estudiado, tal y como se puede observar en su correspondiente autovector.

Por otro lado, la segunda componente representó el 14.7% de la varianza total del proceso, y sobre ella influyeron principalmente los ésteres de ácidos hidroxicinámicos (0.873) y polímeros coloreados (0.333). Los vinos de las diferentes variedades se distinguieron en función de esta componente al inicio del embotellado, no encontrándose diferencias tras el almacenamiento, momento en que los vinos finales eran mucho más parecidos entre sí en función de su composición fenólica.

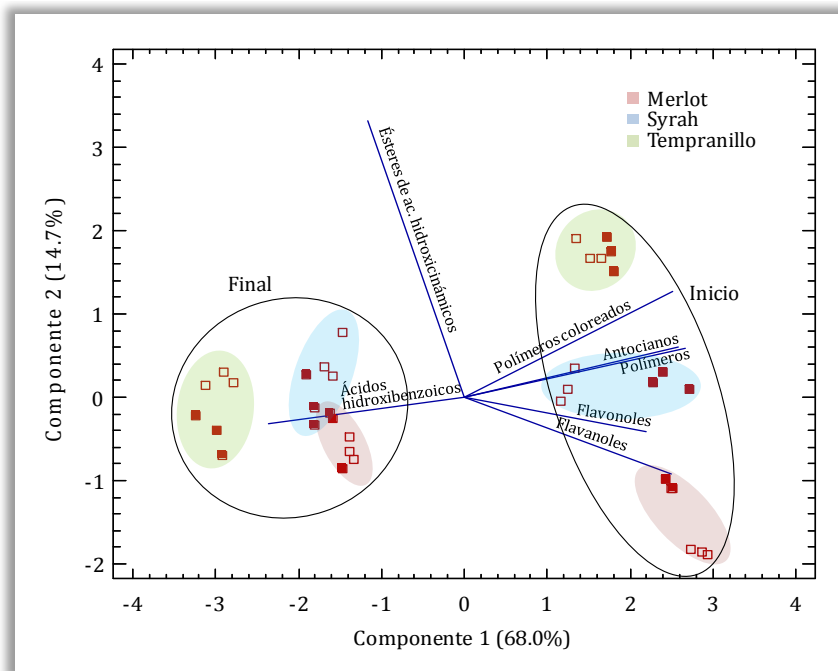


Figura 5.35. Análisis multivariante de componentes principales de los vinos de las tres variedades, en relación a su composición fenólica, al inicio y al final de la evolución en botella. Los puntos rellenos corresponden a los vinos que no habían estado en contacto con virutas y los puntos huecos representan los vinos que habían estado en contacto con virutas.

De acuerdo al análisis multivariante de componentes principales llevado a cabo, se ha comprobado que los vinos estudiados se diferenciaron al inicio y al final del almacenamiento en botella, independientemente de la variedad de uva, por su composición fenólica. A fin de determinar la familia o familias fenólicas que contribuyeron más a dicha diferenciación, se ha realizado adicionalmente un análisis discriminante. Según los resultados de este análisis multivariante, se ha obtenido una única función discriminante con valor propio superior a la unidad, que representó el 100% del porcentaje total de la varianza del proceso (tabla 5.10).

<i>Función discriminante</i>	<i>Valor propio</i>	<i>Porcentaje relativo</i>	<i>Correlación canónica</i>	<i><math>\lambda</math> de Wilks</i>	<i>p</i>	<i>Chi-cuadrado</i>
1	275.1	100	0.998	0.004	0.000	168.6

Tabla 5.10. Función obtenida para el análisis discriminante según la composición fenólica al inicio y al final de la evolución de un año en botella de los vinos tintos dulces de las tres variedades estudiadas.

Los coeficientes estandarizados de la función discriminante correspondientes a cada variable se muestran en la figura 5.36, donde puede observarse que la disminución de la concentración de los antocianos fue la que más discriminó a los tres vinos iniciales de los correspondientes tras el proceso de estabilización en botella durante un año, seguida por la disminución de los flavanoles y la evolución de flavonoles y polímeros. Por ello, estas familias fenólicas serían las más influyentes en los cambios que sufren estos vinos tintos dulces durante el tiempo de almacenamiento en botella.

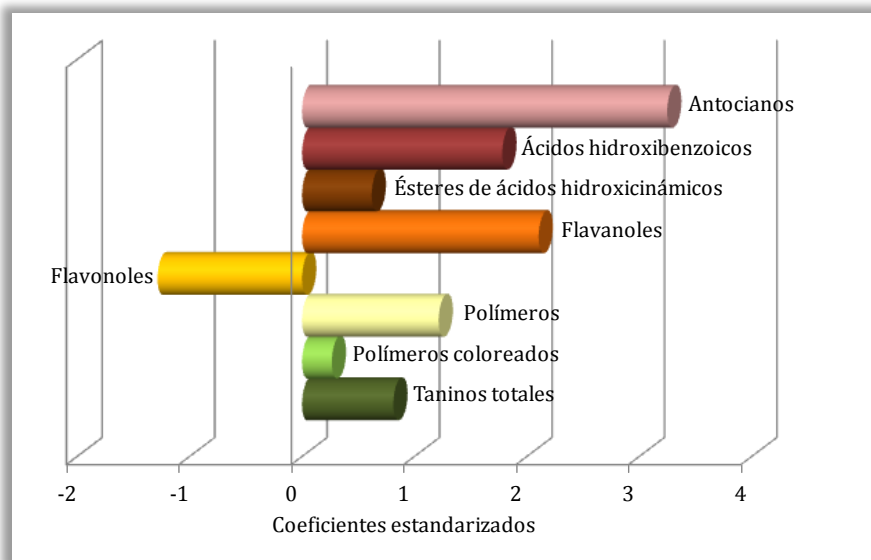


Figura 5.36. Coeficientes estandarizados para las diferentes familias fenólicas obtenidos para la función discriminante.



### **Análisis sensorial de los vinos tras la estabilización en botella**

Después de un año de almacenamiento de los vinos en botella, se llevó a cabo un segundo análisis sensorial, a fin de comprobar si estos vinos seguirían siendo aceptados por el consumidor y, para ello, se evaluó el aroma, sabor y color de los mismos según una escala similar a la utilizada al principio del estudio. Las tablas 5.12 y 5.13 muestran los resultados obtenidos para este análisis sensorial, contabilizando el número de catadores que dio cada puntuación a cada uno de los parámetros evaluados.

	<i>Puntuación</i>	<i>Indeseable</i>		<i>Aceptable</i>		<i>Deseable</i>	
		<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>	<i>6</i>
Merlot	Aroma	1	2	5	3	0	0
	Sabor	0	3	5	3	0	0
	Color	0	0	2	2	7	0
Syrah	Aroma	0	3	3	5	0	0
	Sabor	0	3	4	2	2	0
	Color	0	1	4	4	2	0
Tempranillo	Aroma	0	0	4	2	4	1
	Sabor	1	1	6	3	0	0
	Color	0	4	5	2	0	0

Tabla 5.12. Puntuaciones del análisis sensorial de los vinos tintos dulces sin contacto previo con virutas de roble al final de la evolución en botella.

	<i>Puntuación</i>	<i>Indeseable</i>		<i>Aceptable</i>		<i>Deseable</i>	
		<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>	<i>6</i>
Merlot	Aroma	2	2	3	1	3	0
	Sabor	1	0	3	4	2	1
	Color	0	1	1	0	5	4
Syrah	Aroma	0	4	1	5	1	0
	Sabor	1	2	3	3	2	0
	Color	0	0	6	3	2	0
Tempranillo	Aroma	0	2	3	1	4	1
	Sabor	1	4	2	2	1	1
	Color	0	4	5	2	0	0

Tabla 5.13. Puntuaciones del análisis sensorial de los vinos tintos dulces tras contacto previo con virutas de roble al final de la evolución en botella.

Con los datos de las tablas anteriores se calculó la media para cada uno de los parámetros y cada uno de los vinos, representando los valores resultantes en la figura 5.37. Puede observarse que para el aroma, los dos vinos de la variedad Tempranillo fueron los mejor evaluados con puntuaciones de 4.2 y 3.9 para los vinos sin y con contacto previo con virutas de roble, respectivamente, obteniéndose para los vinos Merlot y Syrah puntuaciones entre 2.9 para la variedad Merlot sin envejecimiento acelerado y 3.3 para el vino Syrah que había estado en contacto con las virutas.

En relación al sabor, para los vinos sin contacto con virutas, las tres variedades presentaron puntuaciones próximas, mientras que el vino con envejecimiento acelerado de la variedad Merlot fue ligeramente mejor evaluado que

los dos restantes (3.8 puntos frente a 3.3 y 3.1 puntos para Syrah y Tempranillo, respectivamente), aunque todos ellos aceptables para los catadores.

En cuanto al color, los vinos Merlot fueron los que mejor mantuvieron los tonos rojos típicos de vinos tintos y, consecuentemente, las puntuaciones para los dos vinos sin y con envejecimiento previo con virutas fueron de 4.5 y 4.9 respectivamente. Con respecto a este mismo parámetro, los vinos Tempranillo fueron los peor evaluados como consecuencia de que presentaban tonalidades más pardas, con una puntuación de 2.8 en ambos casos.

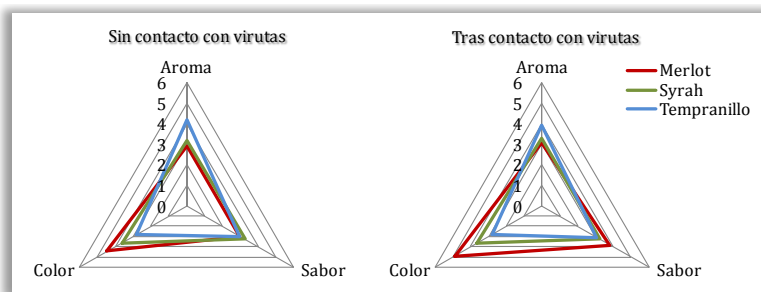


Figura 5.37. Valores obtenidos tras el análisis sensorial de aroma, gusto y color de los vinos tintos dulces estudiados al final de la evolución en botella.

Con el fin de comparar, dentro de cada variedad, si la etapa de envejecimiento acelerado con virutas que se llevó a cabo en algunos de los vinos tendría influencia en la evolución posterior de los mismos, se ha elaborado la figura 5.38. Puede verse que los vinos de las variedades Syrah y Tempranillo sin y con contacto con virutas de roble obtuvieron prácticamente las mismas puntuaciones para aroma, sabor y color. Para la variedad Merlot, los dos vinos obtuvieron puntuaciones semejantes en aroma, siendo ligeramente mejor puntuados los vinos tras contacto con virutas en cuanto al sabor y al color. Estos resultados permitirían concluir que la etapa de contacto de los vinos con las virutas no influiría en la evolución en botella.

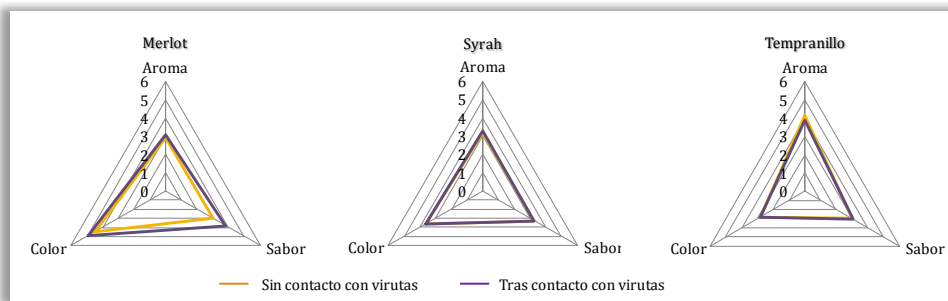


Figura 5.38. Valores obtenidos de aroma, gusto y color en función de la variedad de los vinos tintos dulces sin y con contacto con virutas, al final de la evolución en botella.

Tras el estudio de los resultados del análisis sensorial, podría concluirse que los vinos de la variedad Tempranillo no conservaron bien los tonos rojos tras un año

de almacenamiento, pero su aroma fue el mejor evaluado. Por otro lado, los vinos Merlot y Syrah presentaron puntuaciones aceptables de los tres parámetros estudiados, obteniéndose para la variedad Merlot el color menos degradado al final del periodo y, consecuentemente, más adecuado para vinos tintos.

## **CONCLUSIONS/CONCLUSIONES**

---

### **Conclusiones**

Con los resultados obtenidos de los vinos tintos dulces de las variedades Merlot, Syrah y Tempranillo, antes y tras el contacto con virutas de roble americano, se pueden extraer las siguientes conclusiones:

1. El contacto de los vinos con las virutas ocasionó un descenso similar en la tonalidad de los vinos de las tres variedades, debido a una mayor participación de coloraciones amarillas frente a los tonos rojos en los vinos finales. Asimismo, esta etapa de vinificación conllevó una disminución de la absorbancia a 520 nm en todos los casos, con el consecuente descenso en el porcentaje de la componente roja, lo que podría deberse a la participación de antocianos libres en reacciones de condensación y/o polimerización, para dar lugar a otros compuestos con el máximo de absorbancia desplazado hipsocrómicamente respecto a los antocianos de partida.
2. El proceso de envejecimiento acelerado originó un aumento en la absorbancia a 520 nm correspondiente a los compuestos poliméricos, posiblemente debido o bien a su formación a partir de antocianos monómeros y otros compuestos de mayor peso molecular extraídos de la madera, como taninos, o bien a reacciones de oxidación.
3. La concentración de antocianos monómeros disminuyó en todos los vinos, encontrándose concentraciones más pequeñas tras el envejecimiento, con mayores diferencias en las variedades Merlot y Syrah. En estas dos variedades, paralelamente ocurrió una síntesis de piranoantocianos y aductos de condensación de antocianos y flavanoles a partir de puentes metilmetileno formados por la presencia de acetaldehído.
4. Con relación al resto de compuestos fenólicos, el contacto de los vinos con virutas de roble conllevó un aumento de ácidos hidroxibenzoicos, debido a su extracción desde la madera, de manera más importante para Merlot y Tempranillo. Por esta misma razón, la concentración de taninos totales se incrementó durante esta etapa de la vinificación, especialmente en el vino Syrah, en el cual aumentó considerablemente.
5. En análisis sensorial realizado para el aroma, sabor y color de los vinos antes y tras el contacto con virutas de roble, mostró que los vinos Tempranillo obtuvieron las mejores puntuaciones para el aroma, siendo estos mismos vinos los peor puntuados respecto al color. El aroma de los vinos Merlot y Tempranillo, que habían estado en contacto con virutas, fue mejor valorado que el correspondiente a los vinos sin envejecimiento acelerado. Además, todos ellos obtuvieron puntuaciones aceptables en relación a su sabor, siendo en este caso mejor valorados los vinos que no habían estado en contacto con virutas.

En relación con la evolución durante un año tras su embotellado de los vinos que habían y no estado en contacto con virutas de roble, se podrían destacar las conclusiones siguientes:

1. La absorbancia a 520 nm descendió durante el periodo estudiado, registrándose un aumento paralelo en  $A_{420}$ , lo que originó un cambio de color en todos los vinos hacia tonos rojo-anaranjados. Los vinos de la variedad Tempranillo fueron los que aumentaron más los colores pardos, siendo sin embargo la variedad Syrah la que experimentó los mayores valores de color rojo. La tonalidad ( $A_{420}/A_{520}$ ) se incrementó durante la evolución en botella, quedando los vinos de las variedades Syrah y Tempranillo con valores superiores a la unidad, mayor en la última. Los mayores valores los vinos Tempranillo indicarían que al final del envejecimiento fueron los más pardeados.
2. En relación con las coordenadas CIELAB, el almacenamiento en botella de los vinos conllevó un descenso de su cromaticidad ( $C^*_{ab}$ ) y su claridad ( $L^*$ ) de, originándose al final del periodo vinos con menor viveza del color y más oscuros.
3. El color de pigmentos poliméricos aumentó durante la evolución de los vinos, de manera más acusada durante los 3 primeros meses de almacenamiento, debido a reacciones de polimerización que debieron ocurrir durante esta etapa. El vino de la variedad Merlot presentó al final del proceso los valores superiores de PPC, midiéndose los menores en el caso de la variedad Syrah, y sin diferencias para los vinos sin y con contacto previo con escamas.
4. Los antocianos monómeros disminuyeron su concentración en todos los casos, desapareciendo la mayor parte de los compuestos en los meses intermedios del almacenamiento, pudiéndose cuantificar al final del estudio sólo concentraciones muy bajas de los compuestos derivados de la malvidina, que eran los que presentaban inicialmente las concentraciones superiores. La disminución de antocianos monómeros fue debida a su implicación en distintos tipos de reacciones por las que se transforman progresivamente en oligómeros o polímeros más estables, así como en derivados antociánicos como vitisinas y aductos antociano-metilmetileno-flavanol, sintetizándose algunos de estos compuestos durante la evolución en botella de los vinos.
5. Los derivados del flavan-3-ol de bajo peso molecular disminuyeron sus concentraciones durante la evolución en botella, especialmente en el caso de los monómeros (+)-catequina y (-)-epicatequina, desapareciendo éste último compuesto en las variedades Syrah y Tempranillo. Estas disminuciones serían debidas a su participación en reacciones de polimerización hacia compuestos de mayor peso molecular, así como por su implicación en reacciones de formación de aductos antociánicos. Como consecuencia, la concentración de taninos totales aumentó durante los tres primeros meses de estabilización y disminuyó posteriormente, debido a la posible precipitación de los compuestos de mayor peso molecular que se estarían formando, a partir de unidades más pequeñas. Los vinos de la variedad Syrah fueron los que presentaron las concentraciones de taninos totales superiores durante todo el estudio.

6. Durante el almacenamiento de los vinos, se midió una disminución de la concentración de los flavonoles glicosilados, que podría ser debida a reacciones de hidrólisis durante el tiempo que el vino permaneció en botella, llegando a desaparecer la mayoría de los compuestos en los meses intermedios del estudio. Como resultado de estas reacciones de hidrólisis, se generaron las agliconas libres que aumentaron su concentración, apareciendo la quercetina en concentraciones superiores al resto.
7. Para los compuestos poliméricos, su concentración aumentó en todos los vinos durante los 3 primeros meses tras el embotellado, ya que estos compuestos estarían formándose a partir de las reacciones de polimerización de fenoles de menor peso molecular. Posteriormente, se midió un descenso en la concentración como consecuencia de que ocurre un progresivo aumento en el peso molecular de los polímeros, que daría lugar a una situación de inestabilidad y a su sedimentación.
8. Los vinos de las variedades Merlot, Syrah y Tempranillo no modificaron de manera importante su actividad antioxidante durante la evolución en botella, lo que indica que los vinos mantendrían su poder antioxidante con el tiempo. la maceración con virutas de roble no modificó la capacidad antioxidante de los vinos durante su periodo de estabilización.
9. El análisis sensorial de los vinos tras un año de almacenamiento mostró que los correspondientes a la variedad Tempranillo presentaron las puntuaciones superiores respecto al aroma. Con respecto al sabor, las tres variedades fueron valoradas como aceptables y con puntuaciones parecidas. El color de los vinos Merlot fue el mejor valorado ya que mantenía más el color rojo, siendo los vinos Tempranillo los más pardeados y, consecuentemente, peor evaluados. Los vinos que habían estado en contacto con virutas de roble apenas se diferenciaron en el análisis sensorial de los correspondientes sin envejecimiento acelerado.

## **Conclusions**

À partir des résultats des vins rouges doux Merlot, Syrah et Tempranillo, avant et après le contact avec des copeaux de chêne américain, les conclusions suivantes peuvent être tirées:

1. Le contact des vins avec des copeaux a causé une diminution similaire de la tonalité pour les trois cépages, puisque les couleurs jaunes ont augmenté plus, par rapport aux couleurs rouges, dans les vins fins. Également, cette étape de vinification a conduit à une baisse de l'absorbance à 520 nm et du pourcentage de la composante rouge. Ça pourrait être dû à la participation des anthocyanes libres en réactions de condensation et/ou de polymérisation, pour obtenir d'autres composés avec le maximum d'absorption du spectre UV-Visible déplacé à une longueur d'onde plus petit.

2. L'élevage accéléré a provoqué une augmentation de l'absorbance correspondante aux composés polymères à 520 nm, probablement en raison de leur formation à partir de monomères d'anthocyanes et d'autres composés de poids moléculaire plus gros extraits du bois, tels que les tanins, ou à réactions d'oxydation.
3. La concentration d'anthocyanes monomères a diminué dans tous les vins, avec les plus petites concentrations après l'élevage accéléré. Dans le Merlot et la Syrah, les différences étaient plus importantes. Pour ces deux cépages, une synthèse de pyranoanthocyanes et des adduits de condensation des anthocyanes et des flavonols à travers un pont méthylmetine a eu lieu.
4. En ce qui concerne les autres composés phénoliques, le contact du vin avec des copeaux de chêne a entraîné un accroissement des acides hydroxybenzoïques, en raison de son extraction à partir de bois, surtout pour le Merlot et le Tempranillo. Pour cette raison, la concentration de tannins totaux a augmenté au cours de cette étape de l'élaboration du vin, spécialement pour la Syrah.
5. L'analyse sensorielle de l'arôme, la saveur et la couleur des vins, avant et après le contact avec des copeaux de chêne, montre que les vins Tempranillo ont présenté les notes les plus hautes pour l'arôme. En outre, ces vins exhibaient les notes les plus faibles pour la couleur. L'arôme des vins des cépages Merlot et Tempranillo, après contact avec des copeaux, a été mieux appréciée que celle des vins sans élevage accéléré. En outre, tous les vins ont obtenu une ponctuation d'acceptable par rapport au goût, avec des notes plus hautes les vins qui n'avaient pas été en contact avec des copeaux de chêne.

En ce qui concerne l'évolution en bouteille, pendant un an, des vins qui avaient et qui n'avaient pas été en contact avec des copeaux de chêne, les conclusions suivantes peuvent être mises en évidence:

1. L'absorbance à 520 nm a diminué au cours de l'étude, avec une augmentation parallèle de  $A_{420}$ , qui a provoqué un changement de la couleur de tous les vins jusqu'à des tons rouge-orangés. Les couleurs brunes ont augmenté plus pour les vins Tempranillo et, cependant, la Syrah a présenté les valeurs plus hautes de la couleur rouge. La teinte ( $A_{420}/A_{520}$ ) a augmenté au cours de l'évolution en bouteille, avec des valeurs supérieures à l'unité pour les cépages Syrah et Tempranillo. Le Tempranillo montrait les résultats de teinte les plus hautes, indiquant qu'au fin de l'élevage, ces vins étaient les plus bruns.
2. Par rapport aux coordonnées CIELAB, l'emmagasinage en bouteille des vins a provoqué une diminution de la chromaticité ( $C^*_{ab}$ ) et de la luminosité ( $L^*$ ). Comme conséquence, à la fin du période, les vins présentaient moins vivacité de la couleur et ils étaient plus sombrés.
3. La couleur des pigments polymères a augmenté au cours de l'évolution des vins, plus fortement pendant les 3 premiers mois d'élevage, en raison des réactions de polymérisation qui devraient se produire au cours de cette étape.

Le vin de Merlot a présenté les valeurs les plus élevées de PPC à la fin du processus, et la Syrah les valeurs les plus faibles. Des différences pour les vins avec et sans macération avec des copeaux de chêne ne sont pas été observées.

4. La concentration des anthocyanes monomères a diminué dans tous les cas, avec une disparition de la plupart des composés pendant les mois d'élevage. À la fin de l'étude, seulement des concentrations très faibles des composés dérivés de la malvidine ont été mesurées, puisque ils présentaient les concentrations les plus hautes initialement. La baisse d'anthocyanes monomères est due à son implication en réactions différentes, pour obtenir progressivement des oligomères ou des polymères plus stables, et des dérivés comme les vitisines et les adduits anthocyane-méthylméthine-flavanol. Certains de ces composés ont été synthétisés pendant l'évolution en bouteille.
5. Les dérivés de flavan-3-ol de poids moléculaire faibles ont diminué leurs concentrations au cours de l'évolution en bouteille, en particulier les monomères (+)-catéchine et (-)-épicatéchine. Le dernier composé a disparu dans les vins des cépages Syrah et Tempranillo. Ces baisses seraient dues à leur implication en réactions de polymérisation pour synthétiser des composés de poids moléculaire plus gros, aussi que leur participation en réactions de formation d'adduits d'anthocyanes. En conséquence, la concentration des tanins totaux a augmenté pendant les trois premiers mois et a diminué après, car la précipitation des composés de poids moléculaire plus gros formés à partir des unités plus petites. La Syrah a présenté les concentrations des tanins totaux les plus élevées au cours de la période d'étude.
6. Une diminution de la concentration des flavonols glycosylés a été observée au cours de l'emmagasinage des vins, qui peut être due à des réactions d'hydrolyse. Par conséquent, la plupart de ces composés ont disparu pendant les mois d'étude. Comme résultat des réactions d'hydrolyse, les aglycones libres sont libérées et leurs concentrations ont augmenté, avec les valeurs les plus hautes pour la quercétine.
7. Pour les composés polymères, sa concentration a augmenté pour tous les vins pendant les 3 premiers mois après l'embouteillage, puisque ces composés seraient formés à partir des réactions de polymérisation des phénols de poids moléculaire plus faibles. Après, une diminution de la concentration de ces composés a été mesurée, due à l'augmentation progressive de poids moléculaire des polymères. En conséquence, une situation d'instabilité et la sédimentation de ces composés sont provoquées.
8. Les vins des cépages Merlot, Syrah et Tempranillo n'ont pas changé significativement leur activité antioxydante après l'évolution en bouteille, indiquant que les vins conservent leur pouvoir antioxydant au cours du temps. La macération avec des copeaux de chêne n'a pas modifié la capacité antioxydante des vins au cours de l'emmagasinage.
9. L'analyse sensorielle après un an a montré que le Tempranillo a obtenu les notes plus élevés par rapport à l'arôme. En ce qui concerne le goût, les trois cépages ont été évalués avec des scores acceptables et très similaires. La



couleur des vins Merlot a obtenu la note le plus élevée, puisque ces vins maintenaient les couleurs les plus rouges. Cependant, les vins de Tempranillo étaient les plus bruns et ils ont été évalués avec les ponctuations les plus faibles. Les vins après contact avec des copeaux de chêne ne diffèrent pas des correspondantes sans élevage accéléré.

*Análisis de vinos  
tintos dulces comerciales*

---



## INTRODUCCIÓN

La zona vitivinícola con Denominación de Origen Montilla-Moriles está situada al sur de la provincia de Córdoba, entre los paralelos 37º 11' y 37º 40' y cuenta con una superficie de 6977 hectáreas y altitudes comprendidas entre 125 y 600 m. Los ríos Genil y Guadajoz limitan sus fronteras oriental y occidental, en tanto que el Guadalquivir, al norte, y las Sierras de la Subbética, al sur, delimitan su contorno. No todos los terrenos comprendidos dentro de estos límites, se consideran aptos para la producción de uva destinada a la elaboración de los vinos amparados. Dentro de la zona de producción de la Denominación de Origen Montilla-Moriles, se diferencia una zona de calidad superior que comprende la Sierra de Montilla y los Moriles Altos.



El clima de esta zona se clasifica en general como semicontinental mediterráneo, con veranos cálidos, largos y secos e inviernos cortos y relativamente suaves. La temperatura oscila entre 12.2 °C de temperatura mínima media y 25.7 °C de máxima media, registrándose las temperaturas más elevadas de toda la península ibérica en los meses de julio y agosto. Además, es una zona con un gran número de sol efectivo (en torno a 3000 h/año), permitiendo la pasificación de uvas destinadas a la elaboración de vinos dulces. La pluviometría anual oscila entre 500 y 1.000 mm, caracterizada por su irregularidad tanto en el reparto anual como interanual. El clima cálido registrado durante el ciclo vegetativo, las escasas precipitaciones, y la elevada insolación inciden en el desarrollo de la vid y en su ciclo fenológico, en la rápida maduración del fruto que marca su composición y en las características de los vinos resultantes, e indirectamente en la fermentación y crianza de los vinos.

De acuerdo a la última modificación del Reglamento de funcionamiento de la Denominación de Origen Montilla-Moriles (BOJA 249/2011), los vinos protegidos por la dicha denominación tienen que realizarse con uvas procedentes del área de producción y de variedades Pedro Ximénez, Layren, Baladí, Verdejo, Moscatel de grano menudo, Moscatel de Alejandría, Torrontés, Chardonnay, Sauvignon Blanc o Macabeo, siendo la Pedro Ximénez la más importante.

Los vinos elaborados al amparo de dicha denominación se clasifican en los siguientes:

- Vinos, entre los que se encuentran los tipos Joven, Blanco sin envejecimiento y Blanco con envejecimiento.

- Vinos generosos, dentro de los cuales están los tipos Fino, Amontillado, Oloroso y Palo Cortado.

- Vinos de licor dulces, pudiendo ser tipo Pedro Ximénez o Moscatel, los cuales se pueden denominar vinos dulces naturales si cumplen los requisitos de esta mención específica tradicional.



- Vinos generosos de licor, entre los que se encuentran los tipos Generoso de Licor, Pale Cream, y Cream.

Asimismo, en función de su crianza los vinos de la Denominación de Origen Montilla-Moriles se clasifican en:

- Vinos sin crianza.
- Vinos con crianza, que puede ser biológica u oxidativa.

Uno de los aspectos enológicos más significativos de esta Denominación de Origen es el sistema de crianza denominado “criaderas y solera”, al que tradicionalmente se someten los vinos secos tipo Fino, Amontillado y Oloroso, y los dulces Pedro Ximénez. Para los primeros, una vez finalizada la fermentación, el vino joven se clasifica en función de sus características particulares de aroma, color, limpidez, finura al paladar, entre otras, determinando su calidad y aptitudes para la crianza. De esta forma, se decide si se destinan a la elaboración de vinos tipo Oloroso mediante crianza oxidativa, alcoholizando previamente hasta 18-19% (v/v) de etanol, o bien hacia vinos tipo Fino, mediante una crianza biológica bajo levaduras de velo de flor. Se realizan controles periódicos que permiten un seguimiento de la crianza, siendo posible la desviación de algunos finos para la elaboración de vinos amontillados, para cuya producción es necesaria una crianza mixta, con una primera etapa de envejecimiento biológico y una segunda de envejecimiento oxidativo, previa alcoholización hasta 18-19% (v/v) antes de ésta última.

En los últimos años, la demanda de vinos blancos ha disminuido en favor de los tintos, por lo que determinadas zonas vitivinícolas de cultivo tradicional de uva blanca han ido introduciendo paulatinamente variedades tintas. Este es el caso de la zona de la Denominación de Origen Montilla-Moriles, región en la cual muchas hectáreas de variedades blancas han sido paulatinamente sustituidas por variedades tintas, estando registradas en la Consejería de Agricultura y Pesca durante la campaña vitivinícola anterior, 317.3 hectáreas de Syrah, 151.9 hectáreas de Tempranillo, 78.2 hectáreas de Merlot y 74.4 hectáreas de Cabernet Sauvignon. Si bien la Denominación de Origen no ampara aún a los vinos tintos, cada año aumenta su producción, tanto de vinos jóvenes como vinos con crianza en bodega.

Con el objetivo de diversificar sus productos y ampliar la comercialización, desde hace pocos años dos bodegas de la zona están elaborando vinos tintos dulces tras una pasificación al sol de las uvas, siguiendo el método de vinificación de los vinos blancos Pedro Ximénez, pero debido a las numerosas reacciones de pardeamiento que tienen lugar durante la pasificación por soleo, aparecen muchos compuestos que colorean los vinos hacia tonos marrones. Estos nuevos vinos se engloban dentro de la denominación “Vinos de la Tierra de Córdoba” (BOE 242/2004).

Como objetivo del presente capítulo se ha fijado la comparación de los vinos desarrollados en el presente trabajo y que se han obtenido tras pasificación de las uvas en cámara a temperatura controlada y posterior maceración, con los dos vinos tintos dulces comercializados actualmente en la zona de la D.O. Montilla-Moriles, en base a los parámetros de color y de composición fenólica de los mismos.

## MATERIAL EXPERIMENTAL

Para el desarrollo del presente estudio, se han analizado los siguientes vinos:

- Vinos tintos dulces obtenidos por pasificación de las uvas al sol, que actualmente se están comercializando dentro de la región de la D.O. Montilla-Moriles (Vino 1 y Vino 2).

Vino	Variedad de uva	% Alc (v/v)	Azúcar (g/L)	Acidez volátil (g acético/L)
Vino 1	Tempranillo/Syrah	15	396.0±7.18	1.22±0.001
Vino 2	Merlot	15	330.6±10.8	0.763±0.050

Tabla 6.1. Variedades de uva, grado alcohólico, concentración de azúcar y acidez volátil de los vinos tintos dulces comerciales.

- Vinos tintos dulces de uvas pasificadas en cámara a temperatura controlada de 40 °C, y posterior proceso de maceración de 48 horas, de las variedades Merlot, Syrah, Tempranillo y Cabernet Sauvignon, cultivadas en la zona de la D.O. Montilla-Moriles.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Estudio del color

Los vinos tintos dulces comerciales fueron elaborados a partir de uvas expuestas al sol durante un periodo comprendido entre 7-10 días dependiendo de las condiciones meteorológicas. Por ello, el color de las pasas y consecuentemente el vino elaborado a partir de ellas, cambia a tonos marrones, como consecuencia de diferentes reacciones de pardeamiento, según se ha comentado anteriormente. La figura 6.1 muestra el vino comercial 1 (a) y el vino comercial 2 (b), pudiendo observarse un marcado color marrón y la ausencia de tonos rojos en los mismos.

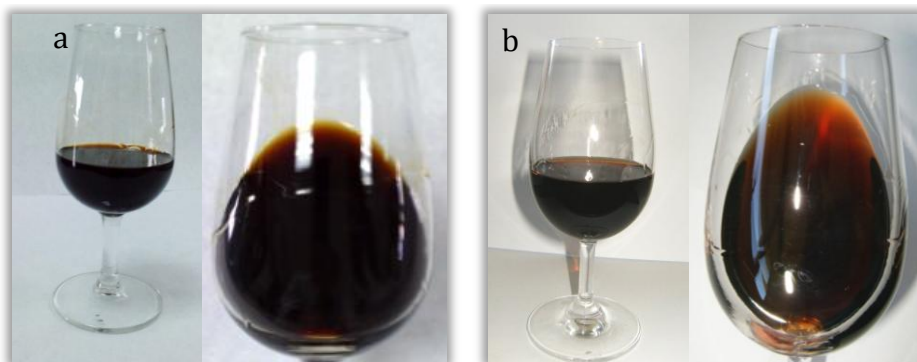


Figura 6.1. Fotografías del vino comercial 1 (a) y del vino comercial 2 (b).

Los resultados obtenidos para las diferentes medidas de color llevadas a cabo sobre ambos vinos comerciales, serán comparados con las correspondientes medidas para los vinos de las cuatro variedades, obtenidos a partir de uvas secadas en cámara y tras el proceso de maceración con los hollejos durante 48 horas.

En primer lugar, la figura 6.2 muestra los valores de absorbancia a 420, 520 y 620 nm para los dos vinos comerciales y los vinos obtenidos con uvas pasificadas en condiciones controladas, pudiendo observarse como los dos vinos comerciales presentaron un índice de pardeamiento, medido como absorbancia a 420 nm, muy superior al correspondiente para los vinos tintos dulces tras pasificación controlada. De acuerdo con los datos obtenidos, el proceso de pasificación al sol habría aumentado mucho la síntesis de compuestos pardos que absorben a la longitud de onda considerada, siendo el valor medido en el vino comercial 2 de 5.83 u.a., aproximadamente el doble de los valores correspondientes a los vinos de las cuatro variedades estudiadas (valores inferiores a 3.2 u.a.). Asimismo, para el vino comercial 1 el valor de  $A_{420}$  fue mucho mayor (9.06 u.a.), lo que indicaría que el color de este vino estaba aún más pardeado respecto al otro vino comercial.

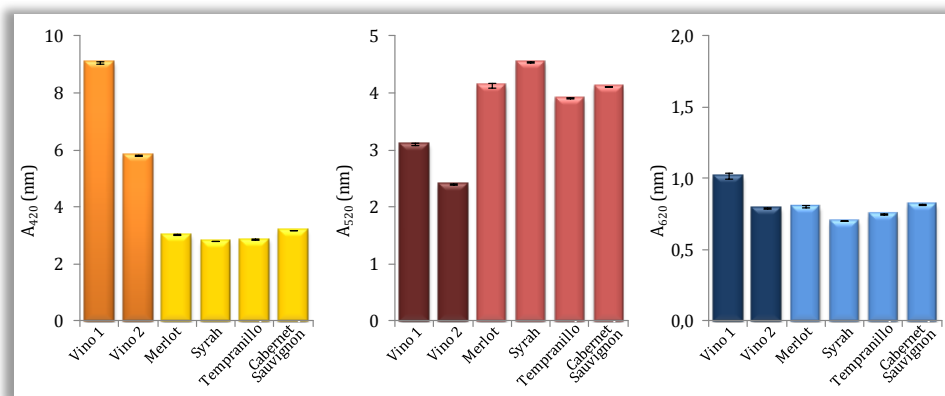


Figura 6.2. Valores de absorbancias a 420, 520 y 620 nm (u.a.) para los dos vinos comerciales y los cuatro vinos elaborados tras secado en cámara de las uvas y maceración.

Durante el secado de las uvas se favorece la síntesis de compuestos pardos, por lo que, teniendo en cuenta el mayor tiempo que supone la pasificación al sol (7-10 días) respecto al secado en cámara a temperatura controlada de 40 °C (2-3 días), el primer método da lugar a un mayor pardeamiento. Paralelamente, la pasificación tradicional conlleva bruscas oscilaciones de temperatura, de modo que durante las horas centrales del día se pueden alcanzar los 50 °C en la superficie de la uva, pero durante las noches ésta cae de manera apreciable, unido además a los rocíos nocturnos que ocurren en la época de la pasificación tradicional al sol (Serratosa, 2009). Cuando la temperatura es elevada, tiene lugar una evaporación continua de agua desde las bayas, lo que evita la entrada de oxígeno a través del hollejo, pero en el momento en que dicha temperatura desciende se posibilita que el oxígeno ambiental penetre en las uvas a través de la piel, proceso que estaría también favorecido por la solubilidad de los gases a bajas temperaturas. La presencia de oxígeno es necesaria en muchas de las reacciones de pardeamiento, aumentando consecuentemente la

absorbancia a 420 nm de los mostos resultantes. En el caso de la pasificación en cámara, la temperatura se mantiene constante a 40 °C, de modo que ocurre una evaporación continua del agua de la pulpa, evitando cualquier entrada de gases y ralentizando, por tanto, las reacciones de pardeamiento.

En relación a la absorbancia a 520 nm, los vinos tintos elaborados tras secado en cámara de las uvas, presentaron valores superiores a los dos vinos comerciales analizados, indicando un color más rojo. Así, mientras en los primeros se midieron valores entre 3.91 y 4.55 u.a. para Tempranillo y Syrah, respectivamente, los vinos comerciales 1 y 2 presentaron absorbancias a 520 nm de 3.10 y 2.40 u.a. respectivamente.

En el caso de la correspondiente absorbancia a 620 nm, el vino comercial 1 presentó el valor superior (1.02 u.a.), no encontrándose muchas diferencias entre el vino comercial 2 (0.791 u.a.) y los cuatro vinos elaborados, cuyos valores estuvieron comprendidos entre 0.704 y 0.820 u.a. para Syrah y Cabernet Sauvignon, respectivamente.

A partir de los valores anteriores de absorbancias, se calcularon los porcentajes de color amarillo, rojo y azul de los vinos estudiados, que se muestran en la figura 6.3, en la cual puede comprobarse que los tonos predominantes en los vinos comerciales eran los pardos, con porcentajes de color amarillo del 69 y 65% para los vinos 1 y 2 respectivamente. Estos valores fueron muy superiores a los porcentajes de color rojo (24% para el vino 1 y 27% para el vino 2), contrariamente a lo esperado para vinos tintos y a lo encontrado en los vinos obtenidos tras pasificación controlada de las uvas, donde el porcentaje de color rojo fue superior al 57% en las cuatro variedades. En cuanto al porcentaje de color azul, los vinos comerciales presentaron valores de 7.7 y 8.8%, inferiores a los correspondientes para los cuatro vinos elaborados en este estudio (entre 9.6 y 11.2 % para Syrah y Cabernet Sauvignon, respectivamente).

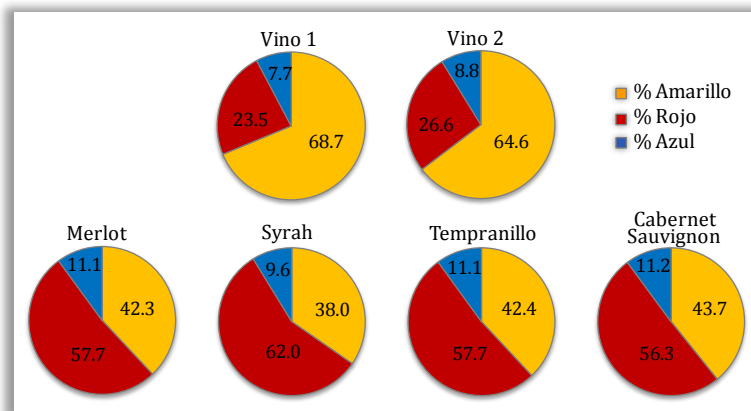


Figura 6.3. Porcentajes de color amarillo, rojo y azul para los dos vinos comerciales y los cuatro vinos elaborados tras secado en cámara de las uvas y maceración.



En la figura 6.4 se muestra la representación del espacio CIELAB formado por las coordenadas  $a^*$ ,  $b^*$  y  $L^*$  de los dos vinos comerciales y los cuatro vinos elaborados tras secado en cámara de las uvas. En primer lugar, puede verse que los puntos que representan a los dos vinos comerciales quedaron alejados en el plano  $a^*$ - $b^*$  de los correspondientes a los cuatro vinos restantes, indicando que presentaban colores diferentes.

Tras la pasificación tradicional al sol, los vinos resultantes mostraban asimismo valores inferiores de la coordenada polar  $C^*_{ab}$  o cromaticidad (48.2 y 57.9 unidades CIELAB para los vinos 1 y 2 respectivamente), indicando consecuentemente que la viveza de color en ellos, fue inferior a la encontrada en los vinos de uvas secadas en condiciones controladas, para los cuales la coordenada  $C^*_{ab}$  presentó valores entre 62.3 unidades CIELAB en Merlot y Cabernet Sauvignon y 66.3 unidades CIELAB en el vino Syrah. Como puede observarse en la figura, la coordenada polar  $h_{ab}$  fue superior para los dos vinos comerciales, indicando un mayor amarilleamiento.

Con relación a la claridad ( $L^*$ ), el proceso de pasificación no influyó en dicho parámetro, ya que los valores fueron del mismo orden de magnitud, siendo el vino comercial 1 el más oscuro (16.9 unidades CIELAB) y el vino comercial 2 el más claro (24.4 unidades CIELAB), y encontrándose valores intermedios para los cuatro vinos restantes, todos ellos muy oscuros.

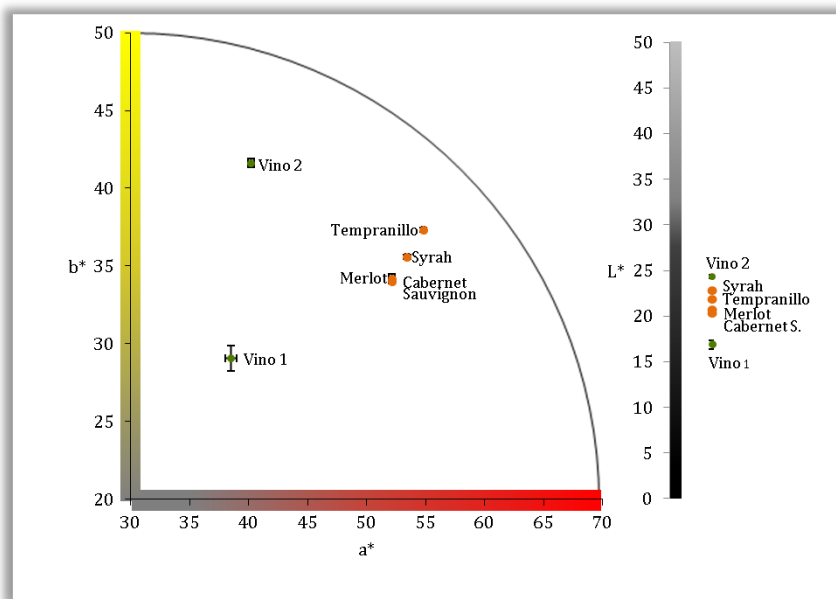


Figura 6.4. Representación de las coordenadas  $a^*$  y  $b^*$  del espacio CIELAB para los dos vinos comerciales y los cuatro vinos elaborados tras secado en cámara de las uvas y maceración.

El color total de pigmentos (WCA) de todos los vinos analizados, se muestra en la figura 6.5, donde se observan los pequeños valores encontrados en las dos muestras comerciales (2.11 y 3.13 u.a. para los vinos 1 y 2 respectivamente) frente a

las cuatro restantes (valores entre 9.16 u.a. para Tempranillo y 12.0 u.a. para Syrah), indicando nuevamente la falta de color rojo de los primeros vinos.

Si se comparan los valores de este parámetro con los correspondientes a la absorbancia a 520 nm para los mismos vinos, puede observarse que todos los casos, excepto en el vino comercial 1, los valores para WCA fueron superiores a los valores de  $A_{520}$ , lo que podría explicarse teniendo en cuenta el fundamento de la determinación de WCA, en la que las muestras se ponen en medio ácido con HCl con la finalidad de que el equilibrio de todos los antocianos monómeros se desplace hacia la forma coloreada flavilio. Consecuentemente, el aumento del valor de absorbancia al poner medio ácido, indicaría que parte de los antocianos monómeros no se encontraban en la forma flavilio, sino en alguna de las formas incoloras del equilibrio. De acuerdo a esta hipótesis, y teniendo en cuenta que los cuatro vinos elaborados con uvas pasificadas en cámara, presentaron absorbancias muy diferentes para ambas medidas (desde valores cercanos a 4 u.a. para  $A_{520}$  hasta valores cercanos a 10 u.a. para el WCA), podría suponerse que en ellos fueron muchos los antocianos que se colorearon al acidificar el medio. Por el contrario, en el caso de los vinos comerciales, el valor de WCA fue del mismo orden de magnitud que la  $A_{520}$ , lo cual podría explicarse por la poca proporción de antocianos bajo alguna forma incolora que hay en estos vinos.

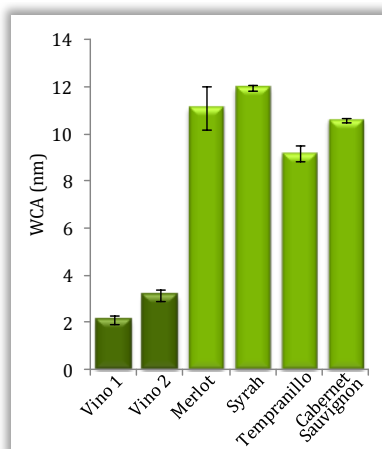


Figura 6.5. Color total de pigmentos (u.a.) para los dos vinos comerciales y los cuatro vinos elaborados tras secado en cámara de las uvas y maceración.

Por otro lado, la figura 6.6 muestra el color de pigmentos poliméricos para los vinos comerciales y los vinos elaborados con uvas secadas en cámara. En este caso, los dos vinos comerciales presentaron valores superiores de este parámetro, presentando el vino comercial 1 un valor de PPC (2.73 u.a.) mayor al vino 2 (2.18 u.a.) ya que, aunque el primero tenía menos color rojo de acuerdo a las medidas anteriores, a la vez presentaba mayor proporción de compuestos polimerizados. Consecuentemente, se podría concluir que las reacciones de polimerización de antocianos estarían más

avanzadas en el primer vino, que bien podría deberse a la variedad de uva (mezcla de Syrah y Tempranillo) o a la edad del mismo.

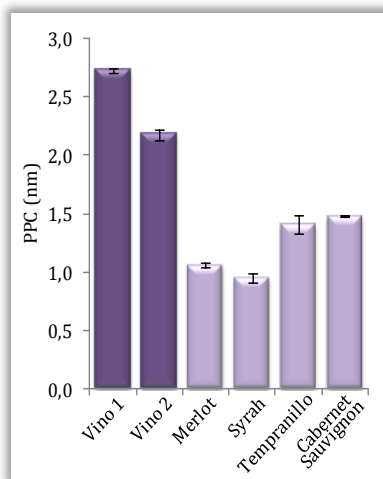


Figura 6.6. Color de pigmentos poliméricos para los dos vinos comerciales y los cuatro vinos elaborados tras secado en cámara de las uvas y maceración.

### **Estudio de la composición fenólica**

En los vinos comerciales, se estudió el índice de polifenoles totales y la composición fenólica, determinando la concentración de antocianos, ácidos fenólicos, derivados del flavan-3-ol, flavonoles y polímeros, a fin de compararlas con las correspondientes a los vinos de las cuatro variedades de uvas pasificadas en cámara a temperatura controlada.

En primer lugar, la figura 6.7 muestra el índice de polifenoles totales (IPT) para todos los vinos analizados, mostrando que los dos vinos comerciales presentaron valores de dicho parámetro muy superiores a los cuatro vinos restantes.

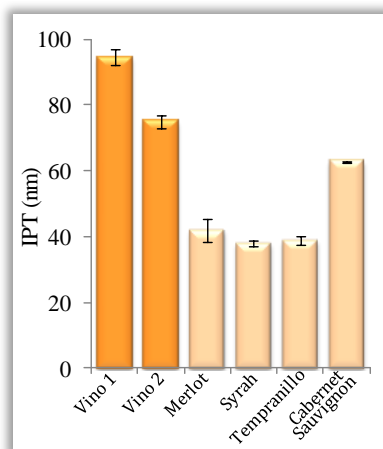


Figura 6.7. Índice de polifenoles totales (u.a.) para los dos vinos comerciales y los cuatro vinos elaborados tras secado en cámara de las uvas y maceración.

En relación con la fracción antociánica, en ninguno de los dos vinos comerciales estudiados se identificaron antocianos monómeros ni derivados de los mismos (tabla 6.2).

	$V_1$	$V_2$	$M$	$S$	$T$	$C$
<b>Antocianos</b>						
Df-3- <i>O</i> -glc	nd	nd	*	*	*	*
Cn-3- <i>O</i> -glc	nd	nd	*	*	*	*
Pt-3- <i>O</i> -glc	nd	nd	*	*	*	*
Pn-3- <i>O</i> -glc	nd	nd	*	*	*	*
Mv-3- <i>O</i> -glc	nd	nd	*	*	*	*
Df-3- <i>O</i> -acetglc	nd	nd	nd	nd	*	*
Cn-3- <i>O</i> -acetglc	nd	nd	*	*	*	*
Pt-3- <i>O</i> -acetglc	nd	nd	*	*	*	*
Pn-3- <i>O</i> -acetglc	nd	nd	*	*	*	*
Mv-3- <i>O</i> -acetglc	nd	nd	*	*	*	*
Cn-3- <i>O</i> -cumglc	nd	nd	*	*	*	*
Pt-3- <i>O</i> -cumarilglc	nd	nd	*	*	*	*
Pn-3- <i>O</i> -cumarilglc	nd	nd	*	*	*	*
Mv-3- <i>O</i> -cumarilglc	nd	nd	*	*	*	*
Mv-3- <i>O</i> -cafeoilglc	nd	nd	*	*	*	*
Vit.A Mv-3- <i>O</i> -acetglc	nd	nd	*	nd	*	*
Vit.B Mv-3- <i>O</i> -glc	nd	nd	nd	*	*	nd
Mv-3- <i>O</i> -glc-metilmetileno-(epi)cat	nd	nd	*	*	*	*
Mv-3- <i>O</i> -glc-metilmetileno-(epi)cat	nd	nd	*	*	*	*
Mv-3- <i>O</i> -glc-metilmetileno-(epi)cat	nd	nd	*	*	*	nd

Tabla 6.2. Antocianos identificados en los dos vinos comerciales y en los cuatro vinos elaborados tras secado en cámara de las uvas y maceración. (nd, no identificado; \*, identificado).

La ausencia de antocianos corrobora que estos vinos no presentaban color rojo, aunque en ellos se habría podido medir absorbancia a 520 nm. Es razonable pensar que esta medida aparece como consecuencia de que existe una elevada concentración de compuestos pardos que, aunque su máximo de absorción se sitúa alrededor de los 420 nm, absorben algo a 520 nm.

Con respecto a la fracción de ácidos fenólicos, en los vinos comerciales se identificaron cuatro ácidos hidroxibenzoicos, tres ácidos hidroxicinámicos y los ésteres tartáricos de éstos. En relación a los primeros, la figura 6.8 muestra las concentraciones de ácidos gálico, protocatéuico, vanílicico y siríngico identificados en los vinos comerciales y en los cuatro vinos obtenidos tras secado en cámara de las uvas. Se pudo observar que el vino 1 presentó concentraciones superiores de la mayoría de estos compuestos, apareciendo el ácido protocatéuico sólo en dicho vino. Si bien todos los vinos tintos dulces elaborados con uvas pasificadas en cámara presentaron concentraciones superiores para el ácido gálico que los dos vinos comerciales, las diferencias no fueron muy acusadas, posiblemente porque el método de secado no afectó de manera importante a la evolución de esta familia fenólica.

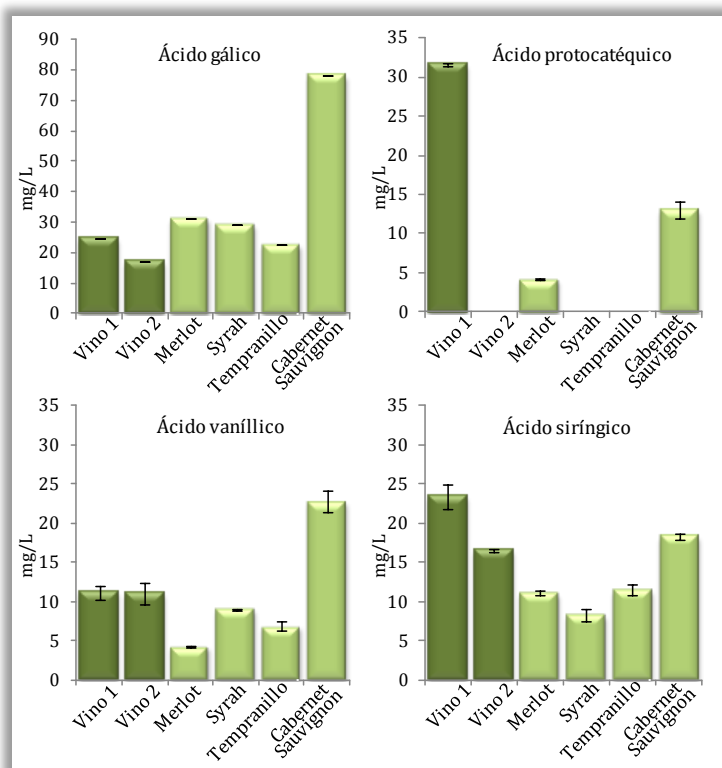


Figura 6.8. Concentración de ácidos hidroxibenzoicos (mg/L) en los dos vinos comerciales y en los cuatro vinos elaborados tras secado en cámara de las uvas y maceración.

Sin embargo, en los dos vinos comerciales se pudieron identificar y cuantificar los ácidos hidroxicinámicos cafeico, *p*-cumárico y ferúlico en concentraciones que se muestran en la figura 6.9, ninguno de los cuales apareció en los vinos procedentes de uvas pasificadas. Las concentraciones a las que aparecieron los tres ácidos hidroxicinámicos fueron bajas e inferiores a 7 mg/L en todos los casos, por lo que se podría pensar que la diferencia con los vinos elaborados con uvas secadas en cámara dependería de la materia prima inicial, ya que las concentraciones de compuestos fenólicos pueden variar en las bayas y, consecuentemente, en los vinos elaborados a partir de ellas, de acuerdo a factores variables como la variedad de uva, las prácticas vitícolas, además de factores medioambientales (Broussaud *et al.*, 1999; Cheynier *et al.*, 1998; Ojeda *et al.*, 2002).

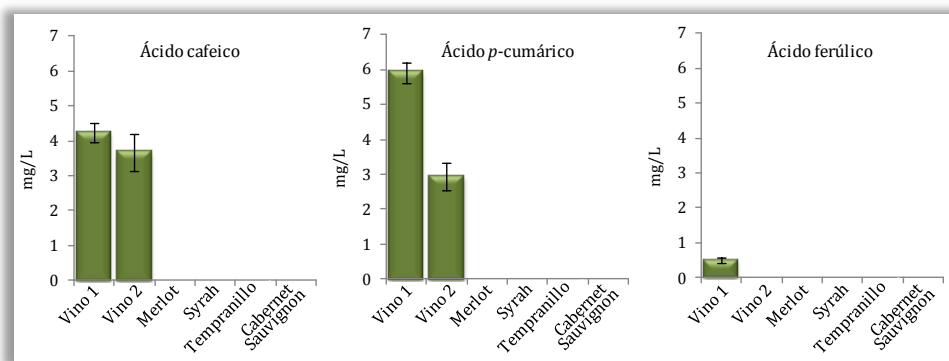


Figura 6.9. Concentración de ácidos hidroxicinámicos (u.a.) en los dos vinos comerciales y en los cuatro vinos elaborados tras secado en cámara de las uvas y maceración.

Finalmente, se cuantificaron también los ésteres tartáricos de los tres ácidos hidroxicinámicos anteriores, encontrándose las concentraciones que se muestran en la figura 6.10 para los vinos comerciales y para los vinos tras pasificación controlada. En los vinos comerciales, los ácidos caftáricos y cutáricos aparecieron en concentraciones superiores, siendo los ésteres del ácido ferúlico los menos concentrados, y presentando valores que no variaron significativamente dependiendo del vino. Las concentraciones de estos compuestos fueron bastante bajas en los dos vinos comerciales, pero del mismo orden de magnitud que en los vinos de uvas pasificadas en cámara, presentando sólo los ácidos *c*- y *t*-cutárico valores algo superiores.

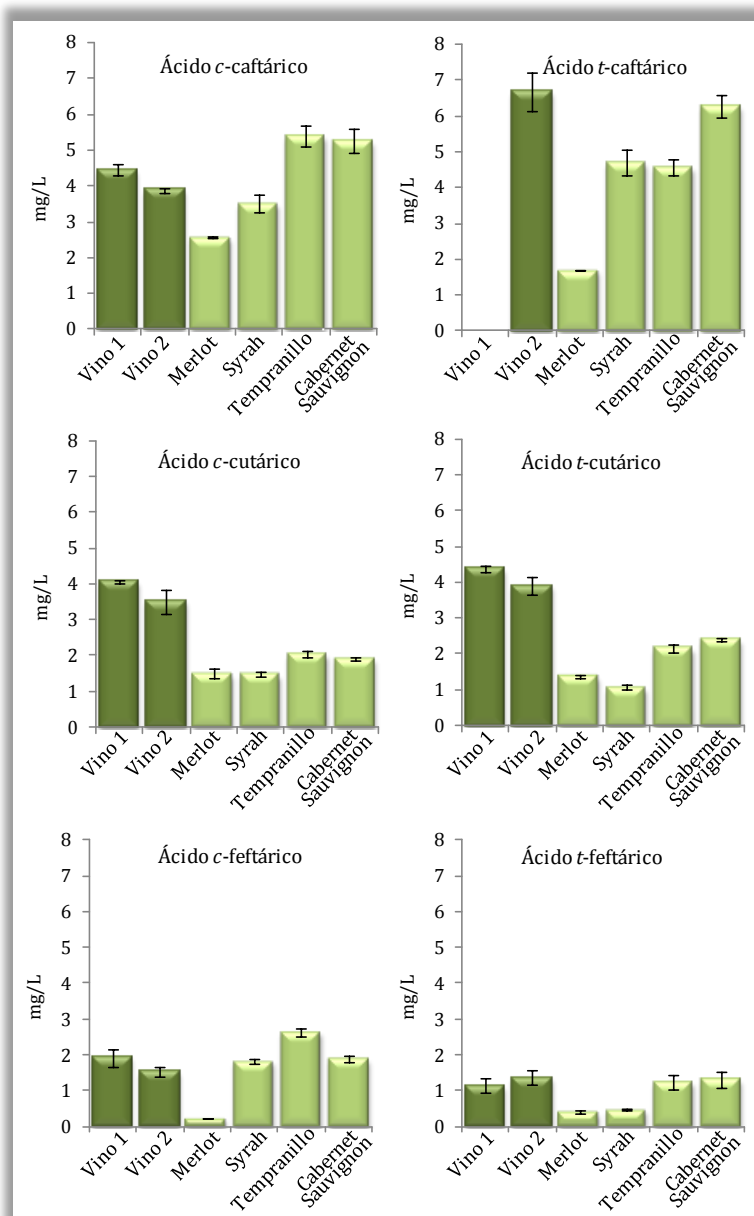


Figura 6.10. Concentración de ésteres de ácidos hidroxycinnámicos (mg/L) en los dos vinos comerciales y en los cuatro vinos elaborados tras secado en cámara de las uvas y maceración.

La fracción de derivados del flavan-3-ol de los dos vinos comerciales estuvo formada por muy pocos compuestos (figura 6.11), identificándose solamente los monómeros (+)-catequina y (-)-epicatequina, las procianidinas B2 y B4, y el compuesto B2-3-*O*-galato, generalmente en concentraciones inferiores a las encontradas en los vinos tras secado en cámara. Con relación a los monómeros, (+)-catequina presentó concentraciones de 1.66 y 1.59 mg/L para los vinos 1 y 2 respectivamente, muy inferiores a los cuatro vinos restantes, apareciendo la (-)-epicatequina sólo en el primero de ellos, y también en una concentración muy baja (4.63 mg/L). Para los derivados dímeros, sólo pudieron identificarse las procianidinas B2 y B4, pero también en concentraciones inferiores a 4 mg/L en ambos vinos, mientras que se identificó y cuantificó el compuesto B2-3-*O*-galato como el mayoritario de esta fracción fenólica (9.61 mg/L en el vino 1 y 10.3 mg/L en el vino 2), en concentraciones próximas a las obtenidas para los cuatro vinos elaborados. Debido a que la fracción de flavan-3-oles de los vinos elaborados a partir de uvas secadas en cámara estuvo compuesta por muchos más compuestos y en concentraciones superiores que los vinos comerciales, podría pensarse que durante la pasificación al sol o la vinificación posterior de dichos vinos, éstos compuestos fueron importantes sustratos en reacciones de polimerización y/o degradación.

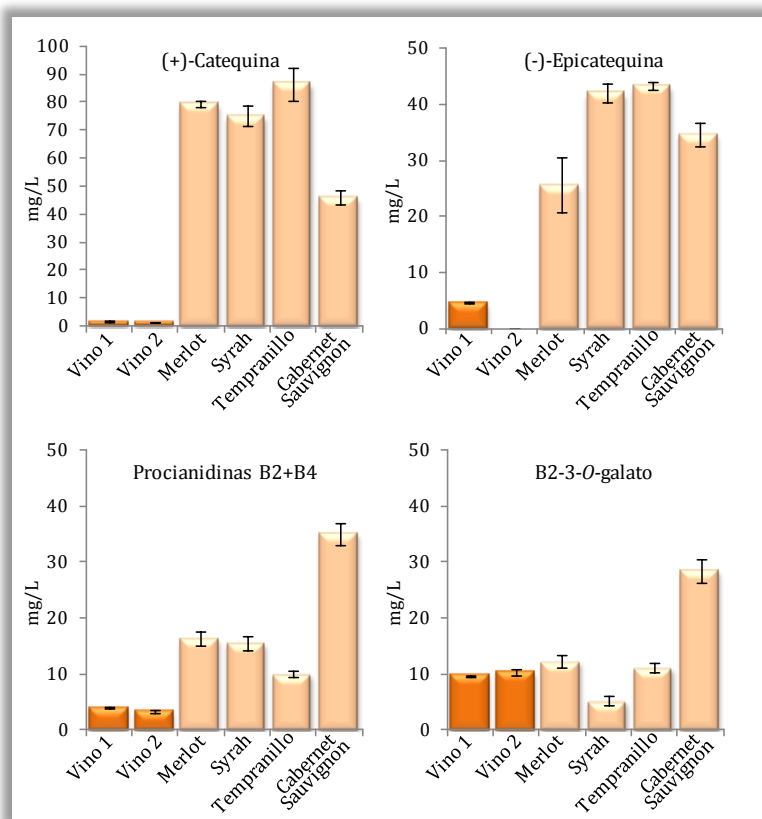


Figura 6.11. Concentración de derivados del flavan-3-ol (mg/L) en los dos vinos comerciales y en los cuatro vinos elaborados tras secado en cámara de las uvas y maceración.



Por otro lado, se midió la concentración de taninos totales de los dos vinos comerciales, y se compararon los resultados con los vinos elaborados tras pasificación de las uvas en condiciones controladas, resultando los valores representados en la figura 6.12. Puede observarse, que los dos vinos tras pasificación al sol presentaron concentraciones superiores de taninos totales (22.2 g/L en el vino 1 y 15.3 g/L en el vino 2) que los vinos tras pasificación controlada, dentro de los cuales la variedad Cabernet Sauvignon fue la que había presentado una concentración superior (13.0 g/L). La mayor concentración de taninos totales en los vinos comerciales implicaría una mayor astringencia, si bien los azúcares residuales de los mismos (396 y 331 g/L para los vinos 1 y 2 respectivamente) eran superiores a los medidos en los vinos elaborados en el presente trabajo, y podrían compensar o enmascarar el exceso de taninos, de modo que los vinos no resulten muy astringentes para el consumidor.

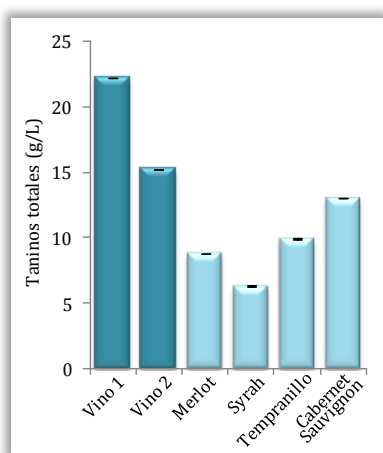


Figura 6.12. Concentración de taninos totales (g/L) para los dos vinos comerciales y los cuatro vinos elaborados tras secado en cámara de las uvas y maceración.

La fracción de flavonoles de los vinos comerciales estuvo compuesta por las agliconas miricetina, quercetina, laricitrina, kaempferol, isorhamnetina y siringetina, en concentraciones muy pequeñas para todos los compuestos, según puede observarse en la figura 6.13. El compuesto mayoritario en ambos casos fue la quercetina (0.752 y 1.93 mg/L para los vinos 1 y 2), de igual manera que para los vinos elaborados a partir de uvas secadas en condiciones controladas. Los vinos comerciales presentaron concentraciones de todas las agliconas que fueron del mismo orden de magnitud que en los vinos obtenidos de uvas pasificadas en condiciones controladas tras el proceso de maceración, si bien éstos presentaron además muchos flavonoles glicosidos en concentraciones muy superiores, que no se identificaron en los vinos comerciales.

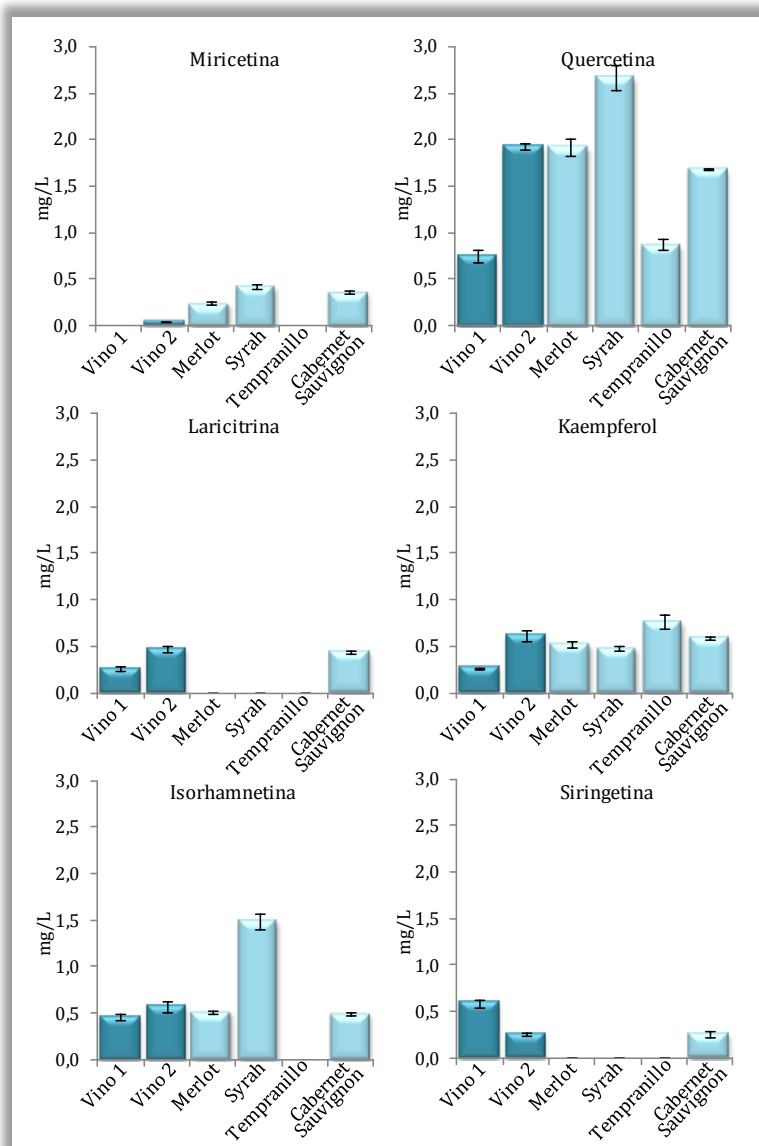


Figura 6.13. Concentración de flavonoles (mg/L) en los dos vinos comerciales y en los cuatro vinos elaborados tras secado en cámara de las uvas y maceración.

La ausencia de flavonoles glicósidos y presencia de agliconas en los vinos suele ser un indicador de un proceso de envejecimiento, durante el cual los primeros compuestos se van hidrolizando debido a las condiciones ácidas del vino, para dar lugar gradualmente a las agliconas libres (Jeffery *et al.*, 2008). Suponiendo que hubiese ocurrido la hidrólisis de los flavonoles glicósidos presentes naturalmente en las uvas, la concentración de agliconas debería ser alta en los vinos comerciales, si bien se encontraron valores totales de 2.33 y 3.88 mg/L (vinos 1 y 2 respectivamente) por lo que, de acuerdo a ellos, podría pensarse que había ocurrido una degradación de esta familia fenólica, disminuyendo la concentración de sus compuestos de manera importante. Por otro lado, las agliconas podrían disminuir su concentración debido a su baja solubilidad en disoluciones etanólicas como el vino, pudiendo causar una inestabilidad que se observaría mediante la aparición de cristales incoloros o precipitados amarillos (Jeffery *et al.*, 2008).

En relación a los compuestos poliméricos, la figura 6.14 muestra las concentraciones de polímeros y polímeros coloreados para los seis vinos analizados, observándose que en ambos casos los vinos comerciales presentaron concentraciones muy inferiores a los vinos elaborados en el presente trabajo, debido posiblemente por la precipitación de los compuestos de mayor peso molecular durante la vinificación y estabilización posterior.

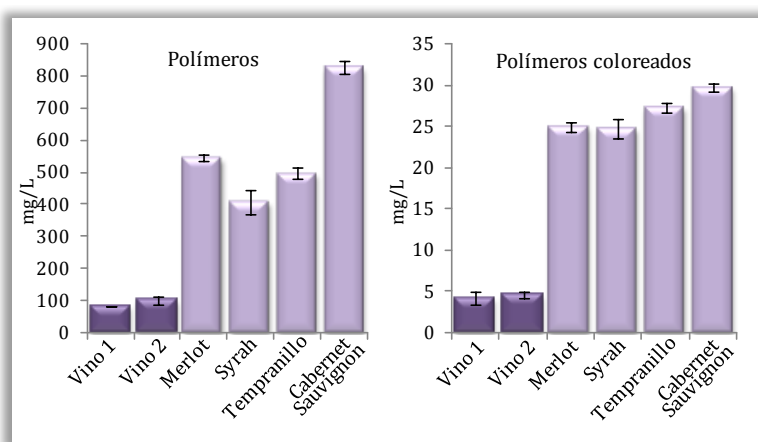


Figura 6.14. Concentración de polímeros y polímeros coloreados (mg/L) en los dos vinos comerciales y en los cuatro vinos elaborados tras secado en cámara de las uvas y maceración.

### Estudio estadístico

Finalmente, a fin de comparar globalmente las características de los dos tipos de vinos estudiados, se llevaron a cabo una serie de tratamientos estadísticos de los datos. Para ello, en primer lugar se realizaron dos estudios multivariantes de componentes principales, considerando los parámetros de color y composición fenólica de los vinos estudiados con el objetivo de buscar la relación existente entre

las distintas muestras. A continuación, se ha realizado un análisis discriminante para detectar las variables que provocan las diferencias entre vinos.

La figura 6.15 muestra el plano definido por las dos primeras componentes principales, que en conjunto explicaron un 95.8% de la varianza total del proceso. En dicho plano, se han representado las puntuaciones o autovalores de las muestras estudiadas, dos vinos comerciales (vino 1 y vino 2) y los cuatro vinos elaborados en esta memoria. Además, se han representado los autovectores correspondientes a las variables consideradas en este análisis multivariante.

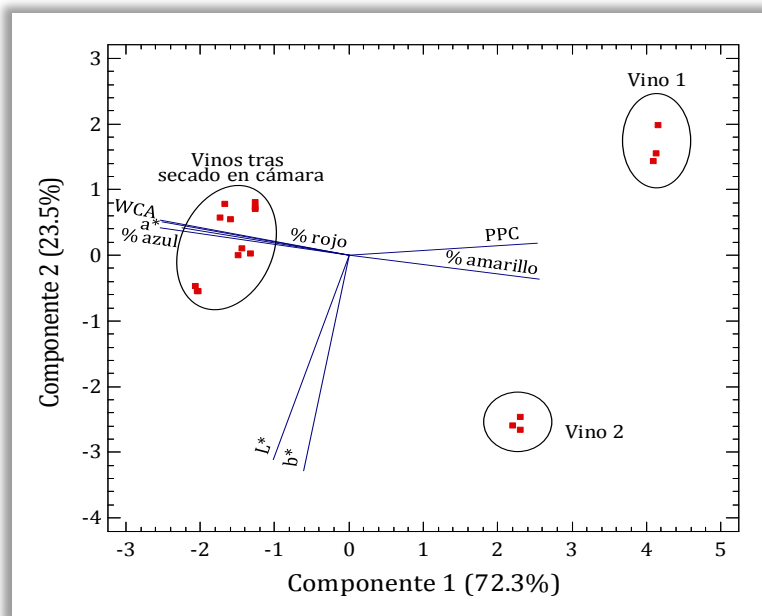


Figura 6.15. Análisis multivariante de componentes principales de los dos vinos comerciales y de los cuatro vinos elaborados tras secado en cámara de las uvas, en función de parámetros del color.

En base a la componente 1, que explica el 72.3% de la varianza, se diferenciaron los dos vinos comerciales (vino 1 y vino 2), con puntuaciones positivas para dicha componente, del grupo formado por los cuatro vinos elaborados con uvas pasificadas en cámara, que todos ellos puntuaron negativamente. Puede además observarse que, en la componente 1 que fue la responsable de esta separación, influyeron fundamentalmente el porcentaje de color amarillo, el porcentaje de color rojo, la componente  $a^*$ , WCA y PPC (tabla 6.3), de los cuales el porcentaje de color amarillo y PPC fueron los únicos con peso estadístico positivo. Por todo ello, se puede decir que existieron pocas diferencias en cuanto a los parámetros de color de los cuatro vinos elaborados con sistema alternativo y que se muestran muy diferentes a los vinos comerciales, fundamentalmente por un mayor porcentaje de color rojo y de color azul y un menor porcentaje de color amarillo, menos color de pigmentos y más cantidad de antocianos incoloros que se colorean a pH ácidos (WCA).

Por último, la segunda componente de este análisis de componentes principales, representó un 23.5% de la varianza total del proceso, y sobre ella influyeron especialmente las coordenadas CIELAB  $b^*$  (0.7079) y la claridad,  $L^*$  (0.6702), gracias a las cuales se diferenciaron especialmente los dos vinos comerciales entre sí.

	Componente 1	Componente 2
% amarillo	0.4115	0.0789
% rojo	-0.4091	-0.1158
% azul	-0.3611	-0.0897
$a^*$	-0.4089	-0.0912
$b^*$	-0.0976	0.7079
$L^*$	-0.1628	0.6702
WCA	-0.4050	-0.1103
PPC	0.4070	-0.0393

Tabla 6.3. Autovectores obtenidos para el análisis multivariante de componentes principales de los dos vinos comerciales y de los cuatro vinos elaborados tras secado en cámara de las uvas, en función de parámetros del color.

Se realizó un segundo análisis multivariante de componentes principales, considerando como variables la composición fenólica de los vinos estudiados. En la figura 6.16 puede verse el plano formado por las dos primeras componentes, que en conjunto, explicaron el 86.8% de la varianza total del proceso, donde se han representado los autovectores de cada una de las variables y las puntuaciones de las muestras.

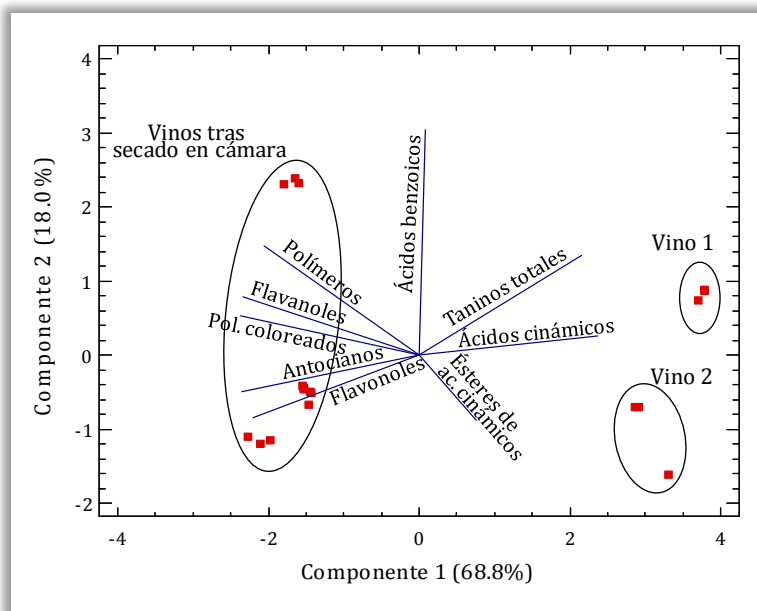


Figura 6.16. Análisis multivariante de componentes principales de los dos vinos comerciales y de los cuatro vinos elaborados tras secado en cámara de las uvas, en función de la composición fenólica.

En primer lugar, se muestra que los dos vinos comerciales se diferenciaron de los cuatro vinos elaborados tras pasificación controlada de las uvas, especialmente en función de la primera componente, sobre la cual influyeron la mayor parte de las familias de compuestos fenólicos, tal y como puede verse en la tabla 6.4 donde se recogen los pesos estadísticos de cada parámetro.

La segunda componente, que representaba el 18.0% de la varianza, y sobre la cual influyó especialmente la fracción de ácidos hidroxibenzoicos (0.7610), diferenció los dos vinos comerciales entre sí.

	<i>Componente 1</i>	<i>Componente 2</i>
Antocianos	0.3903	-0.1260
Ácidos hidroxibenzoicos	-0.0139	0.7610
Ácidos hidroxicinámicos	-0.3608	0.0625
Ésteres de ac. hidroxicinámicos	-0.1263	-0.2222
Flavanoles	0.3865	0.1978
Taninos totales	0.3643	-0.2128
Flavonoles	0.3413	0.3691
Polímeros	0.3919	0.1312
Polímeros coloreados	-0.3558	0.3376

Tabla 6.4. Autovectores obtenidos para el análisis multivariante de componentes principales de los dos vinos comerciales y de los cuatro vinos elaborados tras secado en cámara de las uvas, en función de la composición fenólica.

Considerando que con los anteriores análisis estadísticos se ha podido comprobar la clara diferenciación entre los vinos comerciales y los vinos elaborados tras secado en cámara de las uvas y maceración, se procedió a realizar un análisis discriminante, que permitió conocer las variables que más influyeron en esta separación. Para llevar a cabo el análisis, se desestimaron las coordenadas CIELAB  $b^*$  y  $L^*$ , así como la concentración de ácidos hidroxibenzoicos, ya que se había visto en los análisis de componentes principales anteriores, que estos parámetros no contribuían a diferenciar los vinos según el método de pasificación de las uvas.

Los resultados obtenidos en el análisis discriminante, permitieron seleccionar una función discriminante con valor propio superior a la unidad (tabla 6.4).

<i>Función discriminante</i>	<i>Valor propio</i>	<i>Porcentaje relativo</i>	<i>Correlación canónica</i>	<i><math>\lambda</math> de Wilks</i>	<i>p</i>	<i>Chi-cuadrado</i>
1	1.89	100	1.00000	$5.29 \cdot 10^{-7}$	0.0000	130.1

Tabla 6.4. Función obtenida para el análisis discriminante según los parámetros de color y composición fenólica de los vinos comerciales y vinos obtenidos tras pasificación en cámara de las uvas y maceración.

Los coeficientes estandarizados obtenidos para cada variable según la función discriminante se representan en la figura 6.17, donde puede observarse que el %rojo (364.6) y el %amarillo (277.6) fueron los parámetros que más discriminaron a los dos grupos de vinos en función de su método de vinificación. El tercer parámetro más

importante de discriminación sería el %azul, con un coeficiente estandarizado de 61.3, indicando que los vinos estudiados se diferenciaban de los vinos comerciales fundamentalmente de acuerdo a su diferente color. En cuanto a la composición fenólica, podrían tenerse en cuenta como factores discriminantes, las concentraciones de taninos totales (40.5), flavonoles (-15.0), polímeros (7.82) y antocianos (7.25).

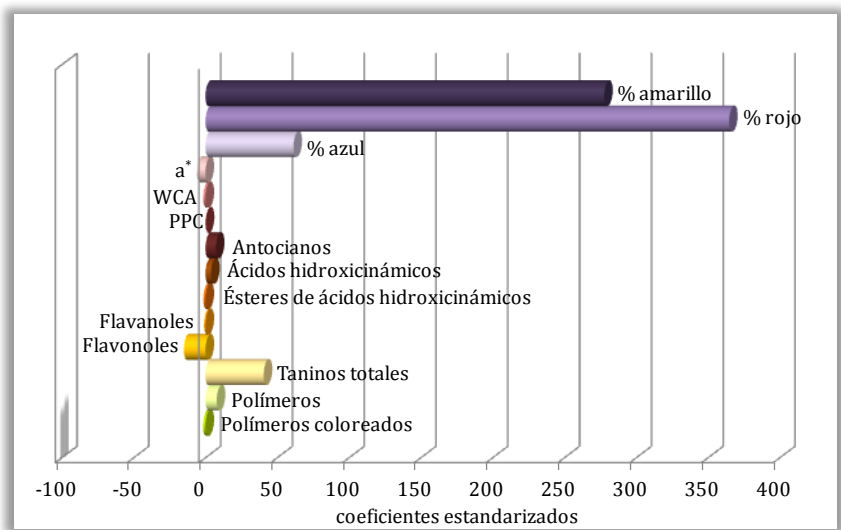


Figura 6.17. Coeficientes estandarizados para los parámetros de color y composición fenólica obtenidos en el análisis discriminante.

## CONCLUSIONES/CONCLUSIONS

### Conclusiones

Tras realizar una comparación de los parámetros de color y composición fenólica de los vinos elaborados tras secado en cámara de uvas de las variedades Merlot, Syrah, Tempranillo y Cabernet Sauvignon con respecto a dos vinos tintos dulces comerciales, elaborados por pasificación de las uvas al sol, pueden extraerse las siguientes conclusiones:

1. El índice de pardeamiento para los dos vinos comerciales (9.06 y 5.83 u.a.) fueron muy superiores a los correspondientes a los vinos de las cuatro variedades estudiadas (valores inferiores a 3.2 u.a.), indicando que el proceso de pasificación al sol favorece la síntesis de compuestos pardos, por las condiciones en las cuales se desarrolla, fundamentalmente por las bruscas oscilaciones de temperatura. Cuando la temperatura es elevada, tiene lugar una evaporación continua de agua desde las bayas que evita la entrada de oxígeno y consecuentemente las reacciones de oxidación, y cuando la temperatura desciende se posibilita que el oxígeno ambiental penetre y se solubilice en las uvas, favoreciendo así las reacciones de pardeamiento.
2. La absorbancia a 520 nm fue inferior para los dos vinos comerciales que para los cuatro vinos tras secado en cámara de las uvas, midiéndose en los últimos porcentajes de color rojo superiores al doble que los calculados para los vinos tras pasificación tradicional. Los vinos comerciales presentaron una inferior viveza de color y un mayor amarilleamiento que los vinos obtenidos de uvas secadas en condiciones controladas.
3. En la composición fenólica de los vinos comerciales, se encontró una ausencia de antocianos, por lo que el color rojo de estos vinos no es debido a estos compuestos, sino en parte a la presencia de polímeros coloreados de alto peso molecular, y en parte a la elevada concentración de compuestos pardos que, aun teniendo su máximo de absorción a 420 nm, contribuyen en gran medida a la absorbancia a 520 nm.
4. Las concentraciones de ácidos hidroxibenzoicos y de ésteres de ácidos hidroxicinámicos de los vinos comerciales fueron similares a los elaborados por secado en cámara de las uvas, pero en los primeros se identificaron los ácidos hidroxicinámicos cafeico, *p*-cumárico y ferúlico, que no estaban presentes en los vinos restantes.
5. La fracción de flavan-3-oles de los vinos elaborados a partir de uvas secadas en cámara estuvo compuesta por muchos más compuestos y en concentraciones superiores que las registradas en los vinos comerciales, lo que podría ser debido a que éstos compuestos fueron importantes sustratos en reacciones de polimerización y/o degradación durante la pasificación al sol o en la vinificación posterior de dichos vinos. Sin embargo, los vinos comerciales presentaron concentraciones superiores de taninos totales, especialmente el vino 1, lo que daría lugar a una mayor astringencia de estos vinos.



6. En la familia de flavonoles, los vinos comerciales sólo presentaron agliconas debido a que los flavonoles glicosilados se habrían hidrolizado durante la vinificación y se midieron concentraciones de compuestos poliméricos muy inferiores a los correspondientes a los vinos de uvas pasificadas en cámara, debido posiblemente por la precipitación de los compuestos de mayor peso molecular durante la vinificación y estabilización posterior.

## **Conclusions**

L'étude comparative des paramètres de la couleur et de la composition phénolique des différents vins (Merlot, Syrah, Tempranillo, Cabernet Sauvignon) élaborés après le séchage des raisins en chambre et des deux vins rouges doux commerciaux produits après le passerillage des raisins au soleil, les conclusions suivantes peuvent être révélés :

1. L'indice de brunissement était plus élevé pour les deux vins commerciaux (9.06 y 5.83 u.a.) que pour les vins des quatre cépages étudiés (valeurs inférieures à 3.2 u.a.), indiquant que le séchage au soleil favorise la synthèse des composés bruns. Ça pourrait être attribué aux conditions de développement du séchage au soleil et, surtout, aux fluctuations de température. Une température élevée, favorise l'évaporation continue de l'eau des baies, évitant l'entrée d'oxygène et par conséquent, les réactions d'oxydation. La diminution de la température rend possible la pénétration de l'oxygène de l'ambiance et sa solubilisation dans les raisins, favorisant les réactions de brunissement.
2. L'absorbance à 520 nm a été plus faible pour les deux vins commerciaux que pour les quatre vins élaborés après le séchage des raisins en chambre. Les derniers ont présenté des pourcentages de la couleur rouge deux fois plus que les autres. Par contre, les vins commerciaux présentaient une couleur moins vivante et un jaunissement plus important.
3. Les vins commerciaux ont démontré un déficit d'anthocyanes. En conséquence, la couleur rouge de ces vins est liée à la présence de polymères colorés de grands poids moléculaires et aux composés bruns avec le maximum d'absorption à 420 nm, mais qui contribuent en grande partie à l'absorbance à 520 nm.
4. Pas des différences significatives au niveau des teneurs d'acides hydroxybenzoïques et d'esters d'acides hydroxycinnamiques ont été trouvées entre les vins commerciaux et les autres vins. Les acides hydroxycinnamiques caféique, p-coumarique et férulique ont été identifiés seulement dans les premiers.
5. La fraction de flavan-3-ols des vins élaborés à partir des raisins séchés en chambre étaient plus riche que celle présentée dans les vins commerciaux. Cette différence pourrait s'attribuer au fait que ces composés seraient des substrats des réactions de polymérisation et/ou de dégradation pendant le

passerillage au soleil ou même au cours de la vinification. Cependant, les vins commerciaux ont présenté des concentrations plus élevées de tanins totaux, en particulier le vin 1, qui en parallèle était perçu comme le plus astringent.

6. Par rapport à la famille des flavonoles, les vins commerciaux ont montré seulement des aglycones, résultantes de l'hydrolyse des flavonols glycosylés au cours de la vinification. Aussi, les concentrations des composés polymériques ont été inférieures à celles des vins de raisins séchés en chambre, probablement due à la précipitation des composés de poids moléculaire importants.



## *Bibliografia*

---



1. Aguirre, M. J.; Isaacs, M.; Matsuhiro, B.; Mendoza, L.; Santos, L. S.; Torres, S. Anthocyanin composition in aged Chilean Cabernet Sauvignon red wines. *Food Chem.* **2011**, *129*, 514-519.
2. Ahmed, M. U.; Dunn, J. A.; Walla, M. D.; Thorpe, S. R.; Baynes, J. W. Identification of N( $\epsilon$ )-carboxymethyllysine as a degradation product of fructoselysine in glycated protein. *J. Biol. Chem.* **1986**, *263*, 8816-8821.
3. Alcalde-Eon, C.; Escribano-Bailón, M. T.; Santos-Buelga, C.; Rivas-Gonzalo, J. C. Separation of pyranoanthocyanins from red wine by column chromatography. *Anal. Chim. Acta* **2004**, *513*, 305-318.
4. Alcalde-Eon, C.; Escribano-Bailón, M. T.; Santos-Buelga, C.; Rivas-Gonzalo, J. Changes in the detailed pigment composition of red wine during maturity and ageing. A comprehensive study. *Anal. Chim. Acta* **2006**, *563*, 238-254.
5. Alcalde-Eon, C.; Escribano-Bailón, M. T.; Santos-Buelga, C.; Rivas-Gonzalo, J. C. Identification of dimeric anthocyanins and new oligomeric pigments in red wine by means of HPLC-DAD-ESI/ MSn. *J. Mass Spectrom.* **2007**, *42*, 735-748.
6. Alen-Ruiz, F.; García-Falcon, M. S.; Pérez-Lamela, M. C.; Martínez-Carballo, E.; Simal-Gandara, J. Influence of major polyphenols on antioxidant activity in Mencía and Brancellao red wines. *Food Chem.* **2009**, *113*, 53-60.
7. Alonso, A. M.; Domínguez, C.; Guillén, D. A.; Barroso, C. G. Determination of antioxidant power of red and white wines by a new electrochemical method and its correlation with polyphenolic content. *J. Agric. Food Chem.* **2002**, *50*, 3112-3115.
8. Amrani, J. K.; Glories, Y. Tanins et anthocyanes: Localisation dans les baies de raisin et mode d'extraction. *Revue Fr. Oenol.* **1995**, *153*, 28-31.
9. Andjelkovic, M.; Van Camp, J.; De Meulenaer, B.; Depaemelaere, G.; Socaciu, C.; Verloo, M.; Verhe, R. Iron-chelation properties of phenolic acids bearing catechol and galloyl groups. *Food Chem.* **2006**, *98*, 23-31.
10. Anet, E. F. L. J. Degradation of carbohydrates I. Isolation of 3-deoxyhexosones. *Aust. J. Chem.* **1960**, *13*, 396-403.
11. Angulo, O.; Fidelibus, M. W.; Heymann, H. Grape cultivar and drying method affect sensory characteristics. *J. Sci. Food Agric.* **2007**, *87*, 865-870.
12. Asenstorfer, R. E.; Hayasaka, Y.; Jones, G. P. Isolation and structures of oligomeric wine pigments by bisulfite-mediated ion-exchange chromatography. *J. Agric. Food Chem.* **2001**, *49*, 5957-5963.
13. Asenstorfer, R. E.; Markides, A. J.; Iland, P. G.; Jones, G. P. Formation of vitisin A during fermentation and maturation. *Aust. J. Grape Wine Res.* **2003**, *9*, 40-46.

14. Asenstorfer, R. E.; Lee, D. F.; Jones, G. P. Influence of structure on the ionisation constant of anthocyanins and anthocyanin-like wine pigments. *Anal. Chim. Acta.* **2006**, *563*, 10-14.
15. Atanasova, V.; Fulcrand, H.; Le Guernevé, C.; Cheynier, V.; Moutounet, M. Structure of new dimeric acetaldehyde malvidin-3-glucoside condensation product. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 6151-6153.
16. BOE. Orden de 22 de septiembre de 2004. Num. 242. Ed. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Madrid. **2004**.
17. BOJA. Orden de 30 de noviembre de 2011. Num. 249. Ed. Consejería de Agricultura y Pesca, Junta de Andalucía. Sevilla. **2011**.
18. Baiano, A.; Terracone, C.; Gambacorta, G.; La Notte, E. Phenolic content and antioxidant activity of primitivo wine: Comparison among winemaking technologies. *J. Food Sci.* **2009**, *74*, C258-C267.
19. Bakker, J. HPLC of anthocyanins in port wines: determination of ageing rates. *Vitis* **1986**, *25*, 203-214.
20. Bakker, J.; Preston, N. W.; Timberlake, C. F. The determination of anthocyanins in ageing red wines: comparison of HPLC and spectral methods. *Am. J. Enol. Vitic.* **1986**, *37*, 121-126.
21. Bakker, J.; Picinelli, A.; Bridle, P. Model wine solutions: Colour and composition changes during ageing. *Vitis* **1993**, *32*, 111-118.
22. Bakker, J.; Bridle, P.; Honda, T.; Kuwano, H.; Saito, N.; Terahara, N.; Timberlake, C.F. Identification of an anthocyanin occurring in some red wines. *Phytochemistry* **1997**, *44*, 1375-1382.
23. Bakker, J.; Timberlake, C. F. Isolation, identification, and characterization of new color-stable anthocyanins occurring in some red wines. *J. Agric. Food Chem.* **1997**, *45*, 35-43.
24. Bakker, J.; Bridle, P.; Bellworthy, S.; García-Viguera, C.; Reader, H.; Watkins, S. Effect of sulfur dioxide and must extraction on colour, phenolic composition and sensory quality of red table wine. *J. Sci. Food Agric.* **1998**, *78*, 297-307.
25. Baranowski, E. S.; Nagel, C. W. Kinetics of malvidin 3-glucoside condensation in model wine systems. *J. Food Sci.* **1983**, *48*, 419-421, 429.
26. Barbanti, D.; Mora, B.; Ferrarini, R.; Torielli, G. B.; Cipriani, M. Effect of various thermo-hygrometric conditions on the withering kinetics of grapes used for the production of "Amarone" and "Recioto" wines. *J. Food Eng.* **2008**, *85*, 350-358.
27. Bate-Smith, E. C.; Swain, T. Recent developments in the chemataxonomy of flavonoid compounds. *Lloydia* **1965**, *28*, 313-331.

28. Bautista-Ortín, A. B.; Lencina, A. G.; Cano-López, M.; Pardo-Mínguez, F.; López-Roca, J. M.; Gómez-Plaza, E. The use of oak chips during the ageing of a red wine in stainless steel tanks or used barrels: Effect of the contact time and size of the oak chips on aroma compounds. *Aust. J. Grape Wine Res.* **2008**, *14*, 63-70.
29. Belessiotis, V; Delyannis, E. Solar drying. *Solar Energy* **2011**, *85*, 1665-1691.
30. Bellicontro, A.; De Santis, D.; Botondi, R.; Villa, I.; Mencarelli, F. Different postharvest dehydration rates affect quality characteristics and volatile compounds of Malvasia, Trebbiano and Sangiovese grapes for wine production. *J. Sci. Food Agric.* **2004**, *84*, 1791-1800.
31. Bellincontro, A.; Nicoletti, I.; Valentini, M.; Tomas, A.; De Santis, D.; Corradini, D.; Mencarelli, F. Integration of nondestructive techniques with destructive analyses to study postharvest water stress of winegrapes. *Am. J. Enol. Vitic.* **2009**, *60*, 57-65.
32. Benabdeljalil, C.; Cheynier, V.; Fulcrand, H.; Hakiki, A.; Mosaddak, M., Moutounet, M. Mise en evidence de nouveaux pigments formés par reaction des anthocyanes avec des métabolites de levure. *Sci. Aliments* **2000**, *20*, 203-220.
33. Blouin, J. In: *Techniques d'analyses des moûts et des vins*. Blouin, J. Ed.; Dujardin-Salleron: Paris, **1992**.
34. Boido, E.; Alcalde-Eon, A.; Carrau, F.; Dellacassa, E.; Rivas-Gonzalo, J. C. Aging effect on the pigment composition and color of *Vitis vinifera* L. cv. Tannat wines. Contribution of the main pigment families to wine color. *J. Agric. Food Chem.* **2006**, *54*, 6692-6704.
35. Borrelli, R. C.; Visconti, A.; Mennella, C.; Anese, M.; Fogliano, V. Chemical characterization and antioxidant properties of coffee melanoidinas. *J. Agric. Food Chem.* **2002**, *50*, 6527-6533.
36. Boulton R.B.; Singleton, V. L.; Bisson, L. F.; Kunkee R. E. In: *Principles and practices of winemaking*. Chapman & Hall: New York, **1996**.
37. Boulton, R. The copigmentation of anthocyanins and its role in the color of red wine: a critical review. *Am. J. Enol. Vitic.* **2001**, *52*, 67-87.
38. Bozalongo, R.; Carrillo, J. D.; Fernández-Torroba, M. A.; Tena, M. T. Analysis of French and American oak chips with different toasting degrees by headspace solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* **2007**, *1173*, 10-17.
39. Breksa, A. P. ; Takeoka, G. R.; Hidalgo, M. B.; Vilches, A.; Vasse, J.; Ramming, D. W. Antioxidant activity and phenolic content of 16 raisin grape (*Vitis vinifera* L.) cultivars and selections. *Food Chem.* **2010**, *121*, 740-745.



40. Brouillard, R.; Dangles, O. Anthocyanin molecular interactions: the first step in the formation of new pigments during wine aging? *Food Chem.* **1994**, *54*, 365-371.
41. Broussaud, F.; Cheynier, V.; Asselin, C.; Moutounet, M. Flavonoid compositional differences of grapes among site test plantings of Cabernet franc. *Am. J. Enol. Vitic.* **1999**, *50*, 277-284.
42. Broussaud, F.; Cheynier, V.; Noble, A. C. Bitterness and astringency of grape and wine polyphenols. *Aust. J. Grape Wine Res.* **2001**, *7*, 33-39.
43. Brownlee, M.; Vlassara, H.; Cerami, A. Nonenzymatic glycosylation and the pathogenesis of diabetic complications. *Ann. Intern. Med.* **1984**, *101*, 527-537.
44. Budić-Leto, I.; Lovrić, T.; Kljusurić, J. G.; Pezo, I.; Vrhovšek, U. Anthocyanin composition of the red wine Babić affected by maceration treatment. *Eur. Food Res. Technol.* **2006**, *222*, 397-402.
45. Burns, J.; Gardner, P. T.; Matthews, D.; Duthie, G. G.; Lean, M. E. J.; Crozier, A. Extraction of phenolics and changes in antioxidant activity of red wines during vinification. *J. Agric. Food Chem.* **2001**, *49*, 5797-5808.
46. C.I.E. *Colourimetry. Publication of the International Commission on Illumination, 3<sup>th</sup> edition.* **2004**. Vienna, Austria.
47. Cabrita, L.; Fossen, T.; Andersen, O. M. Colour and stability of the six common anthocyanidin 3-glucosides in aqueous solutions. *Food Chem.* **2000**, *68*, 101-107.
48. Cacho, J.; Castells, J. E.; Esteban, A.; Laguna, B.; Sagristá, N. Iron, copper, and manganese influence on wine oxidation. *Am. J. Enol. Vitic.* **1995**, *46*, 380-384.
49. Câmara, J. S.; Alves, M. A.; Marqués, J. C. Changes in volatile composition of Madeira wines during their oxidative ageing. *Anal. Chim. Acta* **2006**, *563*, 188-197.
50. Cameira Dos Santos, P. J.; Brillouet, J. M.; Cheynier, V.; Moutounet, M. Detection and partial characterisation of new anthocyanin derived pigments in wine. *J. Sci. Food Agric.* **1996**, *70*, 204-208.
51. Cammerer, B.; Jalyschko, W.; Kroh, L. W. Intact carbohydrate structures as part of the melanoidin skeleton. *J. Agric. Food Chem.* **2002**, *50*, 2083-2087.
52. Campo, E.; Ferreira, V.; Escudero, A.; Marqués, J.; Cacho, J. Quantitative gas chromatography-olfactometry and chemical quantitative study of the aroma of four Madeira wines. *Anal. Chim. Acta* **2006**, *563*, 180-187.
53. Canals, R.; Llaudy, D.; Valls, J.; Canals, J. M.; Zamora, F. Influence of ethanol concentration on the extraction of color and phenolic compounds from the skin

- and seeds of Tempranillo grapes at different stages of ripening. *J. Agric. Food Chem.* **2005**, *53*, 4019-4025.
54. Cano-López, M.; Bautista-Ortín, A. B.; Pardo-Mínguez, F.; López-Roca, J. M.; Gómez-Plaza, E. Sensory descriptive analysis of a red wine aged with oak chips in stainless steel tanks or used barrels: Effect of the contact time and size of the oak chips. *J. Food Qual.* **2008**, *31*, 645-660.
55. Cao, S. Q.; Liu, L.; Pan, S. Y.; Lu, Q.; Xu, X. Y. A Comparison of two determination methods for studying degradation kinetics of the major anthocyanins from blood orange. *J. Agric. Food Chem.* **2009**, *57*, 245-249.
56. Carando, S.; Teissedre, P. L.; Pascual-Martínez, L.; Cabanis, J. C. Levels of flavan-3-ols in French wines. *J. Agric. Food Chem.* **1999**, *47*, 4161-4166.
57. Carvalho, A. R. F.; Oliveira, J.; De Freitas, V.; Mateus, N.; Melo, A. Unusual color change of vinylpyranoanthocyanin-phenolic pigments. *J. Agric. Food Chem.* **2010**, *58*, 4292-4297.
58. Casassa, F.; Catania, C. Piranoantocianos, nuevos pigmentos en los vinos tintos. *Enología* **2006**, *3*, 1-23.
59. Castagnino, C.; Vercauteren, J. Castavinol, a new series of polyphenols from Bordeaux red wines. *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 7739-7742.
60. Castillo, J.; Benavente-García, O.; Lorente, J.; Alcaraz, M.; Redondo, A.; Ortuño, A.; Del Rio, J. A. Antioxidant activity and radioprotective effects against chromosomal damage induced in vivo by X-rays of flavan-3-ols (Procyanidins) from grape seeds (*Vitis vinifera*): comparative study versus other phenolic and organic compounds. *J. Agric. Food Chem.* **2000**, *48*, 1738-1745.
61. Castillo-Muñoz, N.; Gómez-Alonso, S.; García-Romero, E.; Hermosín-Gutiérrez, I. Flavonol profiles of *Vitis vinifera* red grapes and their single-cultivar wines. *J. Agric. Food Chem.* **2007**, *55*, 992-1002.
62. Castillo-Muñoz, N.; Fernández-González, M.; Gómez-Alonso, S.; García-Romero, E.; Hermosín-Gutiérrez, I. Red-color related phenolic composition of Garnacha Tintorera (*Vitis vinifera* L.) grapes and red wines. *J. Agric. Food Chem.* **2009a**, *57*, 7883-7891.
63. Castillo-Muñoz, N.; Gómez-Alonso, S.; García-Romero, E.; Gómez, M. V.; Verders, A. H.; Hermosín-Gutiérrez, I. Flavonol 3-O-glycosides series of *Vitis vinifera* cv. Petit Verdot red wine grapes. *J. Agric. Food Chem.* **2009b**, *57*, 209-219.
64. Castillo-Sánchez, J. X.; García-Falcon, M. S.; Garrido, J.; Martínez-Carballo, E.; Martins-Dias, L. R.; Mejuto, X. C. Phenolic compounds and colour stability of Vinhão wines: Influence of wine-making protocol and fining agents. *Food Chem.* **2008**, *106*, 18-26.

65. Cejudo-Bastante, M. J.; Hermosín-Gutiérrez, I.; Pérez-Coello, M. S. Micro-oxygenation and oak chip treatments of red wines: Effects on colour-related phenolics, volatile composition and sensory characteristics. Part II: Merlot wines. *Food Chem.* **2011**, *124*, 738-748.
66. Chassaing, S.; Isorez, G.; Kueny-Stotz, M.; Brouillard, R. En route to color-stable pyranoflavylum pigments-a systematic study of the reaction between 5-hydroxy-4-methylflavylum salts and aldehydes. *Tetrahedron Lett.* **2008**, *49*, 6999-7004.
67. Chatonnet, P.; Dubourdieu, D.; Boidron, J.; Lavigne, V. Synthesis of volatile phenols by *Saccharomyces cerevisiae* in wines. *J. Sci. Food Agric.* **1993**, *62*, 191-202.
68. Cheminat, A; Brouillard, R. PMR investigation of 3-O-( $\beta$ -d-glucosyl)malvidin structural transformations in aqueous solutions. *Tetrahedron Lett.* **1986**, *27*, 4457-4460.
69. Cheynier, V.; Rigaud, J. HPLC separation and characterization of flavonols in the skins of *Vitis vinifera* var. Cinsault. *Am. J. Enol. Vitic.* **1986**, *37*, 248-252.
70. Cheynier, V.; Trousdale, E. K.; Singleton, V. L.; Salgues, M. J.; Wylde, R. characterization of 2-S-glutathionylcaftaric acid and its hydrolysis in relation to grape wines. *J. Agric. Food Chem.* **1986**, *34*, 217-221.
71. Cheynier, V.; Van Hulst, M. W. J. Oxidation of *trans*-caftaric acid and 2-S-glutathionylcaftaric acid in model solutions. *J. Agric. Food Chem.* **1988**, *36*, 10-15.
72. Cheynier, V.; Basire, N.; Rigaud, J. Mechanism of *trans*-caffeoyltartaric acid and catechin oxidation in model solutions containing grape polyphenoloxidase. *J. Agric. Food Chem.* **1989**, *37*, 1069-1071.
73. Cheynier, V.; Ricardo Da Silva, J. M. Oxidation of grape procyanidins in model solution containing *trans*-caffeoyl tartaric acid and polyphenoloxidase. *J. Agric. Food Chem.* **1991**, *39*, 1047-1049.
74. Cheynier, V.; Moutounet, M. Oxidative reactions of caffeic acid in model systems containing polyphenol oxidase. *J. Agric. Food Chem.* **1992**, *40*, 2038-2044.
75. Cheynier, V.; Fulcrand, H.; Guyot, S.; Oszmianski, J.; Moutounet, M. Reactions of enzymically generated quinones in relation to browning in grape musts and wines. In: *Enzymatic browning and its prevention*. Lee, C. Y.; Whitaker, J. R., Eds. American Chemical Society: Wahington, D. C. **1995**, *600*, 130-143.
76. Cheynier, V.; Moutounet, M.; Sarni-Manchado, P. Les composés phénoliques. In: *Oenologie, fondements scientifiques et technologiques*. Flazy, C., Ed.; Lavoissier Tec&Doc: Paris, **1998**, pp. 124-164.

77. Chinnici, F.; Sonni, F.; Natali, N.; Galassi, S.; Riponi, C. Colour features and pigment composition of Italian carbonic macerated red wines. *Food Chem.* **2009**, *113*, 651-657.
78. Chira, K.; Jourdes, M.; Teissedre, P. L. Cabernet sauvignon red wine astringency quality control by tannin characterization and polymerization during storage. *Eur. Food Res. Technol.* **2012**, *234*, 253-261.
79. Chkaiban, L.; Botondi, R.; Bellincontro, A.; De Santis, D.; Kefalas, P.; Mencarelli, F. Influence of postharvest water stress on lipoxygenase and alcohol dehydrogenase activities, and on the composition of some volatile compounds of Gewürztraminer grapes dehydrated under controlled and uncontrolled thermohygro-metric conditions. *Aust. J. Grape Wine Res.* **2007**, *13*, 142-149.
80. Chuyen, N. V. Toxicity of the AGEs generated from the Maillard reaction: On the relationship of food-AGEs and biological-AGEs. *Molec. Nutr. Food Res.* **2006**, *50*, 1140-1149.
81. Ciolino, H. P.; Dashner, P. J.; Yeh, G. C. Resveratrol inhibits transcription of CYP1A1 *in vitro* by preventing activation of the aryl hydrocarbon effector. *Cancer Res.* **1998**, *58*, 5707-5712.
82. Cisse, M.; Vaillant, F.; Dornier, M.; Acosta, O.; Dhuique-Mayer, C. Thermal degradation kinetics of anthocyanins from blood orange, blackberry and roselle, using the Arrhenius, Eyring and Ball models. *J. Agric. Food Chem.* **2009**, *57*, 6285-6291.
83. Clark, A. C.; Prenzler, P. D.; Scollary, G. R. The role of copper (II) in the bridging reactions of (+)-catechin by glyoxylic acid in a model white wine. *J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51*, 6204-6210.
84. Clary, C. D.; Wang, S.; Petrucci, V. E. Fixed and incremental levels of microwave power application on drying grapes under vacuum. *J. Food Sci.* **2005**, *70*, E344-E349.
85. Clary, C.; Gamache, A.; Cliff, M.; Fellman, J.; Edwards, C. Flavor and aroma attributes of riesling wines produced by freeze concentration and microwave vacuum dehydration. *J. Food Process. Preserv.* **2006**, *30*, 393-406.
86. Clary, C. D.; Mejia-Meza, E.; Wang, S.; Petrucci, V. E. Improving grape quality using microwave vacuum drying associated with temperature control. *J. Food Sci.* **2007**, *72*, E23-E28.
87. Cliff, M.; Yuksel, D.; Girard, B.; King, M. Characterization of canadian ice wines by sensory and compositional analyses. *Am. J. Enol. Vitic.* **2002**, *53*, 46-53.
88. Comunidad Europea. Diario Oficial L272 de Octubre de 1990. *Ed. Mundi Prensa* **1990**. Madrid.

89. Comunidad Europea. Diario Oficial L280 de Octubre de 2006. *Ed. Mundi Prensa 2006*. Madrid.
90. Comunidad Europea. Diario Oficial L148 de Junio de 2008. *Ed. Mundi Prensa 2008*. Madrid.
91. Coninck, G.; Jordao, A. M.; Ricardo Da Silva, J. M.; Laureano, O. Evolution on phenolic composition and sensory properties in red wine aged in contact with Portuguese and French oak wood chips. *J. Int. Sci. Vigne Vin* **2006**, *40*, 25-34.
92. Cortés, S.; Salgado, J. M.; Rivas, B.; Torrado, A. M.; Domínguez, J. M. Fermentation kinetics and chemical characterisation of Vino Tostado, a traditional sweet wine from Galicia (NW Spain). *J. Sci. Food Agric.* **2010**, *90*, 121-131.
93. Costantini, V.; Bellincontro, A.; De Santis, D.; Botondi, R.; Mencarelli, F. Metabolic changes of Malvasia grapes for wine production during postharvest drying. *J. Agric. Food Chem.* **2006**, *54*, 3334-3340.
94. Cotoras, M.; García, C.; Lagos, C.; Folch, C.; Mendoza, L. Antifungal activity on *Botrytis cinerea* of flavonoids and diterpenoids isolated from the surface of *Pseudognaphalium* spp. *Bol. Soc. Chil. Quim.* **2001**, *46*, 433-440.
95. Crowell, E. A.; Ough, C. S. A modified procedure for alcohol determination by dichromate oxidation. *Am. J. Enol. Vitic.* **1979**, *30*, 61-63.
96. Cruz, L.; Borges, E.; Silva, A. M. S.; Mateus, N.; De Freitas, V. Synthesis of a new (+)-catechin-derived compound: 8-vinylcatechin. *Lett. Org. Chem.* **2008a**, *5*, 530-536.
97. Cruz, L.; Teixeira, N.; Silva, A. M. S.; Mateus, N.; Borges, J.; De Freitas, V. Role of vinylcatechin in the formation of pyranomalvidin-3-glucoside-(+)-catechin. *J. Agric. Food Chem.* **2008b**, *56*, 10980-10987.
98. Cruz, L.; Petrov, V.; Teixeira, N.; Mateus, N.; Pina, F.; De Freitas, V. Establishment of the chemical equilibria of different types of pyranoanthocyanins in aqueous solutions: evidence for the formation of aggregation in pyranomalvidin-3-O-coumaroylglucoside-(+)-catechin. *J. Phys. Chem. B* **2010**, *114*, 13232-13240.
99. Cunha, S. C.; Faria, M. A.; Fernandes, J. O. Gas chromatography-mass spectrometry assessment of amines in port wine and grape juice after fast chloroformate extraction/derivatization. *J. Agric. Food Chem.* **2011**, *59*, 8742-8753.
100. Cutzach, I.; Chatonnet, P.; Henry, R.; Pons, M.; Dubourdieu, D. Study in aroma of sweet natural non muscat wines 2nd part: Quantitative analysis of volatil compounds taking part in aroma of sweet natural wines during ageing. *J. Int. Sci. Vigne Vin* **1998**, *32*, 211-221.

101. Cutzach, I.; Chatonnet, P.; Henry, R.; Dubourdieu, D. Identifying new volatile compounds in toasted oak. *J. Agric. Food Chem.* **1999**, *47*, 1663-1667.
102. Da Costa, C. T.; Nelson, B. C.; Margolis, S. A.; Horton, D. Separation of blackcurrant anthocyanins by capillary zone electrophoresis. *J. Chromatogr. A* **1998**, *799*, 321-327.
103. Dallas, C.; Hipólito-Reis, P.; Ricardo Da Silva, J. M.; Laureano, O. Influence of acetaldehyde, pH, and temperature on transformation of procyanidins in model wine solutions. *Am. J. Enol. Vitic.* **2003**, *54*, 119-124.
104. Dallas, C.; Ricardo Da Silva, J. M.; Laureano, O. Degradation of oligomeric procyanidins and anthocyanins in a Tinta Roriz red wine during maturation. *Vitis*, **1995**, *34*, 51-56.
105. Dallas, C.; Ricardo Da Silva, J. M.; Laureano, O. Interactions of oligomeric procyanidins in model wine solutions containing malvidin-3-glucoside and acetaldehyde. *J. Sci. Food Agric.* **1996a**, *70*, 493-500.
106. Dallas, C.; Ricardo Da Silva, J. M.; Laureano, O. Products formed in model wine solutions involving anthocyanins, procyanidin B2 and acetaldehyde. *J. Agric. Food Chem.* **1996b**, *44*, 2402-2407.
107. Danilewicz, J. C. Review of reaction mechanisms of oxygen and proposed intermediate reduction products in wine: Central role of iron and copper. *Am. J. Enol. Vitic.* **2003**, *54*, 73-85.
108. Danilewicz, J. C.; Seccombe, J. T.; Whelan, J. Mechanism of interaction of polyphenols, oxygen, and sulfur dioxide in model wine and wine. *Am. J. Enol. Vitic.* **2008**, *59*, 128-136.
109. Darias-Martín, J.; Carrillo, M.; Diaz, E.; Boulton, R. Enhancement of red wine colour by pre-fermentation addition of copigments. *Food Chem.* **2001**, *73*, 217-220.
110. Darias-Martín, J.; Carrillo-López, M.; Echevarri-Granado, J. F.; Díaz-Romero, C. The magnitude of copigmentation in the color of aged red wines made in the Canary Islands. *Eur. Food Res. Technol.* **2007**, *224*, 643-648.
111. Davies, A. J.; Mazza, G. Copigmentation of simple and acylated anthocyanins with colorless phenolic compounds. *J. Agric. Food Chem.* **1993**, *41*, 716-720.
112. De Beer, D.; Joubert, E.; Marais, J.; Du Toit, W.; Fourie, B.; Manley, M. Characterisation of Pinotage wine during maturation on different oak products. *S. Afr. J. Enol. Vitic.* **2008**, *29*, 39-49.

113. De Freitas, V. A. P.; Glories, Y.; Monique, A. Developmental changes of procyanidins in grapes of red *Vitis vinifera* varieties and their composition in respective wines. *Am. J. Enol. Vitic.* **2000**, *51*, 397-403.
114. De Freitas, V.; Mateus, N. Structural changes of anthocyanins during red wine aging: Portisins: A new class of blue anthocyanin-derived pigments. *ACS Symposium Series* **2004**, *886*, 160-178.
115. De Freitas, V.; Mateus, N. Formation of pyranoanthocyanins in red wines: a new and diverse class of anthocyanin derivatives. *Anal. Bioanal. Chem.* **2011**, *401*, 1467-1477.
116. De Villiers, A.; Vanhoenacker, G.; Majek, P.; Sandra, P. Determination of anthocyanins in wine by direct injection liquid chromatography-diode array detection-mass spectrometry and classification of wines using discriminant analysis. *J. Chromatogr. A* **2004**, *1054*, 195-204.
117. De Wijk, R. A.; Prinz, J. F. The role of friction in perceived oral texture. *Food Qual. Prefer.* **2005**, *16*, 121-129.
118. Del Álamo, M.; Nevares, I.; Gallego, L.; Martín, C.; Merino, S. Ageing markers from bottled red wine aged with chips, staves and barrels. *Anal. Chim. Acta* **2008**, *62*, 86-99.
119. Del Álamo, M.; Nevares, I.; Gallego, L.; Fernández de Simón, B.; Cadahía, E. Micro-oxygenation strategy depends on origin and size of oak chips or staves during accelerated red wine aging. *Anal. Chim. Acta* **2010**, *660*, 92-101.
120. Del Álamo-Sanza, M.; Fernández-Escudero, J. A. F.; Castro-Torío, R. Changes in phenolic compounds and color parameters of red wine aged in oak chips and in oak barrels. *Food Sci. Technol. Int.* **2004**, *10*, 233-241.
121. Del Álamo-Sanza, M.; Nevares Domínguez, I. Wine aging in bottle from artificial systems (staves and chips) and oak woods. Anthocyanin composition. *Anal. Chim. Acta* **2006**, *563*, 255-263.
122. Delgado-Andrade, C.; Seiquer, I.; Haro, A.; Castellano, R. Development of the Maillard reaction in foods cooked by different techniques. Intake of Maillard-derived compounds. *Food Chem.* **2010**, *122*, 145-153.
123. Dellaglio, F.; Zapparoli, F.; Malacrino, P.; Suzzi, G.; Torriani, S. *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* and *Saccharomyces cerevisiae* succession during spontaneous fermentations of Recioto and Amarone wines. *Annals Microb.* **2003**, *53*, 411-425.
124. Di Mattia, C.; Sacchetti, G.; Seghetti, L.; Piva, A.; Mastrocola, D. "Vino cotto" composition and antioxidant activity as affected by non enzymatic browning. *Ital. J. Food Sci.* **2007**, *19*, 413-424.

125. Dimitrovska, M.; Bocevska, M.; Dimitrovski, D.; Murkovic, M. Anthocyanin composition of Vranec, Cabernet Sauvignon, Merlot and Pinot Noir grapes as indicator of their varietal differentiation. *Eur. Food Res. Technol.* **2011**, *232*, 591-600.
126. Doco, T.; Brillouet, J. M.; Moutounet, M. Evolution of Grape (Carignan noir cv.) and yeast polysaccharides during fermentation and post-maceration. *Am. J. Enol. Vitic.* **1996**, *47*, 108-110.
127. Dominizio, P.; Lencioni, L.; Ciani, M.; Di Blasi, S.; Pontremolesi, C.; Sabatelli, M. P. Spontaneous and inoculated yeast populations dynamics and their effect on organoleptic characters of Vinsanto wine under different process conditions. *Int. J. Food Microbiol.* **2007**, *115*, 281-289.
128. Dominizio, P.; Manazzu, I.; Ciani, M. Impact of mother sediment on yeast growth, biodiversity, and ethanol production during fermentation of Vinsanto wine. *Int. J. Food Microbiol.* **2009**, *129*, 83-87.
129. Domizio, P.; Lencioni, L. Vin Santo. *Adv. Food Nutr. Res.* **2011**, *63*, 41-100.
130. Drusch, S.; Faist, V.; Erbersdobler, H. F. Determination of N<sup>ε</sup>-carboxymethyllysine in milk products by a modified reversed-phase HPLC method. *Food Chem.* **1999**, *65*, 547-553.
131. Ekechukwu, O. V. Review of solar-energy drying systems I: an overview of drying principles and theory. *Energy Conversion Manag.* **1999**, *40*, 593-613.
132. Elattar, T. M.; Virji, A. S. Modulating effect of resveratrol and quercetin on oral cancer cell growth and proliferation. *Anticancer Drugs*, **1999**, *10*, 187-193.
133. El-Sebaei, A. A.; Abdul-Enein, S.; Ramdan, M. R. I.; El-Gohary, H. G. Experimental investigation of an indirect type natural convection solar dryer. *Energy Conversion Manag.* **2002**, *43*, 2251-2266.
134. Escribano-Bailón, M. T.; Gutiérrez-Fernández, Y.; Rivas-Gonzalo, J. C.; Santos-Buelga, C. Characterization of procyanidins of *Vitis vinifera* variety Tinta del País grape seeds. *J. Agric. Food Chem.* **1992**, *40*, 1794-1799.
135. Escribano-Bailón, M. T.; Guerra, M. T.; Rivas-Gonzalo, J. C.; Santos-Buelga, C. Proanthocyanidins in skins from different grape varieties. *Eur. Food Res. Technol.* **1995**, *200*, 221-224.
136. Escribano-Bailón, T.; Dangles, O.; Brouillard, R. Coupling reactions between flavylum ions and catechin. *Phytochemistry* **1996**, *41*, 1583-1592.
137. Escribano-Bailón, M. T.; Álvarez-García, M.; Rivas-Gonzalo, J. C.; Heredia, F. J.; Santos-Buelga, C. Color and stability of pigments derived from the



- acetaldehyde-mediated condensation between malvidin-3-*O*-glucoside and (+)-catechin. *J. Agric. Food Chem.* **2001**, *49*, 1213-1217.
138. Escudero, A.; Asensio, E.; Cacho, J.; Ferreira, V. Sensory and chemical changes of young white wines stored under oxygen. An assessment of the role played by aldehydes and some other important odorants. *Food Chem.* **2002**, *77*, 325-331.
139. Esmaili, M.; Sotudeh-Gharebagh, R.; Cronin, K.; Mousavi, M. A. E.; Rezazadeh, G. Grape drying: a review. *Food Rev. Int.* **2007**, *23*, 257-280.
140. Es-Safi, N. E.; Fulcrand, H.; Cheynier, V.; Moutounet, M. Competition between (+)-catechin and (-)-epicatechin in acetaldehyde-induced polymerization of flavanols. *J. Agric. Food Chem.* **1999a**, *47*, 2088-2095.
141. Es-Safi, N. E.; Fulcrand, H.; Cheynier, V.; Moutounet, M. Studies on the acetaldehyde-induced condensation of (-)-epicatechin and malvidin 3-*O*-glucoside in a model solution system. *J. Agric. Food Chem.* **1999b**, *47*, 2096-2102.
142. Es-Safi, N. E.; Le Guernevé, C.; Labarbe, B.; Fulcrand, H.; Cheynier, V.; Moutounet, M. Structure of a new xanthylum salt derivative. *Tetrahedron Lett.* **1999c**, *40*, 5869-5872.
143. Es-Safi, N. E.; Cheynier, V.; Moutounet, M. Study of the reactions between (+)-catechin and furfural derivatives in the presence or absence of anthocyanins and their implication in food color change. *J. Agric. Food Chem.* **2000a**, *48*, 5946-5954.
144. Es-Safi, N. E.; LeGuernevé, C.; Cheynier, V.; Moutounet, M. New phenolic compounds formed by evolution of (+)-catechin and glyoxylic acid in hydroalcoholic solution and their implication in color changes of grape-derived foods. *J. Agric. Food Chem.* **2000b**, *48*, 4233-4240.
145. Es-Safi, N. E.; LeGuernevé, C.; Fulcrand, H.; Cheynier, V.; Moutounet, M. Xanthylum salts formation involved in wine colour changes. *Int. J. Food Sci. Technol.* **2000c**, *35*, 63-74.
146. Es-Safi, N. E.; Cheynier, V.; Moutounet, M. Role of aldehydic derivatives in the condensation of phenolic compounds with emphasis on the sensorial properties of fruit-derived foods. *J. Agric. Food Chem.* **2002**, *50*, 5571-5585.
147. Es-Safi, N. E.; Cheynier, V.; Moutounet, M. Effect of copper on oxidation of (+)-catechin in a model solution system. *Int. J. Food Sci. Technol.* **2003a**, *38*, 153-163.
148. Es-Safi, N. E.; Cheynier, V.; Moutounet, M. Implication of phenolic reactions in food organoleptic properties. *J. Food Compos. Anal.* **2003b**, *16*, 535-553.

149. Eun, J. K.; Young, S. L.; Murata, M.; Homma, S. Effect of pH control on the intermediates and melanoidins of nonenzymatic browning reaction. *Food Sci. Technol.* **2005**, *38*, 1-6.
150. Fernández de Simón, B.; Cadahía, E.; Conde, E.; García-Vallejo, M. C. Low molecular weight organic compounds in Spanish oak woods. *J. Agric. Food Chem.* **1996**, *44*, 1507-1511.
151. Fernández de Simón, B.; Cadahía, E.; Del Álamo, M.; Nevares, I. Effect of size, seasoning and toasting in the volatile compounds in toasted oak wood and in a red wine treated with them. *Anal. Chim. Acta* **2010**, *660*, 211-220.
152. Fernández-Pachón, M. S.; Villaño, D.; Troncoso, A. M.; García-Parrilla, M. C. Determination of the phenolic composition of sherry and table white wines by liquid chromatography and their relation with antioxidant activity. *Anal. Chim. Acta* **2006**, *563*, 101-108.
153. Ferreira, V.; Escudero, A.; Fernández, P.; Cacho, J. F. Changes in the profile of volatile compounds in wines stored under oxygen and their relationship with the browning process. *Eur. Food Res. Technol.* **1997**, *205*, 392-396.
154. Figueiredo-González, M.; Martínez-Carballo, E.; Cancho-Grande, B.; Santiago, J. L.; Martínez, M. C.; Simal-Gandara, J. Pattern recognition of three *Vitis vinifera* L. red grapes varieties based on anthocyanin and flavonol profiles, with correlations between their biosynthesis pathways. *Food Chem.* **2012**, *130*, 9-19.
155. Flanzy, C. In: *Enología. Fundamentos científicos y tecnológicos*. Flanzy, C. Ed.; AMV Ediciones: Madrid, **2000**.
156. Fleischhut, J.; Kratzer, F.; Rechkemmer, G.; Kulling, S. E. Stability and biotransformation of various dietary anthocyanins in vitro. *Eur. J. Nutr.* **2006**, *45*, 7-18.
157. Fragoso, S.; Aceña, L.; Guasch, J.; Mestres, M.; Busto, O. Quantification of phenolic compounds during red winemaking using FT-MIR Spectroscopy and PLS-Regression. *J. Agric. Food Chem.* **2011**, *59*, 10795-10802.
158. Francia-Aricha, E. M.; Guerra, M. T.; Rivas-Gonzalo, J. C.; Santos-Buelga, C. New anthocyanin pigments formed after condensation with flavanols. *J. Agric. Food Chem.* **1997**, *45*, 2262-2266.
159. Francia-Aricha, E. M.; Rivas-Gonzalo, J. C.; Santos-Buelga, C. Effect of malvidin-3-monoglucoside on the browning of monomeric and dimeric flavanols. *Eur. Food Res. Technol.* **1998**, *207*, 223-228.
160. Frangipane, M. T.; Ceccarelli, A.; Mencarelli, F.; Anelli, G. Study of phenolic compounds in Aleatico grapes dried in a forced air tunnel. *Ital. J. Food Sci.* **2007a**, *19*, 203-206.

161. Frangipane, M. T.; De Santis, D.; Ceccarelli, A. Influence of oak woods of different geographical origins on the quality of wines aged in barriques and using oak chips. *Food Chem.* **2007b**, *103*, 46-54.
162. Frank, D.; Gould, I.; Millikan, M. Browning reactions during storage of low-moisture Australian sultanas: evidence for arginine-mediated Maillard reactions. *Aust. J. Grape Wine Res.* **2004**, *10*, 151-163.
163. Frankel, E. N.; Waterhouse, A. L.; Teissedre, P. L. Principal phenolic phytochemicals in selected California wines and their antioxidant activity in inhibiting oxidation of human low-density lipoproteins. *J. Agric. Food Chem.* **1995**, *43*, 890-894.
164. Fu, M. X.; Requena, J. R.; Jenkins, A. J.; Lyons, T. J.; Baynes, J. W. Thorpe, S. R. The advanced glycation end product, N<sup>ε</sup>-(carboxymethyl)lysine, is a product of both lipid peroxidation and glycoxidation reactions. *J. Biol. Chem.* **1996**, *271*, 9982-9986.
165. Fulcrand, H.; Cameira Dos Santos, P. J.; Sarni-Manchado, P.; Cheynier, V.; Favre-Bonvin, J. Structure of new anthocyanin-derived wine pigments. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1996**, *1*, 735-739.
166. Fulcrand, H.; Cheynier, V.; Oszmiansky, J.; Moutounet, M. An oxidized tartaric acid residue as a new bridge potentially competing with acetaldehyde in flavan-3-ol condensation. *Phytochemistry* **1997**, *46*, 223-227.
167. Fulcrand, H.; Benabdeljalil, C.; Rigaud, J.; Cheynier, V.; Moutounet, M. A new class of wine pigments generated by reaction between pyruvic acid and grape anthocyanins. *Phytochemistry* **1998**, *47*, 1401-1407.
168. Fulcrand, H.; Dueñas, M.; Salas, E.; Cheynier, V. Phenolic reactions during winemaking and ageing. *Am. J. Enol. Vitic.* **2006**, *57*, 289-297.
169. Fuleki, T.; Ricardo Da Silva, J. M. Catechin and procyanidin composition of seeds from grape cultivars grown in Ontario. *J. Agric. Food Chem.* **1997**, *45*, 1156-1160.
170. Furtado, P.; Figueiredo, P.; Neves, H. C. D.; Pina, F. Photochemical and thermal degradation of anthocyanidins. *J. Photochem. Photobiol., A* **1993**, *75*, 113-118.
171. Gabas, A. L.; Menegalli, F. C.; Telis-Romero, J. Effect of chemical pretreatment on the physical properties of dehydrated grapes. *Drying Technol.* **1999**, *17*, 1215-1226.
172. Gallego, L.; Del Álamo, M.; Nevares, I.; Fernández, J. A.; De Simón, B. F.; Cadahía, E. Phenolic compounds and sensorial characterization of wines aged with alternative to barrel products made of Spanish oak wood (*Quercus pyrenaica* Willd.). *Food Sci. Technol. Int.* **2012**, *18*, 151-165.

173. Gambacorta, C.; Antonacci, D.; Pati, S.; La Gatta, M.; Faccia, M.; Coletta, A.; La Notte, E. Influence of winemaking technologies on phenolic composition of Italian red wines. *Eur. Food Res. Technol.* **2011**, *233*, 1057-1066.
174. Gambuti, A.; Strollo, D.; Ugliano, M.; Lecce, L.; Moio, L. Trans-resveratrol, quercetin, (+)-catechin, and (-)-epicatechin content in south Italian monovarietal wines: Relationship with maceration time and marc pressing during winemaking. *J. Agric. Food Chem.* **2004**, *52*, 5747-5751.
175. Gao, L.; Girard, B.; Mazza, G.; Reynolds, A.G. Changes in anthocyanins and color characteristics of Pinot Noir wines during different vinification processes. *J. Agric. Food Chem.* **1997**, *45*, 2003-2008.
176. García-Carpintero, E. G.; Gómez Gallego, M. A.; Sánchez-Palomo, E.; González Viñas, M. A. Sensory descriptive analysis of Bobal red wines treated with oak chips at different stages of winemaking. *Aus. J. Grape Wine Res.* **2011**, *17*, 368-377.
177. García-Carpintero, E. G.; Gómez Gallego, M. A.; Sánchez-Palomo, E.; González Viñas, M. A. Impact of alternative technique to ageing using oak chips in alcoholic or in malolactic fermentation on volatile and sensory composition of red wines. *Food Chem.* **2012**, *134*, 851-863.
178. García-Falcón, M. S.; Pérez-Lamela, C.; Martínez-Carballo, E.; Simal-Gándara, J. Determination of phenolic compounds in wines: Influence of bottle storage of young red wines on their evolution. *Food Chem.* **2007**, *105*, 248-259.
179. García-Marino M.; Hernández-Hierro, J. M.; Rivas-Gonzalo J. C.; Escriban-Bailón, M. T. Colour and pigment composition of red wines obtained from co-maceration of Tempranillo and Graciano varieties. *Anal. Chim. Acta* **2010**, *660*, 134-142.
180. García-Puente Rivas, E.; Alcalde-Eon, C.; Santos-Buelga, C.; Rivas-Gonzalo, J. C.; Escribano-Bailón, M.T. Behaviour and characterisation of the colour during red wine making and maturation. *Anal. Chim. Acta* **2006**, *563*, 215-222.
181. García-Viguera, C.; Bridle, P. Influence of structure on colour stability of anthocyanins and flavylum salts with ascorbic acid. *Food Chem.* **1999**, *64*, 21-26.
182. Garrido, J.; Borges, F. Wine and grape polyphenols. A chemical perspective. *Food Res. Int.* **2011**, *44*, 3134-3148.
183. Gerbaux, V.; Briffox, C.; Vincent, B. Optimisation de la macération finale à chaud, intérêt d'un enzymage et d'une macération sous chapeau immergé pour la vinification du Pinot noir. *Rev. Fr. Oenol.* **2003**, *201*, 16-21.

184. Germán, J. B.; Frankel, E. N.; Waterhouse, A. L.; Hansen, R. J.; Walzem, R. L. Wine phenolics and targets of chronic disease. *ACS Symposium Series* **1997**, 661, 196-214.
185. Giovanelli, G. Evaluation of the antioxidant activity of red wines in relationship to their phenolic content. *Ital. J. Food Sci.* **2005**, 17, 381-393.
186. Glomb M. A.; Pfahler, C. Synthesis of 1-deoxy-D-erythro-hexo-2,3-diulose, a major hexose Maillard intermediate. *Carbohydr. Res.* **2000**, 329, 515-523.
187. Glomb, M. A.; Rosch, D.; Nagaraj, R. H N<sup>δ</sup>-(5-hydroxy-4,6- dimethylpyrimidine-2-yl)-L-ornithine, a novel methylglyoxal-arginine modification in beer. *J. Agric. Food Chem.* **2001**, 49, 366-372.
188. Glories, Y. La couleur des vins rouges. 2e. Partie: Mesure, origine et interpretation. *Conn. Vigne Vin* **1984**. 18, 4, 253-271.
189. Gómez, M.; Heredia, F. J. Effect of the maceration technique on the relationships between anthocyanin composition and objective color of Syrah wines. *J. Agric. Food Chem.* **2004**, 52, 5117-5123.
190. Gómez, M. E.; Igartuburu, J. M.; Pando, E.; Rodríguez Luis, F.; Mourente, G. Lipid composition of lees from Sherry wine. *J. Agric. Food Chem.* **2004**, 52, 4791-4794. (está en la introducción, en vin santo).
191. Gómez-Míguez, M.; González-Manzano, S.; Escribano-Bailón, M. T.; Heredia, F. J.; Santos-Buelga, C. Influence of different phenolic copigments on the color of malvidin 3-glucoside. *J. Agric. Food Chem.* **2006**, 54, 5422-5429.
192. Gómez-Míguez, M.; González-Miret, M. L.; Heredia, F. J. Evolution of colour and anthocyanin composition of Syrah wines elaborated with pre-fermentative cold maceration. *J. Food Eng.* **2007**, 79, 271-278.
193. Gómez-Plaza, E.; Gil-Muñoz, R.; López-Roca, J. M.; Martínez, A. Color and phenolic compounds of a young red wine. Influence of wine- making techniques, storage temperature, and length of storage time. *J. Agric. Food Chem.* **2000**, 48, 736-741.
194. Gómez-Plaza, E.; Gil-Muñoz, R.; López-Roca, J. M.; Martínez-Cutillas, A.; Fernández-Fernández, J. I. Phenolic compounds and color stability of red wines: effect of skin maceration time. *Am. J. Enol. Vitic.* **2001**, 52, 266-270.
195. González-Manzano, S.; Rivas-Gonzalo, J. C.; Santos-Buelga, C. Extraction of flavan-3-ols from grape seed and skin into wine using simulated maceration. *Anal. Chim. Acta.* **2004**, 513, 283-289.
196. González-Neves, G.; Franco, J.; Barreiro, L.; Gil, G.; Moutounet, M.; Carbonneau, A. Varietal differentiation of Tannat, Cabernet-Sauvignon and Merlot grapes

- and wines according to their anthocyanic composition. *Eur. Food Res. Technol.* **2007**, *225*, 111-117.
197. González-Neves, G.; Gil, G.; Barreiro, L.; Barriel, V.; Charamelo, D.; Favre, G. Evolución de los pigmentos en el primer año de vinos tintos Tannat elaborados por técnicas alternativas. *Enología* **2010**, *3*, 1-14.
198. González-Neves, G.; Gil, G.; Barreiro, L.; Favre, G. Pigment profile of red wines cv. Tannat made with alternative winemaking techniques. *J. Food Compos. Anal.* **2010**, *23*, 447-454.
199. Gordillo, B.; López-Infante, M. I.; Ramírez-Pérez, P.; González-Miret, M. L. Heredia, F. J. Influence of prefermentative cold maceration on the color and anthocyanic copigmentation of organic tempranillo wines elaborated in a warm climate. *J. Agric. Food Chem.* **2010**, *58*, 6797-6803.
200. Gris, E.; Ferreira, E.; Falcao, L.; Bordignon-Luiz, M. T. Caffeic acid copigmentation of anthocyanins from Cabernet Sauvignon grape extracts in model systems. *Food Chem.* **2007**, *100*, 1289-1296.
201. Guadalupe, Z.; Ayestarán, B. Changes in the color components and phenolic content of red wines from *Vitis vinifera* L. Cv. "tempranillo" during vinification and aging. *Eur. Food Res. Technol.* **2008**, *228*, 29-38.
202. Guarrera, N.; Campisi, S.; Asmundo, C. N. Identification of the Odorants of Identification of the odorants of two passito wines by gas chromatography-olfactometry and sensory analysis. *Am. J. Enol. Vitic.* **2005**, *56*, 394-399.
203. Gunata, Y.; Pineau, J.; Cordonnier, R. Détermination de la qualité de la vendage par sa richesse en composés phénoliques. Applications à la vinification. *Rev. Fr. Oenol.* **1987**, *187*, 7-13.
204. Guyot, S. Obtention et caractérisation de produits d'oxydation enzymatique de la (+)-catéchine et de l'acide caféoiltartrique. Inhibition d'enzymes impliquées dans la dégradation des polysaccharides pariétaux. *Thèse, Université de Rennes 1.* **1994**.
205. Hakansson, A. E.; Pardon, K.; Hayasaka, Y.; De Sa, M.; Herderich, M. Structures and color properties of new red wine pigments. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 4887-4891.
206. Harbourne, N.; Jacquier, J. C.; Morgan, D. J.; Lyng, J. G. Determination of the degradation kinetics of anthocyanins in a model juice system using isothermal and non-isothermal methods. *Food Chem.* **2008**, *111*, 204-208.
207. Haslam, E. In vino veritas: Oligomeric procyanidins and the ageing of red wines. *Phytochemistry* **1980**, *19*, 2577-2582.

208. Hayasaka Y.; Asenstorfer, R. E. Screening for potential pigments derived from anthocyanins in red wine using nanoelectrospray tandem mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem.* **2002**, *50*, 756-761.
209. Hayase, F.; Usui, T.; Watanabe, H. Chemistry and some biological effects of model melanoidins and pigments as Maillard intermediates. *Molec. Nutr. Food Res.* **2006**, *50*, 1171-1179.
210. He, F.; Pan, Q. P.; Shi, Y.; Duan, C. Q. Chemical synthesis of proanthocyanidins *in vitro* and their reactions in aging wines. *Molecules* **2008**, *13*, 3007-3032.
211. He, F.; Liang, N. N.; Mu, L.; Pan, Q. H.; Wang, J.; Reeves, M. J.; Duan, C. Q. Anthocyanins and their variation in red wines II. Anthocyanin derived pigments and their color evolution. *Molecules* **2012**, *17*, 1483-1519.
212. He, J. R.; Santos-Buelga, C.; Mateus, N.; De Freitas, V. Isolation and quantification of oligomeric pyranoanthocyanin-flavanol pigments from red wines by combination of column chromatographic techniques. *J. Chromatogr. A* **2006a**, *1134*, 215-225.
213. He, J. R.; Santos-Buelga, C.; Silva, A. M. S.; Mateus, N.; De Freitas, V. Isolation and structural characterization of new anthocyanin-derived yellow pigments in aged red wines. *J. Agric. Food Chem.* **2006b**, *54*, 9598-9603.
214. He, J. R.; Oliveira, J.; Silva, A. M. S.; Mateus, N. De Freitas, V. Oxovitisins: a new class of neutral pyranone-anthocyanin derivatives in red wines. *J. Agric. Food Chem.* **2010**, *58*, 8814-8819.
215. Henle, T.; Walter, A. W.; Haessner, R.; Klostermeyer, H. Isolation and identification of a protein-bound imidazolone resulting from the reaction of arginine residues and methylglyoxal. *Eur. Food Res. Technol.* **1994**, *199*, 55-58.
216. Henle, T.; Zehetner, G.; Klostermeyer, H. Fast and sensitive determination of furosine. *Eur. Food Res. Technol.* **1995**, *200*, 235-238.
217. Henle, T. Protein-bound advanced glycation endproducts (AGEs) as bioactive amino acid derivatives in foods. *Amino Acids* **2005**, *29*, 313-322.
218. Heredia, F. J.; Francia-Aricha, E. M.; Rivas-Gonzalo, J. C.; Vicario, I. M.; Santos-Buelga, C. Chromatic characterization of anthocyanins from red grapes - I. pH effect. *Food Chem.* **1998**, *63*, 491-498.
219. Heredia, F. J.; Escudero-Gilete, M. L.; Hernanz, D.; Gordillo, B.; Meléndez-Martínez, A. J.; Vicario, I. M.; González-Miret, M. L. Influence of the refrigeration technique on the colour and phenolic composition of syrah red wines obtained by pre-fermentative cold maceration. *Food Chem.* **2010**, *118*, 377-383.

220. Hermosín-Gutiérrez, I.; Sánchez-Palomo, L.; Vicario-Espinosa, A. Phenolic composition and magnitude of copigmentation in young and shortly aged wines made from the cultivars Cabernet Sauvignon, Cencibel y Syrah. *Food Chem.* **2005**, *92*, 269-283.
221. Hernández, M. J.; García-Moreno, M. V.; Durán, E.; Guillén, D.; García-Barroso, C. Validation of two analytical methods for the determination of ochratoxin A by reversed-phased high-performance liquid chromatography coupled to fluorescence detection in musts and sweet wines from Andalusia. *Anal. Chim. Acta.* **2006**, *566*, 117-121.
222. Hernández-Herrero, J. A.; Frutos, M. J. Degradation kinetics of pigment, colour and stability of the antioxidant capacity in juice model systems from six anthocyanin sources. *Int. J. Food Sci. Technol.* **2011**, *46*, 2550-2557.
223. Hillmann, M. C. R.; Burin, V. M.; Bordignon-Luiz, M. T. Thermal degradation kinetics of anthocyanins in grape juice and concentrate. *Int. J. Food Sci. Technol.* **2011**, *46*, 1997-2000.
224. Hmamouchi, M.; Es-Safi, N.; Lahrichi, M.; Fruchier, A.; Essassi, E. M. Flavones and flavonols in leaves of some Moroccan *Vitis vinifera* cultivars. *Am. J. Enol. Vitic.* **1996**, *47*, 186-192.
225. Hodge, J. E. Chemistry of browning reactions in model systems. *J. Agric. Food Chem.* **1953**, *1*, 928-943.
226. Hofmann, T. 4-Alkylidene-2-imino-5-[4-alkylidene-5-oxo-1,3-imidazol-2-yl] azamethylidene-1,3-imidazolidine - A novel colored substructure in melanoidins formed by Maillard reactions of bound arginine with glyoxal and furan-2-carboxaldehyde. *J. Agric. Food Chem.* **1998a**, *46*, 3896-3901.
227. Hofmann, T. Studies on melanoidin-type colourants generated from the Maillard reaction of protein-bound lysine and furan-2-carboxaldehyde: chemical characterisation of a red coloured domain. *Eur. Food Res. Technol.* **1998b**, *206*, 251-258.
228. Hofmann, T. Studies on the relationship between molecular weight and the colour potency of fractions obtained by thermal treatment of glucose/amino acid and glucose/protein solutions by using ultracentrifugation and colour dilution techniques. *J. Agric. Food Chem.* **1998c**, *46*, 3891-3895.
229. Hsieh, T. C.; Wu, J. M. Differential effects on growth, cell cycle arrest, and induction of apoptosis by resveratrol in human prostate cancer cell lines. *Exp. Cell Res.* **1999**, *249*, 109-115.



230. Ivanova, V.; Vojnoski, B.; Stefova, M. Effect of winemaking treatment and wine aging on phenolic content in Vranec wines. *J. Food Sci. Technol.* **2011**, *49*, 161-172.
231. Jairaj, K. S.; Singh, S. P.; Srikant, K. A review of solar dryers developed for grape drying. *Solar Energy* **2009**, *83*, 1698-1712.
232. Jang, M.; Pezzuto, J. M. Cancer chemopreventive activity of resveratrol. *Drugs Exptl. Clin. Res.* **1999**, *25*, 65-77.
233. Jeffery, D. W.; Parker, M.; Smith, P. A. Flavonol composition of Australian red and white wines determined by high-performance liquid chromatography. *Aust. J. Grape Wine Res.* **2008**, *14*, 153-161.
234. Jordão, A. M.; Ricardo Da Silva, J. M.; Laureano, O. Evolution of catechins and oligomeric procyanidins during grape maturation of Castelão Francês and Touriga Francesa. *Am. J. Enol. Vitic.* **2001a**, *52*, 230-234.
235. Jordão, A. M.; Ricardo Da Silva, J. M.; Laureano, O. Evolution of proanthocyanidins in bunch stems during berry development (*Vitis vinifera* L.). *Vitis* **2001b**, *40*, 17-22.
236. Jordão, A. M.; Simões, S.; Correia, A. C.; Gonçalves, F. J. Antioxidant activity evolution during Portuguese red wine vinification and their relation with the proanthocyanidin and anthocyanin composition. *J. Food Process. Preserv.* **2011**, *Article in Press*.
237. Kallithraka, S.; Bakker, J.; Clifford, M.N.; Vallis, L. Correlations between saliva protein composition and some T-I parameters of astringency. *Food Qual. Prefer.* **2001**, *12*, 145-152.
238. Kallithraka, S.; Salachaa, M. I.; Tzouroua, I. Changes in phenolic composition and antioxidant activity of white wine during bottle storage: Accelerated browning test versus bottle storage. *Food Chem.* **2009**, *113*, 500-505.
239. Karadeniz, F.; Durst, R. W.; Wrolstad, R. E. Polyphenolic composition of raisin. *J. Agric. Food Chem.* **2000**, *48*, 5343-5350.
240. Katalinić, V.; Možina, S. S.; Skroza, D.; Generalić, I.; Abramovič, H.; Miloš, M.; Ljubenkov, I.; Boban, M. Polyphenolic profile, antioxidant properties and antimicrobial activity of grape skin extracts of 14 *Vitis vinifera* varieties grown in Dalmatia (Croatia). *Food Chem.* **2010**, *119*, 715-723.
241. Kays, S. J. Stress in harvested products. In *Postharvest Physiology in Perishable Plants Products*; Kays, S. J., Ed.; Exon Press: Atenas, **1997**; pp. 335-408.

242. Keim, H.; Revel, G.; Marchand, S.; Bertrand, A. Method for determining nitrogenous heterocycle compounds in wine. *J. Agric. Food Chem.* **2002**, *50*, 5803-5807.
243. Kennedy, J. A.; Waterhouse, A. L. Analysis of pigmented high-molecular mass grape phenolics using ion-pair, normal-phase high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. A* **2000**, *866*, 25-34.
244. Khokhar, S.; Apenten, R. K. O. Iron binding characteristics of phenolic compounds: Some tentative structure-activity relations. *Food Chem.* **2003**, *81*, 133-140.
245. Kilmartin, P. A.; Zou, H.; Waterhouse, A. L. A cyclic voltammetry method suitable for characterizing antioxidant properties of wine and wine phenolics. *J. Agric. Food Chem.* **2001**, *49*, 1957-1965.
246. Kim, J. S.; Lee, Y. S. Effect of reaction pH on enolization and racemization reactions of glucose and fructose on heating with amino acid enantiomers and formation of melanoidins as result of the Maillard reaction. *Food Chem.* **2008a**, *108*, 582-592.
247. Kim, J. S.; Lee, Y. S. Influence of pH on the antioxidant activity of melanoidins formed from different model systems of sugar/lysine enantiomers. *Food Sci. Biotechnol.* **2008b**, *17*, 1310-1315.
248. Kontkanen, D.; Inglis, D. L.; Pickering, G. J.; Reynolds, A. Effect of yeast inoculation rate, acclimatization, and nutrient addition on icewine fermentation. *Am. J. Enol. Vitic.* **2004**, *55*, 363-370.
249. Koponen, J. M.; Happonen, A. M.; Mattila, P. H.; Törrönen, A. R. Contents of anthocyanins and ellagitannins in selected foods consumed in Finland. *J. Agric. Food Chem.* **2007**, *55*, 1612-1619.
250. Koussissi, E.; Dourtoglou, V. G.; Ageloussis, G.; Paraskevopoulos, Y.; Dourtoglou, T.; Paterson, A.; Chatzilazarou, A. Influence of toasting of oak chips on red wine maturation from sensory and gas chromatographic headspace analysis. *Food Chem.* **2009**, *114*, 1503-1509.
251. Koyama, K.; Goto-Yamamoto, N.; Hashizume, K. Influence of maceration temperature in red wine vinification on extraction of phenolics from berry skins and seeds of grape (*Vitis vinifera*). *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **2007**, *71*, 958-965.
252. Krause, R.; Kühn, J.; Penndorf, I.; Henle, T. N-terminal pyrazinones: a new class of peptide-bound advanced glycation end-products. *Amino Acids* **2004**, *27*, 9-18.

253. Labarbe, B.; Cheynier, V.; Brossaud, F., Souquet, J. M.; Moutounet, M. Quantitative fractionation of grape proanthocyanidins according to their degree of polymerization. *J. Agric. Food Chem.* **1999**, *47*, 2719-2723.
254. Labrouche, F.; Clark, A. C.; Prenzler, P. D.; Scollary, G. R. Isomeric influence on the oxidative coloration of phenolic compounds in a model white wine: Comparison of (+)-catechin and (-)-epicatechin. *J. Agric. Food Chem.* **2005**, *53*, 9993-9998.
255. Langcake, P.; Pryce, R. J.; The production of resveratrol by *Vitis vinifera* and other members of the Vitaceae as a response to infection or injury. *Physiol. Plant Pathol.* **1976**, *9*, 77-86.
256. Larrauri, J. A.; Sánchez-Moreno, M. C.; Rupérez, P.; Saura-Calixto, F. Free radical scavenging capacity in the aging of selected red Spanish wines. *J. Agric. Food Chem.* **1999**, *47*, 1603-1606.
257. Lea, A. G. H. Bitterness and astringency: The procyanidins of fermented apple ciders. In: *Bitterness in food and beverages. Developments in food science*; R. L. Roussef, Ed.; Elsevier: Amsterdam, **1990**, *25*, 123-143.
258. Ledl, F.; Schleicher, E. New aspects of the Maillard reaction in food and the human body. *Angewandte Chemie.* **1990**, *6*, 565-706.
259. Li, H.; Guo, A.; Wang, H. Mechanisms of oxidative browning of wine. *Food Chem.* **2008**, *108*, 1-13.
260. Li, E.; Mira De Orduña, R. Evaluation of the acetaldehyde production and degradation potential of 26 enological *Saccharomyces* and non-*Saccharomyces* yeast strains in a resting cell model system. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* **2011**, *38*, 1391-1398.
261. Lindenmeier, M.; Faist, V.; Hofmann, T. Structural and functional characterization of pronyl-lysine, a novel protein modification in bread crust melanoidins showing in vitro antioxidative and phase I/II enzyme modulating activity. *J. Agric. Food Chem.* **2002**, *50*, 6997-7006.
262. Lindenmeier, M.; Hofmann, T. Influence of baking conditions and precursor supplementation on the amounts of the antioxidant pronyl-L-lysine in bakery products. *J. Agric. Food Chem.* **2004**, *52*, 350-354.
263. Llaudy, M.; Canals, R.; Canals, J. M.; Rozez, N.; Arola, L.; Zamora, F. New method for evaluating astringency in red wine. *J. Agric. Food Chem.* **2004**, *52*, 742-746.
264. López-Toledano, A.; Mayén, M.; Mérida, J.; Medina, M. Yeast-induced inhibition of (+)-catechin and (-)-epicatechin degradation in model solutions. *J. Agric. Food Chem.* **2002**, *50*, 1631-1635.

265. López-Toledano, A.; Villano-Valencia, D.; Mayén, M.; Mérida, J.; Medina, M. Interaction of yeasts with the products resulting from the condensation reaction between (+)-catechin and acetaldehyde. *J. Agric. Food Chem.* **2004**, *52*, 2376-2381.
266. López-Toledano, A.; Mérida, J.; Medina, M. Colour correction in white wines by use of immobilized yeast. *Eur. Food Res. Technol.* **2007**, *225*, 879-885.
267. Lu, R.; Serrero, G. Resveratrol, a natural product derived from grape, exhibit antiestrogenic activity and inhibits the growth of human breast cancer cell. *J. Cell Physiol.* **1999**, *179*, 297-304.
268. Lu, Y.; Foo, L. Y. Unusual anthocyanin reaction with acetone leading to pyranoanthocyanin formation. *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 1371-1373.
269. Macheix, J. J.; Sapis, J. C.; Fleuriet, A. Phenolic compounds and polyphenoloxidase in relation to browning in grapes and wines. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **1991**, *30*, 441-486.
270. Mailen-Aubert, C.; Dangles, O.; Amiot, M. J. Color stability of commercial anthocyanin-based extracts in relation to the phenolic composition. Protective effects by intra- and intermolecular copigmentation. *J. Agric. Food Chem.* **2001**, *49*, 170-176.
271. Marchand, S.; De Revel, G.; Bertrand, A. Approaches to wine aroma: Release of aroma compounds from reactions between cysteine and carbonyl compounds in wine. *J. Agric. Food Chem.* **2000**, *48*, 4890-4895.
272. Marchand, S., De Revel, G., Vercauteren, J., Bertrand, A. Possible mechanism for involvement of cysteine in aroma production in wine. *J. Agric. Food Chem.* **2002**, *50*, 6160-6164.
273. Margaris, D. P.; Ghiaus, A. G. Experimental study of hot air dehydration of Sultana grapes. *J. Food Eng.* **2007**, *79*, 1115-1121.
274. Markakis, P. Stability of Anthocyanins in Foods. In: *Anthocyanins as Food Colors*; Markakis, P., Ed.; Academic Press: New York, **1982**; Chapter 6.
275. Márquez, A.; Serratos, M. P.; López-Toledano, A.; Mérida, J. Colour and phenolic compounds in sweet red wines from Merlot and Tempranillo grapes chamber-dried under controlled conditions. *Food Chem.* **2012a**, *130*, 111-120.
276. Márquez, A.; Dueñas, M.; Serratos, M. P.; Mérida, J. Formation of vitisins and anthocyanin-flavanol adducts during redgrape drying. *J. Agric. Food Chem.* **2012b**, *Article in Press*.

277. Martínez, J.; Cadahía, E.; Fernández de Simón, B.; Ojeda, S.; Rubio, P. Effect of the seasoning method on the chemical composition of oak heartwood to cooperage. *J. Agric. Food Chem.* **2008**, *56*, 3089-3096.
278. Martínez, J. A.; Melgosa, M.; Pérez, M. M.; Hita, E.; Negueruela, A. Visual and instrumental color evaluation in red wines. *Food Sci. Technol. Int.* **2001**, *7*, 439-444.
279. Martins, S. I. F. S.; van Boekel, M. A. J. S. Melanoidins extinction coefficient in the glucose/glycine Maillard reaction. *Food Chem.* **2003**, *83*, 135-142.
280. Mateus, N.; De Freitas, V. Evolution and stability of anthocyanin-derived pigments during port wine aging. *J. Agric. Food Chem.* **2001**, *49*, 5217-5222.
281. Mateus, N.; Marqués, S.; Gonaçalves, A. C.; Machado, J. M.; De Freitas, V. proanthocyanidin composition of red *Vitis vinifera* varieties from the Douro Valley during ripening: Influence of cultivation altitude. *Am. J. Enol. Vitic.* **2001a**, *52*, 115-121.
282. Mateus, N.; Silva, A.; Vercauteren, J.; De Freitas, V. Occurrence of anthocyanins-derived pigments in red wines. *J. Agric. Food Chem.* **2001b**, *49*, 4836-4840.
283. Mateus, N.; De Pascual-Teresa, S.; Rivas-Gonzalo, J. C.; Santos-Buelga, C.; De Freitas, V. Structural diversity of anthocyanin-derived pigments in port wines. *Food Chem.* **2002a**, *76*, 335-342.
284. Mateus, N.; Silva, A. M. S.; Santos-Buelga, C.; Rivas-Gonzalo, J. C.; De Freitas, V. Identification of anthocyanin-flavanol pigments in red wines by NMR and mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem.* **2002b**, *50*, 2110-2116.
285. Mateus, N.; Carvalho, E.; Carvalho, A. R.; Melo, A.; González-Paramás, A. M.; Santos-Buelga, C.; Silva, A. M.; De Freitas, V. Isolation and structural characterization of new acylated anthocyanin-vinyl-flavanol pigments occurring in aging red wines. *J. Agric. Food Chem.* **2003a**, *51*, 277-282.
286. Mateus, N.; Silva, A. M. S.; Rivas-Gonzalo, J. C.; Santos-Buelga, C.; De Freitas, V. A new class of blue anthocyanin-derived pigments isolated from red wines. *J. Agric. Food Chem.* **2003b**, *51*, 1919-1923.
287. Mateus, N.; Oliveira, J.; Santos-Buelga, C.; Silva, A. M.; De Freitas, V. NMR structure characterization of a new vinylpyranoanthocyanincatechin pigment (a portisin). *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 3455-3457.
288. Mateus, N.; Oliveira, J.; González-Paramás, A. M.; Santos-Buelga, C.; De Freitas, V. Screening of portisins (vinylpyranoanthocyanin pigments) in port wine by LC/DAD-MS. *Food Sci. Technol. Int.* **2005**, *5*, 353-358.

289. Mateus, N.; Oliveira, J.; Pissarra, J.; Gonzalez-Paramás, A. M.; Rivas-Gonzalo, J. C.; Santos-Buelga, C.; Silva, A. M. S.; De Freitas, V. A. P. A new vinylpyranoanthocyanin pigment occurring in aged red wine. *Food Chem.* **2006**, *97*, 689-695.
290. Matsufuji, H.; Otsuki, T.; Takeda, T.; Chino, M.; Takeda, M. Identification of reaction products of acylated anthocyanins from red radish with peroxy radicals. *J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51*, 3157-3161.
291. Mavric, E.; Kumpf, Y.; Schuster, K.; Kappenstein, O.; Scheller, D.; Henle, T. A new imidazolinone resulting from the reaction of peptide-bound arginine and oligosaccharides with 1,4-glycosidic linkages. *Eur. Food Res. Technol.* **2004**, *218*, 213-218.
292. Mazza, G.; Brouillard, R. Recent developments in the stabilization of anthocyanins in food products. *Food Chem.* **1987**, *25*, 207-225.
293. Mazza, G.; Brouillard, R. The mechanism of co-pigmentation of anthocyanins in aqueous solutions. *Phytochemistry* **1990**, *29*, 1097-1102.
294. Mazza, G.; Miniati, E. In: *Anthocyanins in fruits, vegetables and grains*. Mazza, G.; Miniati, E., Eds.; CRC Press, Boca Raton: Florida, USA, **1993**.
295. Mazza, G.; Maniati, E. Grapes. In: *Anthocyanins in fruits, vegetables and grains*; Mazza, G.; Maniati, E., Eds.; CRC Press. Boca Raton, Ann Arbor, London, Tokyo, **1996**; pp. 149-199.
296. McRae, J. M.; Kennedy, J. A. Wine and grape tannin interactions with salivary proteins and their impact on astringency: A review of current research. *Molecules* **2011**, *16*, 2348-2364.
297. Monagas, M.; Gómez-Cordovés, C.; Bartolomé, B.; Laureano, O.; Ricardo Da Silva, J. M. Monomeric, oligomeric and polymeric flavan-3-ol composition of wines and grapes from *Vitis vinifera* L. cv. Graciano, Tempranillo and Cabernet Sauvignon. *J. Agric. Food Chem.* **2003a**, *51*, 6475-6481.
298. Monagas, M.; Núñez, V.; Bartolomé, B.; Gómez-Cordovés, C. Anthocyanin-derived pigments in Graciano, Tempranillo, and Cabernet Sauvignon wines produced in Spain. *Am. J. Enol. Vitic.* **2003b**, *54*, 163-169.
299. Monagas, M.; Bartolomé, B.; Gómez-Cordovés, C. Evolution of polyphenols in red wines from *Vitis vinifera* L. during aging in the bottle. Non-anthocyanin phenolic compounds. *Eur. Food Res. Technol.* **2005a**, *220*, 331-340.
300. Monagas, M.; Bartolomé, B.; Gómez-Cordovés, C. Updated knowledge about the presence of phenolic compounds in wine. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **2005b**, *45*, 85-118.

301. Monagas, M.; Gómez-Cordovés, C.; Bartolomé, B. Evolution of the phenolic content of red wines from *Vitis vinifera* L. during ageing in bottle. *Food Chem.* **2006**, *95*, 405–412.
302. Morales, F. J.; Jiménez-Pérez, S. Free radical scavenging capacity of Maillard reaction products as related to colour and fluorescence. *Food Chem.* **2001**, *72*, 119-125.
303. Moran, J. F.; Klucas, R. V.; Grayer, R. J.; Abian, J.; Becana, M. Complexes of iron with phenolic compounds from soybean nodules and other legume tissues: Prooxidant and antioxidant properties. *Free Radical Biol. Medic.* **1997**, *22*, 861-870.
304. Morata, A.; Gómez-Cordovés, M.; Colomo, B.; Suárez, J. Pyruvic acid and acetaldehyde production by different strains of *Saccharomyces cerevisiae*: relationship whit vitisin A and B formation in red wines. *J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51*, 6475-6485.
305. Morata, A.; Gómez-Cordovés, M.; Calderón, F.; Suárez, J. Effects of pH, temperature and SO<sub>2</sub> on the formation of pyranoanthocyanins during red wine fermentation whit two species of *Saccharomyces*. *Int. J. Food Microbiol.* **2006**, *106*, 123-129.
306. Morata, A.; Calderón, F.; González, M.; Gómez-Cordovés, C.; Suárez, J. Formation of the highly stable pyranoanthocyanins (Vitisins A and B) in red wines by the addition of pyruvic acid and acetaldehyde. *Food Chem.* **2007**, *100*, 1144-1152.
307. Moreno, J. A., Zea, L., Moyano, L., Medina, M. Aroma compounds as markers of the changes in sherry wines subjected to biological ageing. *Food Control* **2005**, *16*, 333-338.
308. Moreno, J. J.; Cerpa-Calderón, F.; Cohen, S.; Fang, Y.; Qian, M.; Kennedy, J. A. Effect of postharvest dehydration on the composition of Pinot Noir grapes (*Vitis vinifera* L.) and wine. *Food Chem.* **2008**, *109*, 755-762.
309. Moreno-Labanda, J. F.; Mallavia, R.; Pérez-Fons, L.; Lizama, V.; Saura, D.; Micol, V. Determination of piceid and resveratrol in Spanish wines deriving from Monastrell (*Vitis vinifera* L.) grape variety. *J. Agric. Food Chem.* **2004**, *52*, 5396-5403.
310. Moutounet, M.; Rabier, P.; Puech, J. L.; Verette, E.; Barillère, J. M. Analysis by HPLC of extractable substances in oak wood. Application to a Chardonnay wine. *Sci. Aliments* **1989**, *9*, 35-51.
311. Mulero, J.; Pardo, F.; Zafrilla, P. Effect of principal polyphenolic components in relation to antioxidant activity in conventional and organic red wines during storage. *Eur. Food Res. Technol.* **2009**, *229*, 807-812.

312. Nair, K. K. V.; Bongirwar, D. R. Solar dryer for agricultural products, A do it yourself solar dryer. *Ind. Chem. Eng.* **1994**, *36*, 103–105.
313. Nakayama, T.; Hayase, F.; Kato, H. Formation of  $\epsilon$ -(2-formyl-5-hydroxy-methyl-pyrrol-1-yl)-L-norleucin in the Maillard reaction between D-glucose and L-lysine. *Agric. Biol. Chem.* **1980**, *44*, 1201-1202.
314. Natali, N.; Chinnici, F.; Riponi, C. Characterization of volatiles in extracts from oak chips obtained by accelerated solvent extraction (ASE). *J. Agric. Food Chem.* **2006**, *54*, 8190-8198.
315. Nave, F.; Teixeira, N.; Mateus, N.; De Freitas, V. The fate of flavanol-anthocyanin adducts in wines: Study of their putative reaction patterns in the presence of acetaldehyde. *Food Chem.* **2010**, *121*, 1129-1138.
316. Nogueira, J. M. F.; Nascimento, A. M. D. Analytical characterization of Madeira wine. *J. Agric. Food Chem.* **1999**, *47*, 566-575.
317. Núñez, V.; Monagas, M.; Gómez-Cordovés, M. C.; Bartolomé, B. *Vitis vinifera* L. cv. Graciano grapes characterized by its anthocyanin profile. *Postharvest Biol. Technol.* **2004**, *31*, 69-79.
318. Nurgel, C.; Pickering, G. J.; Inglis, D. L. Sensory and chemical characteristics of Canadian icewines. *J. Sci. Food Agric.* **2004**, *84*, 1675-1684.
319. OIV. Recueil des méthodes internationales d'analyse des vins et des moûts. *Organisation Internationale de la Vigne et du Vin*: Paris, **2005**.
320. Ojeda, H.; Andary, C.; Creaba, E.; Carbonneau, A.; Deloire, A. Influence of pre- and postveraison water deficit on synthesis and concentration of skin phenolic compounds during berry growth of *Vitis vinifera* var. Shiraz. *Am. J. Enol. Vitic.* **2002**, *53*, 261–267.
321. Oliveira, C. M.; Silva Ferreira, A. C.; De Freitas, V.; Silva, A. M. S. Oxidation mechanisms occurring in wines. *Food Res. Int.* **2011**, *44*, 1115-1126.
322. Oliveira, J.; Fernández, V.; Miranda, C.; Santos-Buelga, C.; Silva, A.; De Freitas, V.; Mateus, N. Color properties of four cyanidin-pyruvic acid adducts. *J. Agric. Food Chem.* **2006**, *54*, 6894-6903.
323. Oliveira, J.; De Freitas, V.; Silva, A. M. S.; Mateus, N. Reaction between hydroxycinnamic acids and anthocyanin-pyruvic acid adducts yielding new portisins. *J. Agric. Food Chem.* **2007**, *55*, 6349-6356.
324. Oliveira, J.; Mateus, N.; Silva, A. M. S.; De Freitas, V. Equilibrium forms of Vitisin B pigments in an aqueous system studied by NMR and visible spectroscopy. *J. Phys. Chem. B* **2009**, *113*, 11352-11358.



325. Oliveira, J.; Azevedo, J.; Silva, A. M. S.; Teixeira, N.; Cruz, L.; V. Mateus, N.; De Freitas, V. Pyranoanthocyanin dimers: A new family of turquoise blue anthocyanin-derived pigments found in Port wine. *J. Agric. Food Chem.* **2010**, *58*, 5154–5159
326. Oliveira E Silva, H.; Guedes de Pinho, P.; Machado, B. P.; Hogg, T.; Marqués, J. C.; Câmara, J. S.; Albuquerque, F.; Silva Ferreira, A. C. Impact of forced-aging process on Madeira wine flavor. *J. Agric. Food Chem.* **2008**, *56*, 11989–11996.
327. Ortega-Heras, M.; Pérez-Magariño, S.; Cano-Mozo, E.; González-San José, M. L. Differences in the phenolic composition and sensory profile between red wines aged in oak barrels and wines aged with oak chips. *Food Sci. Technol.* **2010**, *43*, 1533–1541.
328. Ortega-Meder, M. D.; Rivas-Gonzalo, J. C.; Vicente, J. L.; Santos-Buelga, C. Diferenciación de variedades de uvas tintas por su composición antocianica. *Rev. Esp. Cienc. Tecnol. Aliment.* **1995**, *34*, 409–426.
329. Oszmianski, J.; Cheynier, V.; Moutounet, M. Iron-catalyzed oxidation of (+)-catechin in model systems. *J. Agric. Food Chem.* **1996**, *44*, 1712–1715.
330. Paixão, N., Perestrello, R., Marqués, J.C., Câmara, J. S. Relationship between antioxidant capacity and total phenolic content of red, rosé and white wines. *Food Chem.* **2007**, *105*, 204–214.
331. Pangavhane, D. R.; Sawhney, R. L. Review of research and development work on solar dryers for grape drying. *Energy Conversion Manag.* **2002**, *43*, 45–61.
332. Parker, T. L.; Wang, X. H.; Pazmiño, J.; Engeseth, N. Antioxidant capacity and phenolic content of grapes, sun-dried raisins, and golden raisins and their effect on ex vivo serum antioxidant capacity. *J. Agric. Food Chem.* **2007**, *55*, 8472–8477.
333. Parpinello, G.P.; Versari, A.; Chinnici, F.; Galassi, S. Relationship among sensory descriptors, consumer preference and color parameters of Italian Novello red wines. *Food Res. Int.* **2009**, *42*, 1389–1395.
334. Paronetto, L.; Dellaglio, F. Amarone: A modern wine coming from an ancient production technology. *Adv. Food Nutr. Res.* **2011**, *63*, 285–306.
335. Parthasarathy, S.; Rankin, S. M. Role of oxidized low density lipoprotein in atherogenesis. *Prog. Lipid Res.*, **1992**, *31*, 127–143.
336. Pati, S.; Losito, I.; Gambacorta, G.; La Notte, E.; Palmisano, F.; Zambonin, P. G. Simultaneous separation and identification of oligomeric procyanidins and anthocyanin-derived pigments in raw red wine by HPLC-UV-ESI-MSn. *J. Mass Spectrom.* **2006**, *41*, 861–871.

337. Pati, S.; Liberatore, M. T.; Gambacorta, G.; Antonacci, D.; La Notte, E. Rapid screening for anthocyanins and anthocyanin dimers in crude grape extracts by high performance liquid chromatography coupled with diode array detection and tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* **2009**, *1216*, 3864-3868.
338. Payne, C.; Bowyer, P. K.; Herderich, M.; Bastian, S. E. P. Interaction of astringent grape seed procyanidins with oral epithelial cells. *Food Chem.* **2009**, *115*, 551-557.
339. Pecket, R.; Small, C. J.; Ocurrence, localization and development of anthocyanoplast. *Phytochemistry* **1980**, *19*, 2571-2576.
340. Peleg, H.; Gacon, K.; Schlich, P.; Noble, A. Bitterness and astringency of flavan-3-ol monomers, dimmers and trimers. *J. Sci. Food Agric.*, **1999**, *79*, 1123-1128.
341. Pérez-Caballero, V.; Ayala, F.; Echavarri, J. F.; Negueruela, A. Proposal for a new standard OIV method for determination of chromatic characteristics of wine. *Am. J. Enol. Vitic.* **2003**, *54*, 59-62.
342. Pérez-Coello, M. S.; Sánchez, M. A.; García, E.; González-Viñas, M. A.; Sanz, J.; Cabezudo, M. D. Fermentation of white wines in the presence of wood chips of American and French oak. *J. Agric. Food Chem.* **2000**, *48*, 885-889.
343. Pérez-Magariño, S.; González-San José, M. L. Evolution of flavanols, anthocyanins, and their derivatives during the aging of red wines elaborated from grapes harvested at different stages of ripening. *J. Agric. Food Chem.* **2004**, *52*, 1181-1189.
344. Pérez-Magariño, S.; Ortega-Heras, M.; Cano-Mozo, E.; González-San José, M. L. The influence of oak wood chips, micro-oxygenation treatment, and grape variety on colour, and anthocyanin and phenolic composition of red wines. *J. Food Compos. Anal.* **2009**, *22*, 204-211.
345. Peyrot des Gachons, C.; Kennedy, J. A. Direct method for determining seed and skin proanthocyanidin extraction into red wine. *J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51*, 5877-5881.
346. Piffaut, B.; Kader, F.; Girardin, M.; Metche, M. Comparative degradation pathways of malvidin 3,5-diglucoside after enzymatic and thermal treatments. *Food Chem.* **1994**, *50*, 115-120.
347. Pigeau, G. M.; Bozza, E.; Kaiser, K.; Inglis, D. L. Concentration effect of Riesling Icewine juice on yeast performance and wine acidity. *J. Applied Microbiol.* **2007**, *103*, 1691-1698.
348. Piljac-Žegarac, J.; Martínez, S.; Valek, L.; Stipčević, T.; Kovačević-Ganić, K. Correlation between the phenolic content and DPPH radical scavenging activity of selected Croatian wines. *Acta Alimentaria* **2007**, *36*, 185-193.

349. Pinho, C.; Couto, A. I.; Valentão, P.; Andrade, P.; Ferreira, I. M. P. L. V. O. Assessing the anthocyanic composition of Port wines and musts and their free radical scavenging capacity. *Food Chem.* **2012**, *131*, 885-892.
350. Pischetsrieder, A. M.; Schroeter, C.; Severin, T. Formation of an aminoreductone during the Maillard reaction of lactose with N- $\alpha$ -acetyllysine or proteins. *J. Agric. Food Chem.* **1998**, *46*, 928-931.
351. Pissarra, J.; Lourenço, S.; González-Paramás, A. M.; Mateus, N.; Santos-Buelga, C.; De Freitas, V. Formation of new anthocyanin-alkyl/aryl-flavanol pigments in model solutions. *Anal. Chim. Acta.* **2004**, *513*, 215-221.
352. Pocock, K. F.; Sefton, M. A.; Williams, P. J. Taste thresholds of phenolic extracts of french and american oakwood: the influence of oak phenols on wine flavor. *Am. J. Enol. Vitic.* **1994**, *45*, 429-434.
353. Poudel, P. R.; Tamura, H.; Kataoka, I.; Mochioka, R. Phenolic compounds and antioxidant activities of skin and seeds of five wild grapes and two hybrids native to Japan. *J. Food Compos. Anal.* **2008**, *21*, 622-625.
354. Prasad, K. N.; Yang, B.; Dong, X.; Jiang, G.; Zhang, H.; Xie, H.; Jiang, Y. Flavonoid contents and antioxidant activities from Cinnamomum species. *Innovat. Food Sci. Emerg. Tech.* **2009**, *10*, 627-632.
355. Prieur, C.; Rigaud, J.; Cheyrier, V.; Moutounet, M. Oligomeric and polymeric procyanidins from grape seeds. *Phytochemistry* **1994**, *36*, 781-784.
356. Prior, R. L.; Wu, X.; Schaich, K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *J. Agric. Food Chem.* **2005**, *53*, 4290-4302.
357. Pripis-Nicolau, L.; Revel, G.; Bertrand, A.; Maujean, A. Formation of flavor components by the reaction of amino acid and carbonyl compounds in mild conditions. *J. Agric. Food Chem.* **2000**, *48*, 3761-3766.
358. Ramonaityte, D. T.; Keršienė, M.; Adams, A.; Tehrani, K. A.; Kimpe, N. D. The interaction of metal ions with Maillard reaction products in a lactose-glycine model system. *Food Res. Int.* **2009**, *42*, 331-336.
359. Ramshaw, E. H.; Hardy, P. J. Volatile compounds in dried grapes. *J. Sci. Food Agric.* **1969**, *20*, 619-621.
360. Rentzsch, M.; Schwarz, M.; Winterhalter, P.; Hermosín-Gutiérrez, I. Formation of hydroxyphenyl-pyranoanthocyanins in Grenache wines: precursor levels and evolution during aging. *J. Agric. Food Chem.* **2007**, *55*, 4883-4888.

361. Rentzsch, M.; Schwarz, M.; Winterhalter, P.; Blanco-Vega, D.; Hermosín-Gutiérrez, I. Survey on the content of vitisin A and hydroxyphenylpyranoanthocyanins in Tempranillo wines. *Food Chem.* **2010**, *119*, 1426-1434.
362. Revilla, E.; Carpena, O.; Mataix, J. J. Leaf polyphenolic composition of two grape vine cultivars (Airen and Cencibel) during ripening. *Anal. Edafol. Agrobiol.* **1985**, *44*, 787-797.
363. Revilla, I.; González-Sanjosé, M. L. Effect of different oak woods on aged wine color and anthocyanin composition. *Eur. Food Res. Technol.* **2001**, *213*, 281-285.
364. Revilla, I.; González-Sanjosé, M. L. Compositional changes during the storage of red wines treated with pectolytic enzymes: low molecular-weight phenols and flavan-3-ol derivative levels. *Food Chem.* **2003**, *80*, 205-214.
365. Reynolds, A.; Cliff, M.; Girard, B.; Kopp, T. G. Influence of fermentation temperature on composition and sensory properties of Semillon and Shiraz wines. *Am. J. Enol. Vitic.* **2001**, *52*, 235-240.
366. Ribeiro de Lima, M. T.; Waffo-Téguo, P.; Teissedre, P. L.; Pujolas, A.; Vercauteren, J.; Cabanis, J. C.; Mérillon, J. M. Determination of stilbenes (*trans*-astringin, *cis*- and *trans*-piceid, and *cis*- and *trans*-resveratrol) in Portuguese wines. *J. Agric. Food Chem.* **1999**, *47*, 2666-2670.
367. Ribéreau-Gayon, P.; Stonestreet, E. Dosage des tannins du vin rouge et détermination de leur structure. *Chim. Anal.* **1966**, *48*, 188-196.
368. Ribéreau-Gayon, P. The Anthocyanins of grapes and wines. In: *Anthocyanins as food colours*; Markakis, P. Ed.; Academic Press: New York, **1982**; pp. 209-243.
369. Ribéreau-Gayon, P.; Glories, Y.; Maujean, A.; Dubourdieu, D. Les composés phénoliques. In: *Traité d'Œnologie, tome 2. Chimie du vin. Stabilisation et Traitements*; Ribéreau-Gayon, P.; Glories, Y.; Maujean, A.; Dubourdieu, D. Eds.; Dunod: Paris, **1998**; pp. 179-260.
370. Ricardo Da Silva, J. M.; Cheynier, V.; Souquet, J. M.; Moutounet, M.; Cabanis, J. C.; Bourzeix, M. Interaction of grape seed procyanidins with various proteins in relation to wine fining. *J. Sci. Food Agric.* **1991a**, *57*, 111-125.
371. Ricardo Da Silva, J. M.; Rigaud, J.; Cheynier, V.; Creminat, A.; Moutounet, M. Procyanidin dimers and trimers from grape seeds. *Phytochemistry.* **1991b**, *30*, 1259-1264.
372. Ricardo Da Silva, J. M.; Rosec, J. P.; Bourzeix, M.; Mourgues, J.; Moutounet, M. Dimer and trimer procyanidins in Carignan and Mourvèdre grapes and red wines. *Vitis* **1992**, *31*, 55-63.

373. Rigaud, J.; Cheynier, V.; Souquet, J. M.; Moutounet, M. Influence of must composition on phenolic oxidation kinetics. *J. Sci. Food Agric.* **1991**, *57*, 55-63.
374. Riou, V.; Vernhet, A.; Doco, T.; Moutounet, M. Aggregation of grape seed tannins in model wine: effect of wine polysaccharides. *Food Hydrocolloids* **2002**, *16*, 17-23.
375. Rivas-Gonzalo, J. C.; Bravo-Haro, S.; Santos-Buelga, C. Detection of compounds formed through the reaction of malvidin-3-monoglucoside and catechin in the presence of acetaldehyde. *J. Agric. Food Chem.* **1995**, *43*, 1444-1449.
376. Rivero-Pérez, M. D.; Pérez-Magariño, S.; González-San José, M. L. Role of melanoidins in sweet wines. *Anal. Chim. Acta.* **2002**, *458*, 169-175.
377. Rizzi, G. P. Formation of Strecker aldehydes from polyphenol-derived quinones and  $\alpha$ -amino acids in a nonenzymic model system. *J. Agric. Food Chem.* **2006**, *54*, 1893-1897.
378. Robards, K.; Prenzler, P. D.; Tucker, G.; Swatsitang, P.; Glover, W. Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food Chem.* **1999**, *66*, 401-436.
379. Rodríguez-Bencomo, J. J.; Ortigas-Heras, M.; Pérez-Magariño, S.; González-Huerta, C.; González-San José, M. L. Importance of chip selection and elaboration process on the aromatic composition of finished wines. *J. Agric. Food Chem.* **2008**, *56*, 5102-5111.
380. Rodríguez-Bencomo, J. J.; Ortigas-Heras, M.; Pérez-Magariño, S.; González-Huerta, C. Volatile compounds of red wines macerated with spanish, american, and french oak chips. *J. Agric. Food Chem.* **2009**, *57*, 6383-6391.
381. Rodríguez Montealegre, R.; Romero Peces, R.; Chacón Vozmediano, J. L.; Martínez Gascueña, J.; García Romero, E. Phenolic compounds in skins and seeds of ten grape *Vitis vinifera* varieties grown in a warm climate. *J. Food Compos. Anal.* **2006**, *19*, 687-693.
382. Roggero, J. P.; Ragonnet, B.; Coen, S. Utilisation de la chromatographie liquide à haute performance dans l'analyse des anthocyanes des vins et des baies de raisin. Etude de quelques cépages. *Bull. Liaison Groupe Polyphénols* **1984**, *12*, 494-501.
383. Romero, C.; Bakker, J. Interactions between grape anthocyanins and pyruvic acid, with effect of pH and acid concentration on anthocyanin composition and color in model solutions. *J. Agric. Food Chem.* **1999**, *47*, 3130-3139.
384. Romero, C.; Bakker, J. Effect of acetaldehyde and several acids on the formation of vitisin A in model wine anthocyanin and colour evolution. *Int. J. Food Sci. Technol.* **2000**, *35*, 129-140.

385. Romero, C.; Bakker, J. Anthocyanin and colour evolution during maturation of four port wines: effect of pyruvic acid addition. *J. Sci. Food Agric.* **2001**, *81*, 252-260.
386. Romero-Cascales, I.; Fernández-Fernández, J. I.; López-Roca, J. M.; Gómez-Plaza, E. The maceration process during winemaking extraction of anthocyanins from grape skins into wine. *Eur. Food Res. Technol.* **2005**, *221*, 163-167.
387. Rossetti, D.; Bongaerts, J. H. H.; Wantling, E.; Stokes, J. R.; Williamson, A.M. Astringency of tea catechins: More than an oral lubrication tactile percept. *Food Hydrocolloids* **2009**, *23*, 1984-1992.
388. Rufián-Henares, J. A.; Guerra-Hernández, E.; García-Villanova, B. Pyrraline content in enteral formula processing and storage and model systems. *Eur. Food Res. Technol.* **2004** *219*, 42-47.
389. Ruiz, M. J.; Zea, L.; Moyano, L.; Medina, M. Aroma active compounds during the drying of grapes cv. Pedro Ximénez destined to the production of sweet sherry wine. *Eur. Food Res. Technol.* **2010**, *230*, 429-435.
390. Ruiz, M. J. Actividad odorante de mostos procedentes de uvas cv. Pedro Ximénez pasificadas tradicionalmente y en condiciones controladas. Elaboración de vinos licorosos. *Tesis doctoral, Universidad de Córdoba*, **2011**.
391. Sacchi, K. L.; Bisson, L. F.; Adams, D. O. A review of the effect of winemaking techniques on phenolic extraction in red wines. *Am. J. Enol. Vitic.* **2005**, *56*, 197-206.
392. Salas, E.; Fulcrand, H.; Meudec, E.; Cheynier, V. Reactions of anthocyanins and tannins in model solutions. *J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51*, 7951-7961.
393. Salas, E.; Atasanova, V.; Poncet-Legrand, C.; Meudec, E.; Mazauric, J. P.; Cheynier, V. Demonstration of the occurrence of flavanol-anthocyanin adducts in wine and in model solutions. *Anal. Chim. Acta* **2004a**, *513*, 325-332.
394. Salas, E.; Le Guernevé, C.; Fulcrand, H.; Poncet-Legrand, C.; Cheynier, V. Structure determination and colour properties of a new directly linked flavanol-anthocyanin dimer. *Tetrahedron Lett.* **2004b**, *45*, 8725-8729.
395. Salas, E.; Dueñas, M.; Schwarz, M.; Winterhalter, P.; Cheynier, V.; Fulcrand, H. Characterization of pigments from different high speed countercurrent chromatography wine fractions. *J. Agric. Food Chem.* **2005**, *53*, 4536-4546.
396. Salgues, M.; Cheynier, V.; Gunata, Z.; Wylde, R. Oxidation of grape juice 2-S-glutathionyl caffeoyl tartaric acid by *Botrytis cinerea* laccase and characterization of a new substance: 2,5-di-S-glutathionyl caffeoyl tartaric acid. *J. Food Sci.* **1986**, *51*, 1191-1194.

397. Santos-Buelga, C.; Bravo-Haro, S.; Rivas-Gonzalo, J. C. Interactions between catechin and malvidin-3-monoglucoside in models solutions. *Eur. Food Res. Technol.* **1995a**, *201*, 269-274.
398. Santos-Buelga, C.; Francia-Aricha, E. M.; Escribano-Bailón, M. T. Comparative flavan-3-ol composition of seeds from different grape varieties. *Food Chem.* **1995b**, *53*, 197-201.
399. Santos-Buelga, C.; Francia-Aricha, E. M.; De Pascual-Teresa, S.; Rivas-Gonzalo, J. C. Contribution to the identification of the pigments responsible for the browning of anthocyanin-flavanol solutions. *Eur. Food Res. Technol.* **1999**, *209*, 411-415.
400. Sarni-Manchado, P.; Fulcrand, H.; Souquet, J.; Cheynier, V.; Moutounet, M. Stability and color of unreported wine anthocyanin-derived pigments. *J. Food Sci.* **1996**, *61*, 938-941.
401. Sarni-Manchado, P.; Cheynier, V.; Moutonnet, M. Reactions of polyphenoloxidase generated caftaric acid *o*-quinone with malvidin 3-*O*-glucoside. *Phytochemistry* **1997**, *45*, 1365-1369.
402. Sartini, E.; Arfelli, G.; Fabiani, A.; Piva, A. Influence of chips, lees and micro-oxygenation during aging on the phenolic composition of a red Sangiovese wine. *Food Chem.* **2007**, *104*, 1599-1604.
403. Saucier, C.; Bourgeois, G.; Vitry, C.; Roux, D.; Glories, Y. Characterization of (+)-catechin-acetaldehyde polymers: A model for colloidal state of wine polyphenols. *J. Agric. Food Chem.* **1997**, *45*, 1045-1049.
404. Saucier, C.; Jourdes, M.; Glories, Y.; Quideau, S. Extraction, detection, and quantification of flavano-ellagitannins and ethylvescalagin in a Bordeaux red wine aged in oak barrels. *J. Agric. Food Chem.* **2006**, *54*, 7349-7354.
405. Schwarz, M.; Jerz, G.; Winterhalter, P. Isolation and structure of Pinotin A, a new anthocyanins derivative from Pinotage wines. *Vitis* **2003a**, *42*, 105-106.
406. Schwarz, M.; Quast, P.; Von Baer, D.; Winterhalter, P. Vitisin A content in Chilean wines from *Vitis vinifera* cv. Cabernet Sauvignon and contribution to the color of aged red wines. *J. Agric. Food Chem.* **2003b**, *51*, 6261-6267.
407. Schwarz, M.; Wabnitz, T.; Winterhalter, P. Pathway leading to the formation of anthocyanin-vinylphenol adducts and related pigments in red wines. *J. Agric. Food Chem.* **2003c**, *51*, 3682-3687.
408. Schwarz, M.; Picazo-Bacete, J. J.; Winterhalter, P.; Hermosín-Gutiérrez, I. Effect of copigments and grape cultivar on the color of red wines fermented after the addition of copigments. *J. Agric. Food Chem.* **2005**, *53*, 8372-8381.

409. Scott, E.; Steward, W. P.; Gescher, A. J.; Brown, K. Resveratrol in human cancer chemoprevention-choosing the 'right' dose. *Molec. Nutr. Food Res.* **2012**, *56*, 7-13.
410. Serratos, M. P.; López-Toledano, A.; Mérida, J.; Medina, M. Changes in color and phenolic compounds during the raisining of grape cv. Pedro Ximénez. *J. Agric. Food Chem.* **2008a**, *56*, 2810-2816.
411. Serratos, M. P.; López-Toledano, A.; Medina, M.; Mérida, J. Drying of Pedro Ximénez grapes in chamber at controlled temperature and with dipping pretreatments. Changes in the color fraction. *J. Agric. Food Chem.* **2008b**, *56*, 10739-10746.
412. Serratos, M. P. Caracterización de la fracción colorante de vinos dulces Pedro Ximénez. Estudio de la etapa de pasificación de la uva en condiciones controladas. *Tesis doctoral, Universidad de Córdoba*, **2009**.
413. Serratos, M. P.; López-Toledano, A.; Millán, C.; Medina, M.; Mérida, J. Changes of ochratoxin A in grapes inoculated with *Aspergillus carbonarius* and subjected to chamber-drying under controlled conditions. *J. Agric. Food Chem.* **2010**, *58*, 11907-11912.
414. Serratos, M. P.; Márquez, A.; López-Toledano, A.; Medina, M.; Mérida, J. Changes in hydrophilic and lipophilic antioxidant activity in relation to their phenolic composition during the chamber drying of red grapes at a controlled temperature. *J. Agric. Food Chem.* **2011**, *59*, 1882-1892.
415. Sharma, A.; Chen, C. R.; Vu Lan, N. Solar-energy drying systems: A review. *Renew. Sustain. Energy Rev.* **2009**, *13*, 1185-1210.
416. Silva Ferreira, A. C.; Guedes de Pinho, P.; Rodrigues, P.; Hogg, T. Kinetics of oxidative degradation of white wines and how they are affected by selected technological parameters. *J. Agric. Food Chem.* **2002**, *50*, 5919-5924.
417. Simpson, K. L. Chemical changes in natural food pigments. In: *Chemical changes in food during processing*. Richardson, T.; Finley, J. W. Eds.; Van Nostrand Reinhold: New York, **1985**; pp. 409-441.
418. Singleton, V. L.; Esau, P. Phenolic substances in grapes and wine, and their significance. *Adv. Food Res. Suppl.* **1969**, *1*, 1-261.
419. Singleton, V. L.; Timberlake, C. F.; Lea, A. G. H. The phenolic cinnamates of white grapes and wine. *J. Sci. Food Agric.* **1978**, *29*, 403-410.
420. Singleton, V. L.; Salgues, M.; Zaya, J.; Trousdale, E. Caftaric acid disappearance and conversion to products of enzymic oxidation in grape must and wine. *Am. J. Enol. Vitic.* **1985**, *36*, 50-56.



421. Singleton, V. L. Oxygen with phenols and related reactions in musts, wines, and model systems: Observations and practical implications. *Am. J. Enol. Vitic.* **1987**, *38*, 69-77.
422. Singleton, V. L. Wine phenols. In: *Wine analysis*. Linskens, H. F.; Jackson, J. F., Eds.; Springer-Verlag: Berlín, **1988**; pp. 173-218.
423. Sioumis, N.; Kallithraka, S.; Tsoutsouras, E.; Makris, D. P.; Kefalas, P. Browning development in white wines: Dependence on compositional parameters and impact on antioxidant characteristics. *Eur. Food Res. Technol.* **2005**, *220*, 326-330.
424. Smith, A. K.; June, H.; Noble, A. C. Effects of viscosity on the bitterness and astringency of grape seed tannin. *Food Qual. Prefer.* **1996**, *7*, 161-166.
425. Somers, T. C. The polymeric nature of wine pigments. *Phytochemistry* **1971**, *10*, 2175-2184.
426. Somers, T. C.; Evans, M. E. Wine quality: Correlations with colour density and anthocyanin equilibria in a group of young red wines. *J. Sci. Food Agric.* **1977**, *25*, 1369-1379.
427. Somers, T. C.; Evans, M. E. Grape pigment phenomena: Interpretation of major colour losses during vinification. *J. Sci. Food Agric.* **1979**, *30*, 623-633.
428. Somers, T. C.; Evans, M. E. Evolution of red wines I. Ambient influences on colour composition during early maturation. *Vitis*, **1986**, *25*, 31-39.
429. Somers, T.; Verette, E.; Pocock, K. Hydroxycinnamate esters of *Vitis vinifera*: changes during white vinification, and effects of exogenous enzymic hydrolysis. *J. Sci. Food Agric.* **1987**, *40*, 67-78.
430. Somers, T. C.; Verette, E. Phenolic composition of natural wine types. In: *Modern methods of plant analysis, New Series, vol. 6, Wine Analysis*. Linskens, H. F.; Jackson, J. F., Eds.; Springer-Verlag: Berlín, **1988**; pp. 219-257.
431. Soto Vázquez, E.; Rio Segade, S.; Orriols Fernández, I. Effect of the winemaking technique on phenolic composition and chromatic characteristics in young red wines. *Eur. Food Res. Technol.* **2010**, *231*, 789-802.
432. Souquet, J. M.; Cheynier, V.; Brossaud, F.; Moutounet, M. Polymeric proanthocyanidins from grape skins. *Phytochemistry* **1996**, *43*, 509-512.
433. Souquet, J. M.; Cheynier, V.; Moutounet, M. Les proanthocyanidines du raisin. *Bull. OIV* **2000a**, *73*, 835-836.
434. Souquet, M.; Cheynier, V.; Moutounet, M. phenolic composition of grape stems. *J. Agric. Food Chem.* **2000b**, *48*, 1076-1080.

435. Su, C. T.; Singleton, V. L. Identification of three flavan-3-ols from grapes. *Phytochemistry* **1969**, *8*, 1553-1558.
436. Sun, B.; Belchior, G. P.; Ricardo Da Silva, J. M.; Spranger, M. I. Isolation and purification of dimeric and trimeric procyanidins from grape seeds. *J. Chromatogr. A* **1999a**, *841*, 115-121.
437. Sun, B. S.; Pinto, T.; Leandro, M. C.; Ricardo Da Silva, J. M.; Spranger, M. I. Transfer of catechins and proanthocyanidins from solid parts of the grape cluster into wine. *Am. J. Enol. Vitic.* **1999b**, *50*, 179-184.
438. Sun, B.; Barradas, T.; Leandro, C.; Santos, C.; Spranger, I. Formation of new stable pigments from condensation reaction between malvidin 3-glucoside and (-)-epicatechin mediated by acetaldehyde: Effect of tartaric acid concentration. *Food Chem.* **2008**, *110*, 344-351.
439. Sunjka, P. S.; Rennie, T. J.; Beaudry, C.; Raghavan, G. S.V. Microwave-convective and microwave-vacuum drying of cranberries: a comparative study. *Drying Technol.* **2004**, *22*, 1217-1231.
440. Sun, B.; Neves, A. C.; Fernandes, T. A.; Fernandes, A. L.; Mateus, N.; De Freitas, V.; Leandro, C.; Spranger, M. I. Evolution of phenolic composition of red wine during vinification and storage and its contribution to wine sensory properties and antioxidant activity. *J. Agric. Food Chem.* **2011**, *59*, 6550-6557.
441. Surh, Y. J.; Hurh, Y. J.; Kang, J. Y.; Lee, E.; Kong, G.; Lee, S. J. Resveratrol, an antioxidant present in red wine, linepromyelocytic leukemia (HL-60) cells. *Cancer Lett.* **1999**, *140*, 1-10.
442. Tabart, J.; Kevers, C.; Pincemail, J.; Defraigne, J. O.; Dommès, J. Comparative antioxidant capacities of phenolic compounds measured by various test. *Food Chem.* **2009**, *113*, 1226-1233.
443. Thibon, C.; Dubourdieu, D.; Darriet, P.; Tominaga, T. Impact of noble rot on the aroma precursor of 3-sulfanylhexanol content in *Vitis vinifera* L. cv Sauvignon blanc and Semillon grape juice. *Food Chem.* **2009**, *114*, 1359-1364.
444. Thornalley, P. J. Pharmacology of methylglyoxal: formation, modification of proteins and nucleic acids, and enzymatic detoxification – a role in pathogenesis and antiproliferative chemotherapy. *Gen. Pharmacol.* **1996**, *27*, 565-573.
445. Thorngate, J. H. The physiology of human sensory response to wine: A review. *Am. J. Enol. Vitic.* **1997**, *48*, 271-279.
446. Tian, Q.; Giusti, M. M.; Stoner, G. D.; Shwartz, S. J. Screening for anthocyanins using high-performance liquid chromatography coupled to electrospray ionization tandem mass spectrometry with precursor-ion analysis, product-ion

- analysis, common-neutral-loss analysis, and selected reaction monitoring. *J. Chromatogr. A* **2005**, *1091*, 72-82.
447. Timberlake, C. F.; Bridle, P. Interactions between anthocyanins, phenolic compounds and acetaldehyde and their significance in red wines. *Am. J. Enol. Vitic.* **1976**, *27*, 97-105.
448. Timberlake, C. F.; Bridle, P. Anthocyanins: Color augmentation with catechin and acetaldehyde. *J. Sci. Food Agric.* **1977**, *26*, 539-544.
449. Toit, W. J. D.; Marais, J.; Pretorius, I. S.; Toit, M. D. Oxygen in must and wine-A review. *S. Afr. J. Enol. Vitic.* **2006**, *27*, 76-94.
450. Torelli, E.; Firrao, G.; Locci, R.; Gobbi, E. Ochratoxin A-producing strains of *Penicillium* spp. isolated from grapes used for the production of "passito" wines. *Int. J. Food Microb.* **2006**, *106*, 307 - 312.
451. Tulyathan, V.; Boulton, R. B.; Singleton, V. L. Oxygen uptake by gallic acid as a model for similar reactions in wines. *J. Agric. Food Chem.* **1989**, *37*, 844-849.
452. UNE 87022:1992. Análisis sensorial. Utensilios. Copa para la degustación de vino. *Aenor* **1992**.
453. UNE-ISO 4121:2006. Análisis sensorial. Directrices para la utilización de escalas de respuestas cuantitativas (ISO 4121:2003). *Aenor* **2006**.
454. UNE-EN ISO 4120:2008. Análisis sensorial. Metodología. Prueba triangular (ISO 4120:2004). *Aenor* **2008**.
455. Valero, A.; Farre, J. R.; Sanchís, V.; Ramos, A. J.; Marin, S. Effects of fungal interaction on ochratoxin A production by *A. carbonarius* at different temperatures and  $a_w$ . *Int. J. Food Microbiol.* **2006**, *110*, 160-164.
456. Vanzo, A.; Cecotti, R.; Vrhovsek, U.; Torres, A. M.; Mattivi, F.; Passamonti, S. The fate of trans-caftaric acid administered into the rat stomach. *J. Agric. Food Chem.* **2007**, *55*, 1604-1611.
457. Vega-Mercado, H.; Góngora-Nieto, M. M.; Barrosa-Canovas, G. V. Advances in dehydration of foods. *J. Food Engin.* **2001**, *49*, 274-279.
458. Vernhet, A.; Dupre, K.; Boulange-Petermann, L.; Cheynier, V.; Pellerin, P.; Moutounet, M. Composition of tartrate precipitates deposited on stainless steel tanks during the cold stabilization of wines. Part II. Red Wines. *Am. J. Enol. Vitic.* **1999**, *50*, 398-403.
459. Vidal, S.; Cartalade, D.; Souquet, J. M.; Fulcrand, H.; Cheynier, V. Changes in procyanidin chain length in winelike model solutions. *J. Agric. Food Chem.* **2002**, *50*, 2261-2266.

460. Vidal, S.; Meudec, E.; Cheynier, V.; Skouroumounis, G.; Hayasaka, Y. Mass spectrometric evidence for the existence of oligomeric anthocyanins in grape skins. *J. Agric. Food Chem.* **2004**, *52*, 7144-7151.
461. VijayaVenkataRaman, S.; Iniyar, S.; Goic, R. A review of solar drying technologies. *Renew. Sustain. Energy Rev.* **2012**, *16*, 2652-2670.
462. Vilanova, M.; Vidal, P.; Cortés, S. Análisis sensorial del 'Vino Tostado' en la Denominación de Origen Ribeiro (Galicia). *Enólogos* **2009**, *58*, 24-27.
463. Villaño, D.; Fernández-Pachón, M. S.; Troncoso, A. M.; García-Parrilla, M. C. Influence of enological practices on the antioxidant activity of wines. *Food Chem.* **2006**, *95*, 394-404.
464. Viriot, C.; Scalbert, A.; Herve du Penhoat, C. L. M.; Moutounet, M. Ellagitannins in woods of sessile oak and sweet chestnut dimerization and hydrolysis during wood aging. *Phytochemistry* **1994**, *36*, 1253-1260.
465. Vivar-Quintana, A. M.; Santos-Buelga, C.; Francia-Aricha, E.; Rivas-Gonzalo, J. C. Formation of anthocyanin-derived pigments in experimental red wines. *Food Sci. Technol. Int.* **1999**, *5*, 347-352.
466. Vivar-Quintana, A. M.; Santos-Buelga, C.; Rivas-Gonzalo, J. C. Anthocyanin-derived pigments and colour of red wines. *Anal. Chim. Acta* **2002**, *458*, 147-155.
467. Vivas, N.; Glories, Y. Role of oak wood ellagitannins in the oxidation process of red wines during aging. *Am. J. Enol. Vitic.* **1996**, *47*, 103-107.
468. Wang, H.; Race, E. J.; Shrikhande, A. J. Anthocyanin transformation in Cabernet Sauvignon wine during aging. *J. Agric. Food Chem.* **2003a**, *51*, 7989-7994.
469. Wang, H.; Race, E. J.; Shrikhande, A. J. Characterization of anthocyanins in grape juices by ion trap liquid chromatography-mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem.* **2003b**, *51*, 1839-1844.
470. Wang, C. Y.; Chen, C. T.; Wang, S. Y. Changes of flavonoid content and antioxidant capacity in blueberries after illumination with UV-C. *Food Chem.* **2009**, *117*, 426-431.
471. Wang, H. Y.; Qian, H.; Yao, W. R. Melanoidins produced by the Maillard reaction: Structure and biological activity. *Food Chem.* **2011**, *128*, 573-584.
472. Waterhouse, A. L.; Laurie, V. F. Oxidation of wine phenolics: A critical evaluation and hypotheses. *Am. J. Enol. Vitic.* **2006**, *57*, 306-313.
473. Weenan, H. Reactive intermediates and carbohydrate fragmentation in Maillard chemistry. *Food Chem.* **1998**, *62*, 393-401.

474. Wildenradt, H. L.; Singleton, V. L. The production of aldehydes as a result of oxidation of polyphenolic compounds and its relation to wine aging. *Am. J. Enol. Vitic.* **1974**, *25*, 119-126.
475. Xu, C.; Zhang, Y.; Cao, L.; Lu, J. Phenolic compounds and antioxidant properties of different grape cultivars grown in China. *Food Chem.* **2010**, *119*, 1557-1565.
476. Yaldiz, O.; Ertekin, C.; Uzun, H. I. Mathematical modeling of thin layer solar drying of Sultana grapes. *Energy* **2001**, *26*, 457- 465.
477. Yamakoshi, J.; Saito, M.; Kataoka, S.; Tokutake, S. Procyanidin-rich extracts from grape seeds prevents cataract formation in hereditary cataractous (ICR/f) rats. *J. Agric. Food Chem.* **2002**, *50*, 4983-4988.
478. Zafrilla, P.; Morillas, J.; Mulero, J.; Cayuela, J. M.; Martínez-Cachá, A.; Pardo, F.; López Nicolás, J. M. Changes during storage in conventional and ecological wine: Phenolic content and antioxidant activity. *J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51*, 4694-4700.
479. Zamora, F. In: *Elaboración y crianza del vino tinto: aspectos científicos y prácticos*. Zamora, F. Ed.; Mundi-Prensa: Madrid, **2003**.
480. Zimman, A.; Joslin, W. S.; Lyon, M. L.; Meier, J.; Waterhouse, A. L. Maceration variables affecting phenolic composition in commercial-scale Cabernet Sauvignon winemaking trials. *Am. J. Enol. Vitic.* **2002**, *53*, 93-98.
481. Zimman, A.; Waterhouse, A. L. Incorporation of malvidin-3-glucoside into high molecular weight polyphenols during fermentation and wine aging. *Am. J. Enol. Vitic.* **2004**, *55*, 139-146.
482. Zoecklein, B.; Fugelsang, K. C.; Gump, B. H.; Nury, F. S. In: *Wine analysis and production*. Zoecklein, B.; Fugelsang, K. C.; Gump, B. H.; Nury, F. S. Eds.; Chapman & Hall: New York, **1995**.
483. Zou, H.; Kilmartin, P. A.; Inglis, M. J.; Frost, A. Extraction of phenolic compounds during vinification of Pinot Noir wine examined by HPLC and cyclic voltammetry. *Aust. J. Grape Wine Res.* **2002**, *8*, 163-174.

## *Anexo 1. Tablas*

---



Tabla A.1. Evolución de las absorbancias a 420, 520 y 620 nm (u.a.) y de los parámetros color total de pigmentos y color de pigmentos poliméricos (u.a.) durante la pasificación en cámara de uvas tintas de las variedades Merlot, Syrah, Tempranillo y Cabernet Sauvignon (valores, media y desviación estándar).

	Merlot			Syrah			Tempranillo			Cabernet Sauvignon				
	0 h	24 h	48 h	0 h	24 h	37 h	0 h	24 h	48 h	72 h	0 h	24 h	48 h	72 h
A <sub>420</sub>	0.583	2.73	3.19	0.541	2.52	3.08	0.903	3.25	3.96	3.41	0.929	1.77	3.07	3.01
	0.583	2.70	3.26	0.536	2.51	3.14	0.905	3.22	4.00	3.47	0.919	1.75	3.07	3.02
	0.560	2.68	3.27	0.542	2.52	3.03	0.889	3.20	3.95	3.47	0.930	1.78	3.07	3.02
$\bar{x}$	0.575	2.70	3.24	0.540	2.52	3.08	0.899	3.22	3.97	3.45	0.926	1.76	3.07	3.02
s	0.013	0.026	0.047	0.003	0.010	0.058	0.009	0.023	0.026	0.036	0.006	0.016	0.004	0.001
A <sub>520</sub>	0.593	4.40	4.71	0.487	4.21	5.17	0.845	5.53	5.70	4.25	0.546	2.74	5.18	4.89
	0.593	4.39	4.73	0.481	4.21	5.18	0.843	5.49	5.75	4.29	0.540	2.72	5.18	4.89
	0.577	4.40	4.74	0.487	4.20	5.13	0.812	5.41	5.67	4.29	0.539	2.75	5.19	4.89
$\bar{x}$	0.588	4.40	4.73	0.485	4.21	5.16	0.833	5.47	5.71	4.28	0.542	2.74	5.19	4.89
s	0.009	0.008	0.018	0.003	0.009	0.024	0.019	0.061	0.037	0.027	0.004	0.015	0.005	0.001
A <sub>620</sub>	0.104	0.834	0.961	0.066	0.707	0.883	0.153	0.995	1.22	0.911	0.263	0.510	0.894	0.794
	0.106	0.817	0.990	0.063	0.692	0.923	0.155	0.985	1.23	0.930	0.261	0.506	0.902	0.784
	0.092	0.806	0.995	0.068	0.707	0.849	0.149	0.973	1.21	0.928	0.262	0.514	0.898	0.785
$\bar{x}$	0.101	0.819	0.982	0.066	0.702	0.885	0.152	0.984	1.22	0.923	0.262	0.510	0.898	0.788
s	0.008	0.014	0.018	0.003	0.009	0.037	0.003	0.011	0.010	0.010	0.001	0.004	0.004	0.006
WCA	3.20	13.8	12.2	1.64	12.1	12.0	3.16	14.9	15.3	8.59	2.19	9.95	13.9	8.93
	2.96	13.6	11.9	1.56	11.3	11.8	3.18	14.6	14.9	9.19	2.05	10.3	15.4	9.39
	2.99	13.6	12.4	1.64	12.0	12.1	3.30	15.2	14.3	8.83	1.95	11.0	15.4	9.90
$\bar{x}$	3.05	13.6	12.2	1.61	11.8	11.9	3.22	14.9	14.8	8.87	2.06	10.4	14.9	9.40
s	0.134	0.122	0.272	0.045	0.414	0.185	0.073	0.300	0.461	0.303	0.122	0.561	0.845	0.482
PPC	0.084	0.507	0.832	0.092	0.557	0.804	0.163	0.736	1.24	1.26	0.144	0.404	0.842	1.03
	0.086	0.517	0.764	0.101	0.573	0.864	0.161	0.726	1.26	1.28	0.171	0.397	0.885	0.985
	0.079	0.499	0.764	0.111	0.621	0.819	0.162	0.708	1.24	1.26	0.177	0.398	0.862	1.00
$\bar{x}$	0.083	0.508	0.787	0.101	0.584	0.829	0.162	0.723	1.25	1.27	0.164	0.400	0.863	1.00
s	0.004	0.009	0.039	0.010	0.033	0.031	0.001	0.014	0.010	0.009	0.018	0.004	0.022	0.020



Tabla A.2. Evolución de los parámetros CIELAB a\*, b\* y L\* (unidades CIELAB) durante el proceso de pasificación en cámara de uvas tintas de las variedades Merlot, Syrah, Tempranillo y Cabernet Sauvignon (valores, media y desviación estándar).

	Merlot			Syrah			Tempranillo			Cabernet Sauvignon				
	0 h	24 h	48 h	0 h	24 h	37 h	0 h	24 h	48 h	72 h	0 h	24 h	48 h	72 h
a*	30.3	50.1	47.7	26.5	53.6	50.1	39.1	48.1	44.0	49.1	12.0	57.4	50.4	52.7
	30.1	50.9	46.7	26.2	54.4	48.4	38.9	48.4	43.8	48.4	13.7	57.6	50.1	52.7
	30.2	51.3	46.4	26.1	53.5	51.0	38.1	48.4	44.2	48.5	12.7	57.3	50.1	52.7
$\bar{x}$	30.2	50.8	46.9	26.3	53.9	49.8	38.7	48.3	44.0	48.7	12.8	57.4	50.2	52.7
s	0.078	0.605	0.652	0.227	0.504	1.32	0.548	0.158	0.207	0.359	0.835	0.137	0.192	0.027
b*	18.7	31.7	28.2	22.1	35.8	31.3	27.3	27.8	22.2	30.5	19.1	29.9	31.2	34.5
	18.7	32.6	27.2	22.2	36.6	29.5	27.5	28.2	22.0	29.6	16.2	29.5	30.9	34.5
	18.1	32.9	26.9	22.8	35.8	32.3	27.5	28.3	22.5	29.7	18.5	30.1	30.8	34.5
$\bar{x}$	18.5	32.4	27.5	22.4	36.1	31.0	27.5	28.1	22.2	29.9	17.9	29.8	30.9	34.5
s	0.322	0.599	0.689	0.392	0.495	1.46	0.104	0.235	0.280	0.459	1.52	0.311	0.201	0.017
L*	71.9	19.7	16.9	76.6	22.7	18.6	61.7	16.5	12.9	18.1	67.3	30.5	18.6	20.6
	71.7	20.3	16.2	76.8	23.3	17.5	61.8	16.7	12.8	17.5	65.9	30.8	18.4	20.6
	72.9	20.5	16.0	76.6	22.7	19.3	62.6	16.8	13.1	15.6	67.3	30.3	18.3	20.6
$\bar{x}$	72.2	20.2	16.4	76.7	22.9	18.5	62.1	16.7	13.0	17.0	66.8	30.5	18.5	20.6
s	0.647	0.419	0.436	0.144	0.337	0.903	0.506	0.156	0.166	1.30	0.787	0.210	0.125	0.009

Tabla A.3. Evolución de los parámetros índice de polifenoles totales (u.a.) y taninos totales (g/L) durante el proceso de pasificación en cámara de uvas tintas de las variedades Merlot, Syrah, Tempranillo y Cabernet Sauvignon (valores, media y desviación estándar).

	Merlot			Syrah			Tempranillo			Cabernet Sauvignon				
	0 h	24 h	48 h	0 h	24 h	37 h	0 h	24 h	48 h	72 h	0 h	24 h	48 h	72 h
IPT	9.20	27.9	31.0	8.73	31.1	31.6	11.8	40.7	48.8	41.5	11.4	22.8	34.4	32.0
	8.58	27.7	30.3	8.80	29.4	32.4	12.2	39.9	47.0	44.4	13.2	23.6	38.0	34.9
	8.77	27.6	31.4	8.78	31.0	33.2	11.9	41.8	45.0	42.5	12.4	24.8	37.9	35.6
$\bar{x}$	8.85	27.7	30.9	8.77	30.5	32.4	12.0	40.8	47.0	42.8	12.4	23.7	36.8	34.2
s	0.318	0.128	0.586	0.036	0.943	0.775	0.206	0.934	1.89	1.48	0.900	1.02	2.08	1.90
Taninos totales	3.18	5.30	11.0	3.93	6.68	7.61	4.93	7.97	11.2	13.8	4.62	6.19	8.72	11.5
	3.33	5.31	10.0	3.86	6.62	7.51	5.15	7.88	11.5	12.8	4.46	5.97	8.40	10.9
	2.89	5.12	10.8	3.98	6.39	7.43	5.17	7.96	11.4	13.0	4.97	6.68	8.59	11.1
$\bar{x}$	3.14	5.24	10.6	3.92	6.56	7.52	5.08	7.94	11.4	13.2	4.68	6.28	8.57	11.2
s	0.223	0.110	0.523	0.062	0.152	0.090	0.134	0.048	0.148	0.525	0.260	0.361	0.162	0.296

Tabla A.4. Evolución de antocianos glucosilados (mg/L) durante el proceso de pasificación en cámara de uvas tintas de las variedades Merlot, Syrah, Tempranillo y Cabernet Sauvignon (valores, media y desviación estándar).

	Merlot			Syrah			Tempranillo			Cabernet Sauvignon				
	0 h	24 h	48 h	0 h	24 h	37 h	0 h	24 h	48 h	72 h	0 h	24 h	48 h	72 h
Delfinidín-3-O-glucósido	3.19	7.80	6.09	2.16	6.14	5.58	2.15	15.7	11.7	7.61	3.07	5.88	8.52	6.10
	3.12	7.40	5.94	2.13	6.02	5.55	2.14	17.0	10.9	7.44	2.96	6.15	8.25	6.17
$\bar{x}$	3.01	7.28	5.73	2.14	5.85	5.16	2.15	16.3	11.4	7.68	3.09	5.59	8.40	6.33
	3.11	7.49	5.92	2.14	6.00	5.43	2.15	16.3	11.3	7.58	3.04	5.87	8.39	6.20
s	0.091	0.272	0.181	0.015	0.146	0.234	0.006	0.651	0.404	0.123	0.070	0.280	0.135	0.118
	4.21	7.17	6.26	4.72	9.20	7.31	3.22	7.09	6.88	5.31	2.51	4.30	5.54	4.55
Cianidín-3-O-glucósido	4.06	6.94	6.10	4.49	8.88	7.20	3.19	7.42	6.43	5.28	2.53	4.12	5.55	4.66
	3.91	6.81	5.96	4.38	8.43	6.44	3.11	7.32	6.73	5.42	2.52	4.41	5.59	4.71
$\bar{x}$	4.06	6.97	6.11	4.53	8.84	6.98	3.17	7.28	6.68	5.34	2.52	4.28	5.56	4.64
	0.150	0.182	0.150	0.173	0.387	0.474	0.057	0.169	0.229	0.074	0.010	0.146	0.026	0.082
Petunidín-3-O-glucósido	3.98	12.6	10.1	2.73	10.5	9.21	2.52	24.6	19.9	11.5	3.59	8.20	12.4	8.64
	3.85	12.2	9.47	2.60	10.2	9.07	2.51	26.0	18.2	11.4	3.67	8.02	12.3	8.53
$\bar{x}$	3.75	12.3	9.36	2.58	9.85	7.88	2.53	25.1	18.8	11.3	3.70	7.96	12.6	8.81
	3.86	12.4	9.64	2.64	10.2	8.72	2.52	25.2	19.0	11.4	3.65	8.06	12.4	8.66
s	0.115	0.208	0.399	0.081	0.325	0.731	0.010	0.710	0.862	0.100	0.057	0.125	0.153	0.141
	13.7	46.1	33.8	13.8	61.1	44.9	5.29	16.6	18.9	11.3	6.84	13.2	21.2	12.2
Peonidín-3-O-glucósido	13.0	43.6	30.2	13.1	57.0	42.6	5.28	16.6	16.3	11.1	6.75	13.8	21.1	12.1
	12.1	42.6	29.6	12.6	54.5	43.7	5.09	16.4	17.0	11.0	6.71	13.5	21.1	12.4
$\bar{x}$	12.9	44.1	31.2	13.2	57.5	43.7	5.22	16.5	17.4	11.1	6.77	13.5	21.1	12.2
	0.802	1.80	2.27	0.603	3.33	1.15	0.113	0.115	1.35	0.153	0.067	0.300	0.057	0.153
Malvidín-3-O-glucósido	24.5	121.8	105.8	9.62	83.9	78.8	19.9	142.8	136.6	78.1	33.9	125.1	232.9	106.3
	23.6	115.4	97.6	9.21	79.4	75.9	19.8	154.1	120.3	77.1	31.9	128.4	207.3	103.5
$\bar{x}$	22.3	113.7	95.6	8.94	76.2	77.1	18.9	149.5	125.7	77.2	31.9	129.2	198	106.4
	23.5	117.0	99.7	9.26	79.8	77.3	19.5	148.8	127.5	77.5	32.6	127.6	212.7	105.4
s	1.11	4.27	5.41	0.342	3.87	1.46	0.551	5.68	8.30	0.551	1.15	2.17	18.1	1.65

Tabla A.5. Evolución de antocianos acetilglucosilados (mg/L) durante el proceso de pasificación en cámara de uvas tintas de las variedades Merlot, Syrah, Tempranillo y Cabernet Sauvignon (valores, media y desviación estándar).

	Merlot			Syrah			Tempranillo			Cabernet Sauvignon				
	0 h	24 h	48 h	0 h	24 h	37 h	0 h	24 h	48 h	72 h	0 h	24 h	48 h	72 h
Delfinidín-3-O-acetilglucósido	2.24	5.49	4.52	2.08	4.59	4.71	2.08	4.72	5.13	5.01	2.26	5.45	6.09	5.21
$\bar{x}$	2.23	4.72	4.45	2.07	4.63	4.86	2.08	5.09	5.47	5.02	2.24	5.38	6.10	5.36
<i>s</i>	2.23	4.68	4.30	2.12	4.80	4.87	2.05	5.14	5.51	5.02	2.39	5.15	6.11	5.53
$\bar{x}$	2.23	4.96	4.42	2.09	4.67	4.81	2.07	4.98	5.37	5.02	2.30	5.33	6.10	5.37
<i>s</i>	0.006	0.457	0.112	0.026	0.112	0.090	0.017	0.229	0.209	0.005	0.081	0.157	0.010	0.160
Cianidín-3-O-acetilglucósido	2.11	4.64	4.56	2.35	4.98	4.66	2.06	4.25	4.22	4.14	2.23	5.17	5.08	4.85
$\bar{x}$	2.11	4.65	4.65	2.28	4.82	4.66	2.06	4.20	4.18	4.12	2.27	5.17	5.05	4.78
<i>s</i>	2.09	4.63	4.45	2.32	4.75	4.60	2.07	4.20	4.35	4.18	2.29	5.45	5.07	4.78
$\bar{x}$	2.10	4.64	4.55	2.32	4.85	4.64	2.06	4.22	4.25	4.15	2.26	5.26	5.07	4.80
<i>s</i>	0.012	0.010	0.100	0.035	0.118	0.035	0.006	0.029	0.089	0.030	0.031	0.162	0.015	0.040
Petunidín-3-O-acetilglucósido	2.51	6.04	5.47	2.14	5.45	5.11	2.10	5.45	5.01	4.57	2.57	5.23	6.49	5.58
$\bar{x}$	2.49	6.06	5.30	2.17	5.35	5.14	2.08	5.52	5.00	4.56	2.66	5.24	6.54	5.74
<i>s</i>	2.47	5.88	5.25	2.15	5.33	4.86	2.08	5.50	5.04	4.48	2.59	5.42	6.52	5.59
$\bar{x}$	2.49	5.99	5.34	2.15	5.38	5.04	2.09	5.49	5.02	4.54	2.61	5.30	6.52	5.64
<i>s</i>	0.020	0.099	0.115	0.015	0.064	0.154	0.012	0.036	0.021	0.049	0.047	0.107	0.025	0.090
Peonidín-3-O-acetilglucósido	4.38	11.2	9.15	4.45	16.9	13.1	2.18	6.99	6.61	5.43	3.28	6.67	8.16	6.33
$\bar{x}$	4.26	11.0	8.48	4.26	16.1	12.6	2.18	7.31	6.30	5.14	3.34	6.90	8.38	6.25
<i>s</i>	4.12	10.8	8.52	4.17	15.7	12.8	2.18	7.17	6.46	5.12	3.31	7.03	8.24	6.32
$\bar{x}$	4.25	11.0	8.72	4.29	16.2	12.8	2.18	7.16	6.46	5.23	3.31	6.87	8.26	6.30
<i>s</i>	0.130	0.200	0.376	0.143	0.611	0.252	0.001	0.160	0.155	0.173	0.030	0.182	0.111	0.044
Malvidín-3-O-acetilglucósido	8.14	34.4	28.0	4.05	30.0	27.1	3.09	13.0	12.0	8.83	15.8	51.3	57.5	37.4
$\bar{x}$	7.86	33.8	26.5	3.97	28.7	26.3	3.05	13.8	11.2	8.43	15.3	51.8	56.8	37.7
<i>s</i>	7.58	33.7	26.3	3.94	27.8	27.0	3.05	13.6	11.5	8.58	15.3	52.0	66.8	38.7
$\bar{x}$	7.86	34.0	26.9	3.99	28.8	26.8	3.06	13.5	11.6	8.61	15.5	51.7	60.4	37.9
<i>s</i>	0.280	0.379	0.929	0.057	1.11	0.436	0.023	0.416	0.404	0.202	0.289	0.360	5.58	0.681

Tabla A.6. Evolución de antocianos cumaril y cafeoilglucosilados (mg/L) durante el proceso de pasificación en cámara de uvas tintas de las variedades Merlot, Syrah, Tempranillo y Cabernet Sauvignon (valores, media y desviación estándar).

	Merlot			Syrah			Tempranillo			Cabernet Sauvignon				
	0 h	24 h	48 h	0 h	24 h	37 h	0 h	24 h	48 h	72 h	0 h	24 h	48 h	72 h
Cianidín-3-O-cumarilglucósido	2.12	4.57	4.42	2.25	5.25	5.24	2.07	4.80	4.72	4.32	nd	nd	4.31	4.14
	2.09	4.52	4.40	2.15	5.62	5.34	2.08	4.55	4.41	4.31	nd	nd	4.26	4.19
$\bar{x}$	2.09	4.60	4.45	2.14	5.62	4.95	2.08	4.47	4.43	4.47	nd	nd	4.28	4.11
	2.10	4.56	4.42	2.18	5.50	5.18	2.08	4.61	4.52	4.37	nd	nd	4.28	4.15
s	0.017	0.040	0.025	0.061	0.214	0.203	0.006	0.172	0.173	0.090	nd	nd	0.025	0.040
Petunidín-3-O-cumarilglucósido	2.15	4.49	4.45	2.11	4.86	4.68	2.10	7.44	6.54	5.29	nd	nd	4.42	4.16
	2.10	4.52	4.45	2.08	4.85	4.73	2.12	7.51	6.28	5.26	nd	nd	4.42	4.21
$\bar{x}$	2.11	4.59	4.51	2.09	4.75	4.55	2.09	7.41	6.34	5.29	nd	nd	4.44	4.22
	2.12	4.53	4.47	2.09	4.82	4.65	2.10	7.45	6.39	5.28	nd	nd	4.43	4.20
s	0.026	0.051	0.035	0.015	0.061	0.093	0.015	0.051	0.136	0.017	nd	nd	0.011	0.032
Peonidín-3-O-cumarilglucósido	2.36	4.70	4.82	2.92	7.61	6.63	2.17	5.13	5.12	4.53	nd	nd	4.42	4.19
	2.35	4.98	4.78	2.85	7.47	6.59	2.14	5.13	4.97	4.60	nd	nd	4.38	4.29
$\bar{x}$	2.33	4.71	4.73	2.82	7.29	5.85	2.15	5.20	4.94	4.52	nd	nd	4.40	4.29
	2.35	4.80	4.78	2.86	7.46	6.36	2.15	5.15	5.01	4.55	nd	nd	4.40	4.26
s	0.015	0.159	0.045	0.051	0.160	0.439	0.015	0.040	0.096	0.044	nd	nd	0.020	0.058
Malvidín-3-O-cumarilglucósido	2.70	7.00	6.74	2.52	9.80	9.25	2.71	17.7	15.6	10.3	2.22	4.84	6.81	5.22
	2.69	7.11	6.67	2.47	9.44	9.08	2.64	18.2	14.2	10.3	2.31	4.89	6.59	5.32
$\bar{x}$	2.63	6.79	6.64	2.40	9.23	7.96	2.70	18.2	14.5	10.3	2.50	5.10	6.70	5.21
	2.67	6.97	6.68	2.46	9.49	8.76	2.68	18.0	14.8	10.3	2.34	4.94	6.70	5.25
s	0.038	0.163	0.051	0.060	0.288	0.701	0.038	0.289	0.737	0.001	0.143	0.138	0.110	0.061
Malvidín-3-O-cafeoilglucósido	2.17	6.08	6.20	2.08	6.58	6.68	2.21	7.55	8.63	6.95	2.26	5.23	6.29	5.30
	2.17	6.14	6.10	2.10	6.44	6.76	2.21	7.78	8.14	6.88	2.53	5.32	6.17	5.68
$\bar{x}$	2.16	6.16	6.13	2.04	6.34	6.16	2.22	7.69	8.29	6.96	2.25	5.21	6.20	5.59
	2.17	6.13	6.14	2.07	6.45	6.53	2.21	7.67	8.35	6.93	2.35	5.25	6.22	5.52
s	0.006	0.042	0.051	0.031	0.121	0.326	0.006	0.116	0.251	0.044	0.159	0.059	0.062	0.199

Tabla A.7. Evolución de aductos tipo vitisina (mg/L) durante el proceso de pasificación en cámara de uvas tintas de las variedades Merlot, Syrah, Tempranillo y Cabernet Sauvignon (valores, media y desviación estándar).

	Merlot			Syrah			Tempranillo			Cabernet Sauvignon				
	0 h	24 h	48 h	0 h	24 h	37 h	0 h	24 h	48 h	72 h	0 h	24 h	48 h	72 h
Vitisina tipo A	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
malvidín-3-O-	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
acetilglucósido	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
$\bar{x}$	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
s	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Vitisina tipo B	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0.413	0.320	0.265	nd	nd	nd	nd
malvidín-3-O-	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0.338	0.256	0.253	nd	nd	nd	nd
glucósido	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0.325	0.317	0.276	nd	nd	nd	nd
$\bar{x}$	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0.359	0.298	0.265	nd	nd	nd	nd
s	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0.048	0.036	0.012	nd	nd	nd	nd
Vitisina tipo B	nd	nd	0.688	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0.446	0.500
peonidín-3-O-	nd	nd	0.519	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0.485	0.446
acetilglucósido	nd	nd	0.566	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0.450	0.449
$\bar{x}$	nd	nd	0.591	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0.460	0.465
s	nd	nd	0.087	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0.021	0.030

Tabla A.8. Evolución de aductos de condensación antociano-metilmetileno-flavanol (mg/L) durante el proceso de pasificación en cámara de uvas tintas de las variedades Merlot, Syrah, Tempranillo y Cabernet Sauvignon (valores, media y desviación estándar).

	Merlot			Syrah			Tempranillo			Cabernet Sauvignon				
	0 h	24 h	48 h	0 h	24 h	37 h	0 h	24 h	48 h	72 h	0 h	24 h	48 h	72 h
Malvidín-3-O-glc-metilmetileno-(epi)catequina	nd	0.791	0.467	nd	0.797	0.750	nd	0.522	0.336	0.327	nd	0.615	1.07	1.09
	nd	0.738	0.418	nd	0.742	0.648	nd	0.505	0.296	0.365	nd	0.556	0.990	1.28
	nd	0.786	0.456	nd	0.793	0.811	nd	0.531	0.298	0.417	nd	0.713	0.963	1.16
$\bar{x}$	nd	0.772	0.447	nd	0.777	0.736	nd	0.519	0.310	0.370	nd	0.628	1.01	1.18
s	nd	0.029	0.026	nd	0.031	0.082	nd	0.013	0.023	0.045	nd	0.079	0.056	0.096
Malvidín-3-O-glc-metilmetileno-(epi)catequina	nd	nd	nd	nd	nd	0.382	nd	nd	0.564	0.320	nd	nd	nd	nd
	nd	nd	nd	nd	nd	0.388	nd	nd	0.432	0.381	nd	nd	nd	nd
	nd	nd	nd	nd	nd	0.399	nd	nd	0.455	0.371	nd	nd	nd	nd
$\bar{x}$	nd	nd	nd	nd	nd	0.390	nd	nd	0.484	0.357	nd	nd	nd	nd
s	nd	nd	nd	nd	nd	0.009	nd	nd	0.071	0.033	nd	nd	nd	nd
Malvidín-3-O-glc-metilmetileno-(epi)catequina	nd	0.344	0.269	nd	0.413	0.352	nd	0.395	0.397	0.361	nd	nd	nd	nd
	nd	0.367	0.249	nd	0.432	0.335	nd	0.403	0.327	0.276	nd	nd	nd	nd
	nd	0.349	0.278	nd	0.384	0.324	nd	0.399	0.393	0.344	nd	nd	nd	nd
$\bar{x}$	nd	0.353	0.265	nd	0.410	0.337	nd	0.399	0.372	0.327	nd	nd	nd	nd
s	nd	0.012	0.015	nd	0.024	0.014	nd	0.004	0.039	0.045	nd	nd	nd	nd

Tabla A.9. Evolución de ácidos hidroxibenzoicos (mg/L) durante el proceso de pasificación en cámara de uvas tintas de las variedades Merlot, Syrah, Tempranillo y Cabernet Sauvignon (valores, media y desviación estándar).

	Merlot			Syrah			Tempranillo			Cabernet Sauvignon				
	0 h	24 h	48 h	0 h	24 h	37 h	0 h	24 h	48 h	72 h	0 h	24 h	48 h	72 h
Ácido gálico	1.30	1.86	3.91	1.30	1.98	2.80	1.11	1.98	4.40	13.6	1.53	1.80	5.77	12.3
$\bar{x}$	1.26	2.22	3.81	1.30	2.03	2.77	1.02	1.99	5.43	13.6	1.44	1.72	5.96	12.4
s	1.25	2.02	3.75	1.33	1.92	2.86	1.05	1.96	4.81	13.4	1.48	1.79	6.09	12.2
	1.27	2.03	3.82	1.31	1.98	2.81	1.06	1.98	4.88	13.5	1.48	1.77	5.94	12.3
	0.026	0.180	0.081	0.017	0.055	0.046	0.046	0.015	0.519	0.115	0.045	0.044	0.161	0.100
Ácido protocatéuico	1.96	2.09	2.31	0.563	2.09	2.15	1.43	0.557	2.93	3.53	1.62	3.51	1.24	5.31
$\bar{x}$	1.79	1.75	1.87	0.510	2.11	2.56	1.27	0.530	2.33	3.36	1.59	3.56	1.40	5.24
s	1.97	2.60	1.88	0.501	2.34	2.34	1.25	0.452	2.75	3.18	1.61	3.51	1.67	4.74
	1.91	2.15	2.02	0.525	2.18	2.35	1.32	0.513	2.67	3.36	1.61	3.53	1.44	5.10
	0.101	0.428	0.251	0.034	0.139	0.205	0.099	0.055	0.308	0.175	0.015	0.029	0.217	0.311
Ácido vanillico	nd	2.00	3.27	nd	nd	nd	nd	nd	0.884	0.908	nd	1.22	3.17	2.91
$\bar{x}$	nd	2.06	2.98	nd	nd	nd	nd	nd	1.00	0.910	nd	1.37	2.96	2.85
s	nd	2.10	2.83	nd	nd	nd	nd	nd	0.862	0.796	nd	1.29	2.83	2.86
	nd	2.05	3.03	nd	nd	nd	nd	nd	0.914	0.871	nd	1.29	2.99	2.87
	nd	0.050	0.224	nd	nd	nd	nd	nd	0.072	0.065	nd	0.075	0.172	0.032
Ácido siríngico	2.02	2.10	2.63	0.356	0.449	0.296	nd	nd	1.48	1.46	1.76	2.26	2.41	2.53
$\bar{x}$	2.23	1.69	2.57	0.348	0.475	0.256	nd	nd	1.57	1.41	1.63	2.17	2.16	2.45
s	2.24	2.16	2.37	0.330	0.365	0.239	nd	nd	1.53	1.48	1.60	2.20	2.21	2.48
	2.16	1.98	2.52	0.345	0.430	0.264	nd	nd	1.53	1.45	1.66	2.21	2.26	2.49
	0.124	0.256	0.136	0.013	0.057	0.029	nd	nd	0.045	0.036	0.085	0.046	0.132	0.040



Tabla A.10. Evolución de ésteres de ácidos hidroxinámicos (mg/L) durante el proceso de pasificación en cámara de uvas tintas de las variedades Merlot, Syrah, Tempranillo y Cabernet Sauvignon (valores, media y desviación estándar).

	Merlot			Syrah			Tempranillo			Cabernet Sauvignon				
	0 h	24 h	48 h	0 h	24 h	37 h	0 h	24 h	48 h	72 h	0 h	24 h	48 h	72 h
Ácido <i>c</i> -caftárico	0.563	0.768	0.809	0.187	2.10	1.53	0.612	0.623	0.669	0.940	1.25	1.07	1.85	2.16
	0.625	0.842	0.862	0.166	2.08	1.49	0.631	0.619	0.746	0.990	1.32	1.07	1.84	2.13
	0.701	0.820	0.878	0.186	2.05	1.47	0.618	0.621	0.720	0.962	1.17	1.05	1.84	2.11
$\bar{x}$	0.630	0.810	0.850	0.180	2.08	1.50	0.620	0.621	0.712	0.964	1.25	1.06	1.84	2.13
<i>s</i>	0.069	0.038	0.036	0.012	0.025	0.031	0.010	0.002	0.039	0.025	0.075	0.012	0.006	0.025
Ácido <i>t</i> -caftárico	1.21	1.12	1.07	6.10	3.90	4.31	1.69	0.851	1.55	1.15	0.406	0.543	0.481	0.715
	1.19	1.07	0.817	5.76	3.73	3.93	1.55	0.846	1.65	1.14	0.448	0.520	0.472	0.655
	1.14	0.926	0.834	5.50	3.67	3.68	1.48	0.842	1.60	1.13	0.420	0.483	0.468	0.623
$\bar{x}$	1.18	1.04	0.907	5.79	3.77	3.97	1.57	0.846	1.60	1.14	0.425	0.515	0.474	0.664
<i>s</i>	0.036	0.101	0.141	0.301	0.119	0.317	0.107	0.005	0.050	0.010	0.021	0.030	0.007	0.047
Ácido <i>c</i> -cutárico	0.600	0.618	0.606	1.26	1.11	0.674	1.25	1.08	1.01	0.893	0.822	0.720	0.661	0.794
	0.572	0.628	0.646	1.12	1.09	0.781	1.22	1.10	0.975	0.832	0.828	0.702	0.678	0.787
	0.553	0.602	0.652	1.13	1.10	0.778	1.24	1.08	1.10	0.891	0.806	0.749	0.694	0.782
$\bar{x}$	0.575	0.616	0.635	1.17	1.10	0.744	1.23	1.08	1.03	0.872	0.819	0.724	0.678	0.788
<i>s</i>	0.024	0.013	0.025	0.078	0.010	0.061	0.014	0.010	0.064	0.035	0.011	0.024	0.017	0.006
Ácido <i>t</i> -cutárico	0.523	0.616	0.805	1.17	1.02	1.04	0.892	0.855	0.828	0.700	0.901	0.690	0.888	1.03
	0.532	0.614	0.748	1.16	1.03	1.01	0.870	0.862	0.729	0.778	0.878	0.689	0.883	1.00
	0.534	0.665	0.876	1.16	1.08	1.05	0.879	0.862	0.710	0.759	0.891	0.723	0.891	1.03
$\bar{x}$	0.530	0.632	0.810	1.16	1.04	1.03	0.880	0.860	0.713	0.774	0.890	0.701	0.887	1.02
<i>s</i>	0.006	0.029	0.064	0.006	0.032	0.021	0.011	0.004	0.015	0.013	0.012	0.019	0.004	0.017

Tabla A.10. (Continuación). Evolución de ésteres de ácidos hidroxicinámicos (mg/L) durante el proceso de pasificación en cámara de uvas tintas de las variedades Merlot, Syrah, Tempranillo y Cabernet Sauvignon (valores, media y desviación estándar).

	Merlot			Syrah			Tempranillo			Cabernet Sauvignon				
	0 h	24 h	48 h	0 h	24 h	37 h	0 h	24 h	48 h	72 h	0 h	24 h	48 h	72 h
Ácido c-fertárico	0.485	0.299	0.265	1.15	1.11	1.19	1.29	1.00	1.26	1.04	0.340	0.211	0.379	0.409
	0.509	0.313	0.186	1.14	1.10	1.10	1.33	0.994	1.23	1.03	0.351	0.203	0.355	0.483
$\bar{x}$	0.472	0.316	0.213	1.11	1.13	1.07	1.20	1.02	1.21	0.893	0.386	0.258	0.329	0.445
s	0.489	0.309	0.221	1.13	1.11	1.12	1.27	1.00	1.23	0.988	0.359	0.224	0.354	0.446
	0.019	0.009	0.040	0.021	0.015	0.062	0.067	0.014	0.025	0.082	0.024	0.030	0.025	0.037
Ácido t-fertárico	0.072	0.114	0.097	0.075	0.094	0.046	0.066	0.190	0.198	0.232	0.166	0.114	0.202	0.197
	0.093	0.091	0.175	0.060	0.101	0.047	0.045	0.153	0.205	0.253	0.163	0.100	0.207	0.202
$\bar{x}$	0.103	0.123	0.114	0.062	0.108	0.043	0.061	0.154	0.223	0.264	0.170	0.132	0.193	0.225
s	0.089	0.109	0.129	0.066	0.101	0.045	0.057	0.166	0.209	0.250	0.166	0.115	0.201	0.208
	0.016	0.017	0.041	0.008	0.007	0.002	0.011	0.021	0.013	0.016	0.004	0.016	0.007	0.015

Tabla A.11. Evolución de derivados del flavan-3-ol (mg/L) durante el proceso de pasificación en cámara de uvas tintas de las variedades Merlot, Syrah, Tempranillo y Cabernet Sauvignon (valores, media y desviación estándar).

	Merlot			Syrah			Tempranillo			Cabernet Sauvignon				
	0 h	24 h	48 h	0 h	24 h	37 h	0 h	24 h	48 h	0 h	24 h	48 h	72 h	
(+)-Catequina	5.09	10.9	10.9	4.08	10.1	5.38	4.37	13.2	13.5	12.6	8.70	12.0	20.2	31.7
	6.21	11.8	9.96	4.08	10.5	5.79	2.55	13.7	15.5	13.3	8.55	12.7	19.8	31.2
	5.83	11.2	10.6	4.04	10.4	5.50	3.61	17.3	16.3	13.9	8.80	12.3	20.3	31.3
$\bar{x}$	5.71	11.3	10.5	4.07	10.3	5.56	3.51	14.7	15.1	13.3	8.68	12.3	20.1	31.4
s	0.570	0.455	0.465	0.023	0.208	0.211	0.914	2.26	1.42	0.635	0.126	0.329	0.252	0.278
(-)-Epicatequina	14.2	37.4	57.0	10.0	26.9	38.6	46.5	44.0	81.0	77.6	18.9	58.8	78.7	106.7
	14.5	39.0	59.4	9.84	26.9	35.9	44.7	43.8	81.5	75.4	17.8	55.9	78.6	105.4
	14.2	38.3	55.2	10.0	26.6	38.3	43.5	43.1	81.9	72.7	18.6	59.2	79.3	108.6
$\bar{x}$	14.3	38.2	57.2	9.95	26.8	37.6	24.9	43.6	81.5	75.2	18.4	58.0	78.9	106.9
s	0.191	0.802	2.11	0.092	0.173	1.48	1.50	0.473	0.451	2.45	0.541	1.80	0.379	1.61
Procianidinas B1 + B3	2.89	10.3	4.84	12.8	16.6	25.7	21.5	33.1	38.5	19.4	15.0	23.5	64.1	48.6
	3.04	11.7	5.64	12.7	16.8	27.2	20.8	35.1	36.3	20.0	14.5	26.2	62.9	45.9
	3.07	11.3	5.65	12.5	17.0	26.0	20.9	35.2	36.7	20.5	15.3	22.4	62.4	46.6
$\bar{x}$	3.00	11.1	5.38	12.7	16.8	26.3	21.1	34.5	37.2	20.0	14.9	24.0	63.1	47.0
s	0.096	0.743	0.465	0.153	0.200	0.794	0.380	1.18	1.17	0.550	0.429	1.97	0.874	1.40
Procianidinas B2 + B4	4.60	6.52	3.78	9.78	12.6	19.2	8.41	9.05	11.5	10.6	11.5	12.3	12.1	17.3
	4.83	6.46	4.40	9.95	12.2	18.8	7.82	9.62	11.7	12.5	12.1	11.7	12.3	16.3
	4.65	6.66	4.40	9.94	12.4	20.2	7.30	10.6	11.2	12.4	12.3	10.2	12.6	19.6
$\bar{x}$	4.69	6.55	4.19	9.89	12.4	19.4	7.84	9.76	11.5	11.8	11.9	11.4	12.3	17.8
s	0.121	0.103	0.358	0.095	0.200	0.721	0.555	0.784	0.252	1.07	0.421	1.06	0.254	1.70

Tabla A.11. (Continuación). Evolución de derivados del flavan-3-ol (mg/L) durante el proceso de pasificación en cámara de uvas tintas de las variedades Merlot, Syrah, Tempranillo y Cabernet Sauvignon (valores, media y desviación estándar).

	Merlot			Syrah			Tempranillo			Cabernet Sauvignon				
	0 h	24 h	48 h	0 h	24 h	37 h	0 h	24 h	48 h	72 h	0 h	24 h	48 h	72 h
B2-3-O-galato	0.119	0.189	0.260	1.83	1.23	1.29	1.26	0.849	1.07	1.35	nd	0.817	0.804	1.00
	0.118	0.150	0.281	1.85	1.13	1.55	1.44	0.755	1.00	1.12	nd	1.00	0.829	1.27
	0.124	0.225	0.282	1.75	1.22	1.32	1.41	0.915	1.19	1.62	nd	0.874	0.783	0.877
$\bar{x}$	0.120	0.188	0.274	1.81	1.19	1.39	1.37	0.840	1.09	1.36	nd	0.897	0.805	1.05
s	0.003	0.038	0.012	0.053	0.055	0.142	0.096	0.080	0.096	0.250	nd	0.094	0.023	0.201
B2-3-O'-galato	1.59	1.62	0.436	5.99	2.71	14.7	1.83	1.030	0.602	1.83	1.18	2.29	3.85	2.09
	1.69	1.58	0.490	5.75	2.82	13.0	1.52	0.909	0.790	2.05	1.39	1.97	3.04	1.98
	1.89	1.49	0.642	5.91	2.51	12.6	1.77	0.889	0.810	1.41	1.11	1.93	2.72	1.75
$\bar{x}$	1.72	1.56	0.523	2.88	2.68	13.4	1.71	0.943	0.734	1.76	1.23	2.06	3.20	1.94
s	0.153	0.067	0.107	0.122	0.157	1.12	0.164	0.076	0.115	0.325	0.146	0.197	0.582	0.173
B1-3-O-galato	nd	nd	nd	nd	7.40	8.77	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	nd	nd	nd	nd	7.41	8.20	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	nd	nd	nd	nd	6.40	7.68	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
$\bar{x}$	nd	nd	nd	nd	7.07	8.22	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
s	nd	nd	nd	nd	0.580	0.545	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Epicatequín galato	0.680	2.10	0.899	nd	nd	nd	0.155	0.667	1.85	1.45	nd	nd	nd	nd
	0.628	1.48	0.782	nd	nd	nd	0.148	0.615	1.79	1.56	nd	nd	nd	nd
	0.617	1.75	0.866	nd	nd	nd	0.144	0.658	1.97	1.24	nd	nd	nd	nd
$\bar{x}$	0.642	1.78	0.849	nd	nd	nd	0.149	0.647	1.87	1.42	nd	nd	nd	nd
s	0.034	0.311	0.060	nd	nd	nd	0.006	0.028	0.092	0.163	nd	nd	nd	nd
Epigallocatequín galato	0.452	0.106	0.312	0.152	nd	nd	0.313	0.551	0.391	0.378	0.115	0.984	1.48	2.04
	0.464	0.123	0.336	0.181	nd	nd	0.294	0.514	0.362	0.397	0.135	1.28	1.57	1.90
	0.476	0.119	0.331	0.148	nd	nd	0.286	0.596	0.433	0.399	0.115	1.08	1.51	1.92
$\bar{x}$	0.464	0.116	0.326	0.160	nd	nd	0.298	0.554	0.395	0.391	0.122	1.11	1.52	1.95
s	0.012	0.009	0.013	0.018	nd	nd	0.014	0.041	0.036	0.012	0.012	0.151	0.046	0.077

Tabla A.11. (Continuación). Evolución de derivados del flavan-3-ol (mg/L) durante el proceso de pasificación en cámara de uvas tintas de las variedades Merlot, Syrah, Tempranillo y Cabernet Sauvignon (valores, media y desviación estándar).

	Merlot			Syrah			Tempranillo			Cabernet Sauvignon				
	0 h	24 h	48 h	0 h	24 h	37 h	0 h	24 h	48 h	72 h	0 h	24 h	48 h	72 h
Trímero 1	0.546	0.651	1.12	3.28	3.84	5.68	0.858	2.01	1.21	1.31	1.54	2.39	6.64	2.52
	0.532	0.586	1.08	3.44	3.94	5.80	1.00	2.14	0.914	1.56	1.29	2.41	6.40	3.54
	0.506	0.462	0.963	3.44	3.74	5.67	0.935	2.20	0.832	1.20	1.21	2.34	6.28	2.71
$\bar{x}$	0.528	0.566	1.05	3.39	3.84	5.72	0.931	2.12	0.985	1.36	1.35	2.38	6.44	2.92
s	0.020	0.096	0.082	0.092	0.100	0.072	0.071	0.097	0.199	0.183	0.172	0.036	0.183	0.542
Trímero 2	0.662	1.26	1.01	1.43	3.05	3.92	0.187	0.399	1.72	2.89	nd	nd	7.44	6.85
	0.704	0.924	0.995	1.47	2.99	3.58	0.193	0.406	1.31	1.87	nd	nd	7.64	6.48
	0.694	0.957	0.985	1.27	3.10	3.75	0.213	0.385	1.53	2.29	nd	nd	8.07	5.77
$\bar{x}$	0.687	1.05	0.997	1.39	3.05	3.75	0.198	0.397	1.52	2.35	nd	nd	7.72	6.37
s	0.022	0.185	0.013	0.106	0.055	0.170	0.014	0.011	0.205	0.513	nd	nd	0.322	0.549
Trímero 3	4.73	6.37	1.42	nd	nd	nd	0.920	6.03	5.91	7.71	nd	nd	nd	nd
	5.34	7.36	1.73	nd	nd	nd	1.08	5.61	5.97	8.40	nd	nd	nd	nd
	5.45	5.99	1.58	nd	nd	nd	1.22	5.22	6.07	9.66	nd	nd	nd	nd
$\bar{x}$	5.17	6.57	1.58	nd	nd	nd	1.07	5.62	5.98	8.59	nd	nd	nd	nd
s	0.388	0.707	0.155	nd	nd	nd	0.150	0.405	0.083	0.989	nd	nd	nd	nd
Trímero 4	nd	nd	nd	nd	1.84	3.30	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	nd	nd	nd	nd	1.88	3.13	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	nd	nd	nd	nd	2.04	2.94	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
$\bar{x}$	nd	nd	nd	nd	1.92	3.12	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
s	nd	nd	nd	nd	0.106	0.180	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd

Tabla A.11. (Continuación). Evolución de derivados del flavan-3-ol (mg/L) durante el proceso de pasificación en cámara de uvas tintas de las variedades Merlot, Syrah, Tempranillo y Cabernet Sauvignon (valores, media y desviación estándar).

	Merlot			Syrah			Tempranillo			Cabernet Sauvignon			
	0 h	24 h	48 h	0 h	24 h	37 h	0 h	24 h	48 h	0 h	24 h	48 h	72 h
Tetrámero 1	nd	nd	nd	nd	2.12	3.13	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
$\bar{x}$	nd	nd	nd	nd	2.12	3.84	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
s	nd	nd	nd	nd	2.27	3.56	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	nd	nd	nd	nd	2.17	3.51	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	nd	nd	nd	nd	0.087	0.358	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Tetrámero 2	0.435	0.689	0.867	2.03	2.40	2.48	0.435	1.03	1.02	1.30	1.37	1.33	1.14
$\bar{x}$	0.404	0.599	1.01	2.15	2.06	2.41	0.392	0.911	0.841	1.43	1.48	1.53	1.23
s	0.392	0.791	0.839	2.08	2.05	2.47	0.420	0.993	0.954	1.20	1.31	1.36	1.18
	0.410	0.693	0.904	2.09	2.17	2.45	0.416	0.978	0.938	1.31	1.39	1.41	1.18
	0.022	0.096	0.090	0.060	0.199	0.038	0.022	0.061	0.091	0.115	0.086	0.108	0.045
													0.053

Tabla A.12. Evolución de flavonoles (mg/L) durante el proceso de pasificación en cámara de uvas tintas de las variedades Merlot, Syrah, Tempranillo y Cabernet Sauvignon (valores, media y desviación estándar).

	Merlot			Syrah			Tempranillo			Cabernet Sauvignon				
	0 h	24 h	48 h	0 h	24 h	37 h	0 h	24 h	48 h	72 h	0 h	24 h	48 h	72 h
Quercetín-3-O-glucósido	1.81	2.42	4.34	1.29	8.96	5.45	0.542	2.45	4.23	3.06	1.63	2.15	3.16	3.10
$\bar{x}$	1.81	2.45	4.19	1.22	8.37	5.35	0.551	2.53	4.27	3.08	1.53	2.13	3.24	3.08
s	1.83	2.41	4.43	1.26	8.86	5.51	0.546	2.50	4.47	3.01	1.62	2.08	2.94	2.90
Quercetín-3-O-glucurónido + quercetín-3-O-galactósido	1.82	2.43	4.32	1.26	8.73	5.44	0.546	2.49	4.32	3.05	1.59	2.12	3.11	3.03
$\bar{x}$	0.012	0.021	0.121	0.035	0.316	0.081	0.005	0.040	0.129	0.036	0.055	0.036	0.155	0.110
s	0.977	2.69	3.62	0.437	3.32	1.91	0.358	2.48	4.48	2.67	2.61	7.57	6.63	7.21
Kaempferol-3-O-glucurónido + quercetín-3-O-galactósido	0.950	2.76	3.53	0.401	3.07	1.90	0.358	2.48	4.48	2.67	2.49	7.04	6.67	6.91
$\bar{x}$	0.962	2.73	3.80	0.420	3.24	1.95	0.368	2.44	4.72	2.63	2.51	7.12	6.02	6.60
s	0.963	2.73	3.65	0.419	3.21	1.92	0.361	2.47	4.56	2.66	2.54	7.24	6.44	6.91
Kaempferol-3-O-glucósido	0.014	0.035	0.137	0.018	0.128	0.026	0.006	0.023	0.139	0.023	0.064	0.286	0.364	0.305
$\bar{x}$	0.318	0.675	0.824	0.219	1.57	1.29	0.427	2.83	2.10	1.99	0.347	0.803	1.01	1.21
s	0.291	0.678	0.800	0.208	1.46	1.27	0.432	3.30	2.13	2.04	0.367	0.860	1.06	1.10
$\bar{x}$	0.292	0.671	0.826	0.206	1.54	1.29	0.429	3.05	2.22	1.90	0.370	0.875	0.990	1.02
s	0.300	0.675	0.817	0.211	1.52	1.28	0.429	3.06	2.15	1.98	0.361	0.846	1.02	1.11
Kaempferol-3-O-glucurónido + isorhamnetín-3-O-glucósido	0.015	0.004	0.014	0.007	0.057	0.012	0.003	0.235	0.062	0.071	0.013	0.038	0.036	0.095
$\bar{x}$	0.590	2.38	4.92	0.800	13.8	10.1	0.161	1.48	1.34	1.34	0.453	2.12	2.69	2.67
s	0.574	2.38	4.77	0.756	12.8	10.1	0.157	1.55	1.31	1.34	0.434	2.11	2.81	2.63
$\bar{x}$	0.590	2.36	5.16	0.768	13.7	10.4	0.165	1.57	1.41	1.33	0.429	2.13	2.59	2.47
s	0.585	2.37	4.95	0.775	13.4	10.2	0.161	1.53	1.35	1.34	0.439	2.12	2.70	2.59
	0.009	0.012	0.197	0.023	0.551	0.173	0.004	0.047	0.051	0.006	0.013	0.010	0.110	0.106

Tabla A.12. (Continuación). Evolución de flavonoles (mg/L) durante el proceso de pasificación en cámara de uvas tintas de las variedades Merlot, Syrah, Tempranillo y Cabernet Sauvignon (valores, media y desviación estándar).

	Merlot			Syrah			Tempranillo			Cabernet Sauvignon				
	0 h	24 h	48 h	0 h	24 h	37 h	0 h	24 h	48 h	72 h	0 h	24 h	48 h	72 h
Miricetín-3-O-glucósido	0.171	0.275	0.317	0.054	0.297	0.194	0.016	0.032	0.067	0.027	0.300	1.01	0.707	0.293
	0.155	0.310	0.303	0.052	0.256	0.187	0.013	0.028	0.065	0.025	0.274	0.874	0.711	0.319
$\bar{x}$	0.147	0.305	0.344	0.058	0.267	0.195	0.014	0.033	0.065	0.023	0.284	0.856	0.622	0.283
	0.158	0.297	0.321	0.055	0.273	0.192	0.014	0.031	0.066	0.025	0.286	0.913	0.680	0.298
s	0.012	0.019	0.021	0.003	0.021	0.004	0.002	0.003	0.001	0.002	0.013	0.084	0.050	0.019
	0.224	0.504	0.817	0.095	1.32	0.964	0.124	0.662	1.11	0.895	0.367	1.04	1.60	1.27
Laricitrín-3-O-glucósido	0.247	0.519	0.807	0.094	1.20	0.938	0.120	0.683	1.11	0.899	0.322	1.19	1.62	1.27
	0.246	0.511	0.867	0.109	1.26	0.982	0.121	0.655	1.17	0.874	0.324	1.01	1.45	1.13
$\bar{x}$	0.239	0.511	0.830	0.099	1.26	0.961	0.122	0.667	1.13	0.889	0.338	1.08	1.56	1.22
	0.013	0.008	0.032	0.008	0.060	0.022	0.002	0.015	0.035	0.013	0.025	0.096	0.093	0.081
Siringetín-3-O-glucósido	0.372	1.98	3.35	0.257	4.36	4.00	0.180	1.42	2.12	2.04	0.641	4.64	5.16	4.89
	0.337	1.97	3.16	0.206	4.05	3.99	0.182	1.47	2.12	2.03	0.615	4.34	5.41	4.69
$\bar{x}$	0.327	1.95	3.41	0.221	4.32	4.08	0.174	1.47	2.23	1.95	0.649	4.49	5.01	4.42
	0.345	1.97	3.31	0.228	4.24	4.02	0.179	1.45	2.16	2.01	0.635	4.49	5.19	4.67
s	0.024	0.015	0.131	0.026	0.169	0.049	0.004	0.029	0.064	0.049	0.018	0.150	0.202	0.236



Tabla A.12. (Continuación). Evolución de flavonoles (mg/L) durante el proceso de pasificación en cámara de uvas tintas de las variedades Merlot, Syrah, Tempranillo y Cabernet Sauvignon (valores, media y desviación estándar).

	Merlot			Syrah			Tempranillo			Cabernet Sauvignon				
	0 h	24 h	48 h	0 h	24 h	37 h	0 h	24 h	48 h	72 h	0 h	24 h	48 h	72 h
Miricetina	nd	0.104	0.159	nd	0.441	0.334	nd	0.081	0.145	0.050	nd	0.083	0.222	0.172
	nd	0.104	0.148	nd	0.402	0.326	nd	0.080	0.132	0.043	nd	0.123	0.248	0.161
$\bar{x}$	nd	0.101	0.161	nd	0.420	0.335	nd	0.079	0.138	0.038	nd	0.109	0.215	0.165
	nd	0.103	0.156	nd	0.421	0.332	nd	0.080	0.138	0.044	nd	0.105	0.228	0.166
s	nd	0.002	0.007	nd	0.020	0.005	nd	0.001	0.007	0.006	nd	0.020	0.017	0.006
Querretina	nd	nd	0.712	nd	nd	0.178	nd	0.213	0.384	0.657	nd	0.812	0.594	0.765
	nd	nd	0.699	nd	nd	0.173	nd	0.226	0.381	0.663	nd	0.798	0.628	0.821
$\bar{x}$	nd	nd	0.939	nd	nd	0.196	nd	0.238	0.408	0.617	nd	0.721	0.599	0.817
	nd	nd	0.783	nd	nd	0.182	nd	0.226	0.391	0.646	nd	0.777	0.607	0.801
s	nd	nd	0.135	nd	nd	0.012	nd	0.013	0.015	0.025	nd	0.049	0.018	0.031
Kaempferol	nd	0.138	0.280	nd	nd	nd	nd	0.162	0.235	0.388	nd	0.273	0.387	0.278
	nd	0.145	0.286	nd	nd	nd	nd	0.166	0.241	0.382	nd	0.265	0.358	0.323
$\bar{x}$	nd	0.143	0.305	nd	nd	nd	nd	0.167	0.234	0.366	nd	0.276	0.405	0.407
	nd	0.142	0.290	nd	nd	nd	nd	0.165	0.237	0.379	nd	0.271	0.383	0.336
s	nd	0.004	0.013	nd	nd	nd	nd	0.003	0.004	0.011	nd	0.006	0.024	0.065
Isorhamnetina	nd	nd	0.225	nd	nd	0.059	nd	nd	0.018	0.062	nd	0.035	0.245	0.095
	nd	nd	0.241	nd	nd	0.056	nd	nd	0.020	0.059	nd	0.035	0.219	0.087
$\bar{x}$	nd	nd	0.199	nd	nd	0.050	nd	nd	0.019	0.059	nd	0.034	0.246	0.100
	nd	nd	0.222	nd	nd	0.055	nd	nd	0.019	0.060	nd	0.035	0.237	0.094
s	nd	nd	0.021	nd	nd	0.005	nd	nd	0.001	0.002	nd	0.001	0.015	0.007
Siringetina	nd	nd	0.008	nd	nd	nd	nd	nd	0.026	0.047	nd	nd	0.097	0.062
	nd	nd	0.012	nd	nd	nd	nd	nd	0.030	0.045	nd	nd	0.099	0.062
$\bar{x}$	nd	nd	0.010	nd	nd	nd	nd	nd	0.035	0.042	nd	nd	0.097	0.056
	nd	nd	0.010	nd	nd	nd	nd	nd	0.030	0.045	nd	nd	0.098	0.060
s	nd	nd	0.002	nd	nd	nd	nd	nd	0.005	0.003	nd	nd	0.001	0.003

Tabla A.13. Evolución polímeros y polímeros coloreados (mg/L) durante el proceso de pasificación en cámara de uvas tintas de las variedades Merlot, Syrah, Tempranillo y Cabernet Sauvignon (valores, media y desviación estándar).

	Merlot			Syrah			Tempranillo			Cabernet Sauvignon				
	0 h	24 h	48 h	0 h	24 h	37 h	0 h	24 h	48 h	72 h	0 h	24 h	48 h	72 h
Polímeros	4.98	161.5	249.3	39.6	225.6	229.6	93.1	306.3	270.1	459.9	49.0	105.7	154.0	348.6
	5.06	167.9	255.0	45.6	189.4	225.4	88.5	303.8	290.1	427.6	56.3	116.5	150.1	338.5
$\bar{x}$	6.34	156.4	260.0	46.9	208.7	221.2	86.0	285.3	280.4	408.3	63.1	101.2	156.3	329.7
	5.46	161.9	254.8	44.0	207.9	225.4	89.2	298.5	280.2	431.9	56.1	107.8	153.5	338.9
s	0.763	5.76	5.35	3.89	18.1	4.20	3.60	11.5	10.0	26.1	7.05	7.86	3.13	9.46
	3.07	13.8	18.2	2.29	23.6	28.1	2.25	15.7	28.9	28.1	1.42	7.80	11.1	22.0
Polímeros coloreados	2.66	13.3	19.3	2.39	25.0	28.1	2.45	17.7	28.1	27.4	1.53	7.13	10.8	20.6
	3.11	14.8	19.0	2.12	26.2	28.3	2.81	17.7	32.5	27.1	1.60	8.31	10.7	22.1
$\bar{x}$	2.95	14.0	18.8	2.27	24.9	28.2	2.50	17.0	29.8	27.5	1.52	7.75	10.9	21.6
	0.249	0.764	0.569	0.137	1.30	0.115	0.284	1.15	2.34	0.513	0.091	0.592	0.208	0.839

Tabla A.14. Evolución de la capacidad antioxidante (mmol TE/L) durante el proceso de pasificación en cámara de uvas tintas de las variedades Merlot, Syrah, Tempranillo y Cabernet Sauvignon (valores, media y desviación estándar).

	Merlot			Syrah			Tempranillo			Cabernet Sauvignon				
	0 h	24 h	48 h	0 h	24 h	37 h	0 h	24 h	48 h	72 h	0 h	24 h	48 h	72 h
Capacidad antioxidante	3.02	5.21	7.95	2.17	3.26	3.37	3.80	9.05	9.21	8.75	1.94	3.43	4.26	5.84
	3.01	5.25	7.92	2.03	3.35	3.26	3.93	9.04	9.45	8.85	1.88	3.45	4.28	5.80
	3.04	4.81	7.96	2.22	3.25	3.53	3.96	9.02	9.75	8.80	1.90	3.44	4.35	5.84
$\bar{x}$	3.02	5.23	7.94	2.14	3.29	3.39	3.90	9.04	9.47	8.80	1.91	3.44	4.30	5.83
s	0.015	0.031	0.021	0.099	0.055	0.136	0.081	0.012	0.272	0.047	0.029	0.010	0.049	0.025

Tabla A.15. Evolución de las absorbancias a 420, 520 y 620 nm (u.a.) y de los parámetros color total de pigmentos y color de pigmentos poliméricos (u.a.) durante el proceso de maceración de vinos Merlot, Syrah, Tempranillo y Cabernet Sauvignon (valores, media y desviación estándar).

	Merlot			Syrah			Tempranillo			Cabernet Sauvignon										
	0 h	24 h	48 h	72 h	96 h	0 h	24 h	48 h	72 h	96 h	0 h	24 h	48 h	72 h	96 h					
A <sub>420</sub>	2.59	3.41	3.47	3.53	3.63	2.39	3.07	3.24	3.20	3.24	2.80	4.68	4.61	4.60	4.60	2.64	3.15	3.34	3.35	3.40
	2.56	3.48	3.55	3.48	3.63	2.40	3.11	3.26	3.22	3.24	2.76	4.69	4.49	4.53	4.56	2.64	3.14	3.34	3.34	3.38
	2.49	3.46	3.44	3.51	3.57	2.38	3.12	3.26	3.21	3.26	2.80	4.66	4.59	4.62	4.65	2.64	3.16	3.34	3.34	3.42
$\bar{x}$	2.55	3.45	3.49	3.51	3.61	2.39	3.10	3.25	3.21	3.25	2.79	4.68	4.56	4.58	4.60	2.64	3.15	3.34	3.34	3.40
s	0.052	0.036	0.058	0.025	0.036	0.013	0.025	0.010	0.009	0.011	0.026	0.014	0.065	0.046	0.048	0.001	0.010	0.004	0.009	0.021
A <sub>520</sub>	2.99	3.79	3.79	3.70	3.86	3.31	4.50	4.64	4.51	4.63	2.93	5.25	5.07	4.88	4.81	3.14	4.09	4.32	4.23	4.13
	2.94	3.84	3.87	3.65	3.83	3.34	4.56	4.67	4.51	4.66	2.88	5.23	4.95	4.82	4.78	3.15	4.09	4.33	4.21	4.11
	2.90	3.85	3.77	3.67	3.79	3.30	4.52	4.69	4.52	4.66	2.92	5.23	5.05	4.91	4.86	3.14	4.11	4.32	4.21	4.10
$\bar{x}$	2.94	3.83	3.67	3.67	3.82	3.31	4.53	4.52	4.52	4.65	2.91	5.24	4.87	4.87	4.82	3.14	4.10	4.21	4.21	4.11
s	0.044	0.032	0.028	0.028	0.039	0.021	0.031	0.006	0.006	0.015	0.023	0.012	0.046	0.046	0.042	0.005	0.010	0.013	0.013	0.017
A <sub>620</sub>	0.733	0.966	0.967	0.957	0.962	0.671	0.828	0.899	0.897	0.925	0.739	1.30	1.24	1.20	1.20	0.635	0.799	0.864	0.851	0.867
	0.729	0.995	1.01	0.940	0.963	0.679	0.842	0.903	0.909	0.919	0.718	1.32	1.20	1.18	1.19	0.634	0.796	0.863	0.845	0.859
	0.699	0.986	0.948	0.949	0.936	0.665	0.857	0.904	0.904	0.927	0.730	1.30	1.23	1.20	1.22	0.632	0.804	0.868	0.850	0.869
$\bar{x}$	0.720	0.982	0.974	0.949	0.954	0.672	0.842	0.902	0.903	0.924	0.729	1.31	1.22	1.19	1.20	0.634	0.800	0.865	0.849	0.865
s	0.019	0.015	0.030	0.009	0.015	0.007	0.015	0.003	0.006	0.004	0.011	0.012	0.020	0.014	0.016	0.002	0.004	0.003	0.003	0.005
WCA	10.9	12.8	12.6	11.6	10.4	10.5	11.2	12.6	11.2	11.3	8.18	11.5	9.87	8.60	9.40	7.33	12.6	10.5	7.56	9.39
	10.8	12.5	12.4	11.0	10.8	10.5	11.0	12.4	10.3	11.3	7.64	11.3	10.5	9.60	10.0	7.83	12.8	10.2	7.45	9.56
	10.0	13.0	12.7	10.9	11.2	10.7	11.3	12.1	11.6	11.3	8.10	11.3	9.54	9.08	9.44	8.41	13.9	11.0	7.59	9.54
$\bar{x}$	10.5	12.8	12.6	11.2	10.8	10.6	11.2	12.3	11.1	11.3	7.97	11.3	10.0	9.09	9.60	7.86	13.1	10.6	7.53	9.49
s	0.494	0.210	0.139	0.350	0.399	0.123	0.148	0.262	0.659	0.016	0.289	0.111	0.479	0.504	0.313	0.538	0.673	0.402	0.074	0.092
PPC	0.663	0.910	0.938	1.00	0.99	0.758	1.02	1.03	1.08	1.12	1.06	1.82	1.86	1.89	1.93	1.07	1.41	1.46	1.37	1.52
	0.651	0.908	1.00	1.04	1.00	0.740	0.925	1.08	1.09	1.13	1.07	1.79	1.88	1.92	1.96	1.10	1.43	1.36	1.40	1.52
	0.677	0.911	0.964	1.03	1.03	0.714	0.933	1.05	1.10	1.13	1.07	1.83	1.80	1.89	1.90	1.08	1.40	1.39	1.39	1.50
$\bar{x}$	0.664	0.910	1.02	1.02	1.00	0.737	0.958	1.09	1.09	1.12	1.07	1.81	1.90	1.90	1.93	1.08	1.41	1.39	1.39	1.51
s	0.013	0.002	0.022	0.022	0.022	0.022	0.050	0.011	0.011	0.004	0.004	0.024	0.017	0.017	0.029	0.013	0.014	0.011	0.011	0.015

Tabla A.16. Evolución de los parámetros CIELAB  $h_{ab}$ ,  $C^*_{ab}$ ,  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  (unidades CIELAB) durante el proceso de maceración de vinos Merlot, Syrah, Tempranillo y Cabernet Sauvignon (valores, media y desviación estándar).

	Merlot			Syrah			Tempranillo			Cabernet Sauvignon										
	0 h	24 h	48 h	72 h	96 h	0 h	24 h	48 h	72 h	96 h	0 h	24 h	48 h	72 h	96 h					
$h_{ab}$	34.0	31.3	31.3	31.9	32.1	33.5	32.8	31.8	31.8	31.3	35.0	25.3	26.5	27.5	27.4	35.8	33.4	32.2	32.7	32.7
	34.1	30.9	30.6	32.0	31.7	33.6	32.7	31.7	31.6	31.4	35.2	24.9	27.3	27.8	27.6	33.7	33.5	32.5	32.8	32.8
	34.1	31.0	31.7	31.4	31.5	33.6	32.4	31.8	31.8	31.4	35.1	25.6	26.8	27.5	27.1	35.8	33.4	32.5	32.7	32.6
$\bar{x}$	34.1	31.0	31.2	31.8	31.8	33.6	32.6	31.7	31.7	31.4	35.1	25.3	26.9	27.6	27.4	35.1	33.4	32.4	32.8	32.7
s	0.033	0.215	0.569	0.282	0.300	0.017	0.165	0.031	0.102	0.049	0.133	0.546	0.365	0.212	0.240	1.18	0.075	0.164	0.051	0.075
$C^*_{ab}$	62.2	55.9	55.6	56.1	57.9	64.6	61.3	58.8	59.1	58.1	62.8	46.5	48.5	50.0	49.8	67.9	63.0	60.6	61.2	60.5
	62.2	54.6	53.7	56.4	56.9	64.7	61.0	58.8	58.4	58.5	63.9	45.5	49.7	50.8	50.2	67.9	63.1	61.0	61.4	60.9
	63.6	55.2	56.7	55.4	56.1	64.6	60.0	59.0	59.0	58.4	63.6	47.0	49.0	50.1	49.3	68.2	62.8	60.8	61.1	60.5
$\bar{x}$	62.7	55.2	55.9	55.9	57.0	64.6	60.8	58.8	58.8	58.3	63.5	46.4	50.3	50.3	49.8	68.0	62.9	61.3	61.3	60.6
s	0.795	0.617	0.524	0.524	0.879	0.062	0.716	0.386	0.386	0.205	0.581	0.775	0.406	0.406	0.434	0.148	0.180	0.162	0.162	0.233
$L^*$	23.0	17.3	17.2	17.6	18.2	24.3	19.9	18.4	18.6	18.0	22.9	11.6	12.6	13.4	13.3	25.4	20.8	19.3	19.6	19.4
	23.2	16.7	16.2	17.8	17.7	24.2	19.7	18.3	18.2	18.1	23.6	11.1	13.2	13.8	13.5	25.4	20.9	19.4	19.8	19.6
	24.2	16.9	17.8	17.1	17.3	24.3	19.3	18.4	18.5	18.1	23.3	11.8	12.8	13.5	13.1	25.5	20.7	19.4	19.6	19.3
$\bar{x}$	23.5	17.0	17.1	17.5	17.7	24.3	19.6	18.4	18.4	18.1	23.3	11.5	12.9	13.6	13.3	25.4	20.8	19.4	19.7	19.4
s	0.616	0.317	0.792	0.355	0.446	0.044	0.320	0.053	0.180	0.083	0.366	0.358	0.328	0.205	0.225	0.065	0.103	0.094	0.085	0.121
$a^*$	51.6	47.8	47.5	47.6	49.0	53.8	51.6	50.0	50.2	49.7	51.5	42.1	43.4	44.4	44.2	55.1	52.5	51.2	51.5	51.0
	51.5	46.9	46.2	47.8	48.4	53.9	51.4	50.0	49.7	50.0	52.2	41.3	44.2	44.9	44.5	55.1	52.6	51.4	51.6	51.2
	52.7	47.3	48.3	47.2	47.9	53.9	50.6	50.1	50.1	49.9	52.1	42.4	43.7	44.5	43.9	55.3	52.4	51.3	51.4	50.9
$\bar{x}$	51.9	47.3	47.6	47.6	48.4	53.9	51.2	50.0	50.0	49.8	51.9	41.9	44.6	44.6	44.2	55.2	52.5	51.5	51.5	51.0
s	0.642	0.425	0.301	0.301	0.592	0.041	0.510	0.274	0.274	0.150	0.391	0.785	0.274	0.274	0.290	0.089	0.165	0.107	0.107	0.153
$b^*$	34.8	29.0	28.9	29.6	30.8	35.7	33.2	30.9	31.2	30.2	36.0	19.9	21.7	23.1	22.9	39.7	34.7	32.5	33.1	32.7
	34.8	28.0	27.3	29.9	29.9	35.8	32.9	30.9	30.6	30.5	36.9	19.1	22.8	23.7	23.2	39.6	34.8	32.8	33.3	33.0
	35.6	28.4	29.8	28.9	29.4	35.7	32.2	31.0	31.0	30.4	36.6	20.3	22.1	23.1	22.5	39.9	34.5	32.7	33.0	32.6
$\bar{x}$	35.1	28.5	28.7	29.4	30.0	35.7	32.8	31.0	30.9	30.4	36.5	19.8	22.2	23.3	22.9	39.7	34.7	32.7	33.1	32.7
s	0.470	0.494	1.26	0.509	0.717	0.050	0.532	0.069	0.292	0.148	0.453	0.615	0.556	0.354	0.384	0.130	0.150	0.140	0.133	0.192

Tabla A.17. Evolución del índice de polifenoles totales y taninos totales (g/L) durante el proceso de maceración de vinos Merlot, Syrah, Tempranillo y Cabernet Sauvignon (valores, media y desviación estándar).

	Merlot				Syrah				Tempranillo				Cabernet Sauvignon							
	0 h	24 h	48 h	72 h	96 h	0 h	24 h	48 h	72 h	96 h	0 h	24 h	48 h	72 h	96 h	0 h	24 h	48 h	72 h	96 h
IPT	27.8	52.5	56.4	55.1	51.5	28.2	45.2	47.1	45.7	45.4	38.2	68.0	62.3	61.9	66.5	35.0	72.9	69.9	70.0	72.1
	28.3	51.2	56.1	53.7	54.1	28.1	44.3	46.2	42.5	45.3	36.2	67.9	65.9	62.0	70.1	36.6	74.2	66.8	68.8	73.5
	26.0	52.4	56.2	52.5	55.6	29.0	45.2	44.6	46.6	45.6	37.8	66.9	60.0	61.1	66.4	40.0	80.3	71.5	69.3	73.9
$\bar{x}$	27.4	52.0	56.2	53.8	53.7	28.5	44.9	46.0	44.9	45.4	37.4	67.6	62.7	61.7	67.6	37.2	75.8	69.4	69.3	73.2
s	1.20	0.722	0.198	1.30	2.06	0.490	0.501	1.30	2.17	0.156	1.07	0.655	2.96	0.511	2.10	2.55	3.94	2.38	0.605	0.932
Taninos totales	8.44	12.3	12.0	11.8	12.3	6.28	8.25	11.8	11.7	12.0	11.6	16.0	16.8	17.3	17.8	11.2	14.9	14.8	16.9	17.4
	8.66	12.5	11.7	11.7	12.1	6.23	8.99	11.6	12.2	11.8	11.3	15.0	17.5	16.9	16.3	11.2	14.7	16.0	16.4	16.6
	8.80	12.7	12.1	11.9	12.1	6.38	9.24	11.8	12.3	11.9	11.4	17.4	16.2	17.5	18.0	11.4	14.9	16.3	16.9	17.0
$\bar{x}$	8.63	12.5	11.8	11.8	12.2	6.30	8.83	12.0	12.0	11.9	11.4	16.1	17.2	17.2	17.4	11.3	14.8	15.7	16.7	17.0
s	0.182	0.217	0.113	0.113	0.116	0.079	0.518	0.289	0.289	0.115	0.132	1.18	0.310	0.310	0.942	0.143	0.117	0.783	0.288	0.414

Tabla A.18. Evolución de antocianos glucosilados (mg/L) durante el proceso de maceración de vinos Merlot, Syrah, Tempranillo y Cabernet Sauvignon (valores, media y desviación estándar).

	Merlot				Syrah				Tempranillo				Cabernet Sauvignon			
	0 h	24 h	48 h	72 h	96 h	0 h	24 h	48 h	72 h	96 h	0 h	24 h	48 h	72 h	96 h	
Delfinidín-3-O-glucósido	4.76	5.05	4.75	4.71	4.74	4.66	5.19	4.83	4.77	4.93	5.14	6.77	5.81	5.52	5.31	
	4.77	5.03	4.69	4.66	4.75	4.67	4.84	4.80	4.69	4.91	4.91	6.59	5.68	5.44	5.28	
$\bar{x}$	4.71	4.95	4.71	4.49	4.72	4.65	4.76	4.80	4.67	4.72	4.99	6.66	5.79	5.26	5.28	
	4.75	5.01	4.72	4.62	4.74	4.66	4.93	4.81	4.71	4.85	5.01	6.67	5.76	5.41	5.29	
s	0.032	0.053	0.031	0.115	0.015	0.010	0.229	0.017	0.053	0.116	0.117	0.091	0.070	0.133	0.017	
	5.23	5.90	5.63	5.64	5.33	5.88	7.06	6.52	6.34	6.39	4.53	5.82	5.13	5.11	4.96	
Cianidín-3-O-glucósido	5.14	5.84	5.58	5.53	5.31	5.88	6.96	6.22	6.05	5.93	4.52	5.52	5.39	5.05	5.10	
	5.21	5.79	5.67	5.52	5.34	5.92	6.84	6.27	5.84	5.64	4.52	5.76	5.09	5.15	5.06	
$\bar{x}$	5.19	5.84	5.63	5.56	5.33	5.89	6.95	6.34	6.08	5.99	4.52	5.70	5.20	5.10	5.04	
	0.047	0.055	0.045	0.067	0.015	0.023	0.110	0.161	0.251	0.378	0.006	0.159	0.163	0.050	0.072	
Petunidín-3-O-glucósido	6.76	8.22	7.22	6.92	6.71	7.09	8.54	7.65	7.37	7.65	6.91	10.8	8.85	8.33	7.73	
	6.82	7.94	7.16	6.81	6.66	7.03	8.32	7.43	7.34	7.18	6.76	10.2	9.16	7.96	7.55	
$\bar{x}$	6.79	7.90	7.31	6.78	6.77	6.98	8.22	7.39	7.06	7.32	6.68	10.4	8.54	7.66	7.49	
	6.79	8.02	7.23	6.84	6.71	7.03	8.36	7.49	7.26	7.38	6.78	10.50	8.85	7.98	7.59	
s	0.030	0.174	0.076	0.074	0.055	0.055	0.164	0.140	0.171	0.241	0.117	0.306	0.310	0.336	0.125	
	22.3	31.6	25.5	24.5	22.2	33.0	40.7	35.0	31.7	32.8	7.45	12.5	9.99	9.96	9.43	
Peonidín-3-O-glucósido	22.7	30.2	25.5	24.3	21.8	32.3	39.4	33.2	31.1	30.1	7.31	11.8	10.4	9.66	9.25	
	21.9	29.5	26.1	23.9	21.9	31.2	38.5	31.6	28.7	27.2	7.07	12.1	10.1	9.49	9.33	
$\bar{x}$	22.3	30.4	25.7	24.2	22.0	32.2	39.5	33.3	30.5	30.0	7.28	12.1	10.2	9.70	9.34	
	0.400	1.07	0.346	0.306	0.209	0.907	1.11	1.70	1.59	2.80	0.192	0.351	0.212	0.238	0.090	
s	61.7	91.1	72.1	69.2	60.1	54.8	70.2	58.9	53.7	56.5	36.7	71.7	57.8	51.9	46.2	
	62.0	86.6	72.0	68.9	61.6	53.6	67.7	55.6	53.1	53.4	36.8	67.3	57.4	50.2	45.5	
Malvidín-3-O-glucósido	60.8	86.2	73.4	68.4	61.4	52.2	66.6	53.9	49.7	49.2	34.5	71.0	55.8	49.2	45.3	
	61.5	88.0	72.5	68.8	61.0	53.5	68.2	56.1	52.2	53.0	36.0	70.0	57.0	50.4	45.7	
$\bar{x}$	0.624	2.72	0.781	0.404	0.814	1.30	1.85	2.54	2.16	3.66	1.30	2.36	1.06	1.37	0.472	
	2.17	2.36	3.12	0.832	0.416	2.17	2.36	3.12	0.832	0.416	2.17	2.36	3.12	0.832	0.416	

Tabla A.19. Evolución de antocianos acetilglucosilados (mg/L) durante el proceso de maceración de vinos Merlot, Syrah, Tempranillo y Cabernet Sauvignon (valores, media y desviación estándar).

	Merlot						Syrah						Tempranillo						Cabernet Sauvignon					
	0 h	24 h	48 h	72 h	96 h		0 h	24 h	48 h	72 h	96 h		0 h	24 h	48 h	72 h	96 h		0 h	24 h	48 h	72 h	96 h	
Delfinidín-3-O-acetilglucósido	4.70	5.23	5.37	5.00	4.88		4.60	4.79	4.66	4.91	4.98		4.75	6.25	5.67	5.50	5.61		5.24	7.40	6.74	3.86	3.94	
$\bar{x}$	4.79	4.92	5.48	4.85	5.07		4.62	4.90	4.41	4.81	5.00		4.72	5.69	5.77	5.50	5.78		5.28	6.85	6.36	3.86	3.77	
s	4.76	5.07	5.69	4.85	5.22		4.67	5.01	4.42	4.72	5.24		4.91	6.22	5.69	5.84	5.85		5.48	7.39	6.55	3.84	3.54	
Cianidín-3-O-acetilglucósido	4.75	5.07	5.51	4.90	5.06		4.63	4.90	4.50	4.81	5.07		4.79	6.05	5.71	5.61	5.75		5.33	7.21	6.55	3.85	3.75	
$\bar{x}$	0.046	0.155	0.163	0.087	0.170		0.036	0.110	0.142	0.095	0.145		0.102	0.315	0.053	0.196	0.123		0.129	0.315	0.190	0.012	0.201	
s	4.35	4.53	4.43	4.34	4.10		4.59	4.48	4.79	4.98	4.56		4.11	4.48	4.42	4.29	4.32		4.60	5.22	4.84	2.47	2.64	
Cianidín-3-O-acetilglucósido	4.44	4.47	4.35	4.37	4.12		4.46	4.66	4.68	4.77	4.47		4.18	4.58	4.45	4.34	4.24		4.74	4.99	4.59	2.54	2.55	
$\bar{x}$	4.37	4.46	4.32	4.34	4.20		4.31	4.45	4.64	4.69	4.41		4.15	4.62	4.44	4.61	4.62		4.62	5.11	4.79	2.50	2.62	
s	4.39	4.49	4.37	4.35	4.14		4.45	4.53	4.70	4.81	4.48		4.15	4.56	4.44	4.41	4.39		4.65	5.11	4.74	2.50	2.60	
Petunidín-3-O-acetilglucósido	0.047	0.038	0.057	0.017	0.053		0.140	0.114	0.078	0.150	0.076		0.035	0.072	0.015	0.172	0.200		0.076	0.115	0.132	0.035	0.047	
$\bar{x}$	4.94	5.10	5.04	4.79	4.43		4.96	4.98	5.01	5.14	5.19		4.34	4.47	4.51	4.36	4.38		5.36	6.26	5.91	3.23	3.20	
s	4.90	5.06	5.07	4.77	4.31		4.91	4.17	4.93	4.98	4.69		4.34	4.47	4.45	4.33	4.39		5.11	5.93	5.36	3.13	3.08	
Petunidín-3-O-acetilglucósido	4.90	5.08	5.01	4.21	4.32		4.98	4.93	4.92	4.86	4.69		4.35	4.68	4.37	4.32	4.34		5.12	7.10	6.26	3.44	3.32	
$\bar{x}$	4.91	5.08	5.04	4.59	4.35		4.95	4.69	4.95	4.99	4.86		4.34	4.54	4.44	4.34	4.37		5.20	6.43	5.84	3.27	3.20	
s	0.023	0.020	0.030	0.329	0.067		0.036	0.454	0.049	0.140	0.289		0.006	0.121	0.070	0.021	0.027		0.142	0.603	0.454	0.158	0.120	
Peonidín-3-O-acetilglucósido	7.89	9.10	7.78	7.30	6.34		11.9	12.7	12.1	11.2	11.3		4.82	5.25	5.26	4.78	4.70		5.71	7.84	6.97	4.25	3.41	
$\bar{x}$	7.91	8.71	7.80	7.31	6.59		11.6	12.4	11.5	11.1	10.8		4.96	5.41	4.92	4.73	4.71		5.71	7.82	6.33	3.92	3.27	
s	7.85	8.78	7.78	7.54	6.79		11.4	12.2	11.0	10.5	10.4		4.88	5.24	5.11	4.75	4.69		5.70	7.88	6.63	4.10	3.40	
Peonidín-3-O-acetilglucósido	7.88	8.86	7.79	7.38	6.57		11.6	12.4	11.5	10.9	10.8		4.89	5.30	5.10	4.75	4.70		5.71	7.85	6.64	4.09	3.36	
$\bar{x}$	0.031	0.208	0.011	0.136	0.225		0.252	0.252	0.551	0.379	0.451		0.070	0.095	0.170	0.025	0.010		0.006	0.031	0.320	0.165	0.078	
s	22.3	26.7	20.9	19.1	16.8		24.4	25.0	22.9	20.9	21.6		7.08	8.50	8.28	7.16	6.90		29.8	47.5	40.0	25.2	19.9	
Malvidín-3-O-acetilglucósido	22.3	25.2	21.2	19.1	17.2		23.8	24.5	21.9	21.0	20.5		7.13	8.78	7.79	7.10	6.83		28.5	47.0	38.6	25.0	19.6	
$\bar{x}$	22.3	25.4	21.4	19.5	17.2		23.2	24.2	21.1	19.9	19.7		6.90	8.53	7.84	7.08	6.79		30.0	47.6	38.4	24.8	19.3	
s	22.3	25.8	21.2	19.2	17.1		23.8	24.6	22.0	20.6	20.6		7.04	8.60	7.97	7.11	6.84		29.4	47.4	39.0	25.0	19.6	
Malvidín-3-O-acetilglucósido	0.008	0.814	0.252	0.231	0.231		0.600	0.404	0.902	0.608	0.954		0.121	0.154	0.270	0.042	0.056		0.814	0.321	0.872	0.200	0.300	
$\bar{x}$																								
s																								



Tabla A.20. Evolución de antocianos cumaril y cafeoilglucosilados (mg/L) durante el proceso de maceración de vinos Merlot, Syrah, Tempranillo y Cabernet Sauvignon (valores, media y desviación estándar).

	Merlot					Syrah					Tempranillo					Cabernet Sauvignon				
	0 h	24 h	48 h	72 h	96 h	0 h	24 h	48 h	72 h	96 h	0 h	24 h	48 h	72 h	96 h	0 h	24 h	48 h	72 h	96 h
Cianidín-3-O-cumarilglucósido	4.44	4.55	4.45	4.44	4.37	5.03	5.41	5.89	5.68	5.16	4.33	4.33	4.20	4.35	4.18	nd	nd	nd	nd	nd
	4.40	4.49	4.34	4.34	4.44	5.14	5.31	5.76	5.75	5.25	4.31	4.64	4.22	4.31	4.12	nd	nd	nd	nd	nd
$\bar{x}$	4.41	4.48	4.30	4.31	4.43	5.13	5.22	5.78	5.62	5.02	4.19	4.44	4.55	4.36	4.15	nd	nd	nd	nd	nd
	4.42	4.51	4.36	4.36	4.41	5.10	5.31	5.81	5.68	5.14	4.28	4.47	4.32	4.34	4.15	nd	nd	nd	nd	nd
s	0.021	0.038	0.078	0.068	0.038	0.061	0.095	0.070	0.065	0.116	0.076	0.157	0.197	0.026	0.030	nd	nd	nd	nd	nd
Petunidín-3-O-cumarilglucósido	4.31	4.40	4.31	4.20	4.32	4.60	4.67	4.40	4.49	4.67	4.98	5.24	5.37	4.63	4.71	4.22	4.27	4.40	2.19	2.27
	4.30	4.41	4.31	4.27	4.51	4.63	4.68	4.39	4.46	4.74	4.92	5.20	5.05	4.61	4.73	4.25	4.10	4.31	2.23	2.33
$\bar{x}$	4.33	4.39	4.28	4.31	4.27	4.67	4.68	4.40	4.42	4.54	4.94	5.31	4.89	4.67	4.67	4.21	4.28	4.54	2.28	2.29
	4.31	4.40	4.30	4.26	4.37	4.63	4.68	4.40	4.46	4.65	4.95	5.25	5.10	4.64	4.70	4.23	4.22	4.42	2.23	2.30
s	0.015	0.010	0.017	0.056	0.127	0.035	0.006	0.006	0.035	0.101	0.031	0.056	0.244	0.031	0.031	0.021	0.101	0.116	0.045	0.031
Peonidín-3-O-cumarilglucósido	4.79	5.05	4.76	4.65	4.55	6.37	7.16	6.82	6.63	7.01	4.42	4.69	4.67	4.47	4.37	4.26	4.31	4.46	2.19	2.16
	4.64	5.02	4.70	4.61	4.46	6.30	6.97	6.71	6.57	6.69	4.43	4.64	4.53	4.45	4.41	4.28	4.48	4.24	2.22	2.17
$\bar{x}$	4.69	4.94	4.71	4.63	4.53	6.24	6.95	6.55	6.39	6.43	4.35	4.69	4.51	4.41	4.46	4.25	4.36	4.24	2.21	2.15
	4.71	5.00	4.72	4.63	4.51	6.30	7.03	6.69	6.53	6.71	4.40	4.67	4.57	4.44	4.41	4.26	4.38	4.31	2.21	2.16
s	0.076	0.057	0.032	0.020	0.047	0.065	0.116	0.136	0.125	0.291	0.044	0.029	0.087	0.031	0.045	0.015	0.087	0.127	0.015	0.010
Malvidín-3-O-cumarilglucósido	6.28	7.20	6.16	5.85	5.58	8.63	9.42	8.86	8.38	9.02	8.85	11.1	9.30	8.47	7.74	5.04	6.06	5.71	2.96	2.72
	6.17	6.93	6.00	5.97	5.57	8.56	9.34	8.76	8.50	8.48	8.78	10.9	9.18	8.36	7.79	5.07	5.75	5.39	2.97	2.70
$\bar{x}$	6.34	6.92	6.15	6.03	5.58	8.41	9.25	8.63	8.20	8.39	8.29	11.3	9.15	8.21	7.71	5.15	5.98	5.45	2.98	2.68
	6.26	7.02	6.10	5.95	5.58	8.53	9.34	8.75	8.36	8.63	8.64	11.1	9.21	8.35	7.75	5.09	5.93	5.52	2.97	2.70
s	0.086	0.159	0.090	0.092	0.006	0.112	0.085	0.115	0.151	0.341	0.305	0.200	0.079	0.130	0.040	0.057	0.161	0.170	0.010	0.020
Malvidín-3-O-cafeoilglucósido	5.82	6.22	5.55	5.31	5.21	6.30	6.81	6.24	6.20	6.62	6.16	7.30	7.09	6.41	6.24	5.17	6.00	5.49	3.01	2.71
	5.83	6.10	5.51	5.44	5.31	6.36	6.79	6.12	6.15	6.36	6.09	7.12	6.85	6.42	6.20	5.07	6.03	5.35	2.96	2.67
$\bar{x}$	5.75	6.13	5.47	5.49	5.24	6.41	6.72	6.05	6.01	6.12	6.00	7.33	6.71	6.35	6.14	5.21	5.85	5.80	2.93	2.64
	5.80	6.15	5.51	5.41	5.25	6.36	6.77	6.14	6.16	6.37	6.08	7.25	6.88	6.39	6.19	5.15	5.96	5.55	2.97	2.67
s	0.044	0.062	0.040	0.093	0.051	0.055	0.047	0.096	0.098	0.250	0.080	0.114	0.192	0.038	0.050	0.072	0.096	0.230	0.040	0.035

Tabla A.21. Evolución de derivados antocianicos tipo vitisina (mg/L) durante el proceso de maceración de vinos Merlot, Syrah, Tempranillo y Cabernet Sauvignon (valores, media y desviación estándar).

	Merlot				Syrah				Tempranillo				Cabernet Sauvignon			
	0 h	24 h	48 h	72 h	96 h	0 h	24 h	48 h	72 h	96 h	0 h	24 h	48 h	72 h	96 h	
Vitisina tipo A	0.890	1.52	1.68	1.27	1.13	nd	nd	nd	nd	nd	0.986	2.68	2.02	1.83	1.96	
malvidín-3-O-	0.920	1.18	1.81	1.09	1.34	nd	nd	nd	nd	nd	0.945	2.05	2.14	1.83	2.15	
acetilglucósido	0.992	1.34	2.04	1.10	1.52	nd	nd	nd	nd	nd	0.967	2.64	2.05	2.21	2.23	
$\bar{x}$	0.934	1.35	1.84	1.15	1.33	nd	nd	nd	nd	nd	0.966	2.46	2.07	1.96	2.11	
s	0.052	0.170	0.182	0.101	0.195	nd	nd	nd	nd	nd	0.021	0.353	0.062	0.219	0.139	
Vitisina tipo B	nd	nd	0.266	nd	0.225	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0.431	0.445	0.313	0.423	
malvidín-3-O-	nd	nd	0.253	nd	0.239	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0.367	0.488	0.376	0.441	
glucósido	nd	nd	0.295	nd	0.257	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0.439	0.411	0.395	0.402	
$\bar{x}$	nd	nd	0.271	nd	0.240	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0.412	0.448	0.361	0.422	
s	nd	nd	0.022	nd	0.016	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0.039	0.039	0.043	0.020	
Vitisina tipo B	0.529	0.643	0.579	0.533	nd	nd	0.480	0.359	0.492	0.636	nd	nd	nd	nd	0.261	
peonidín-3-O-	0.529	0.610	0.586	0.582	nd	nd	0.480	0.320	0.327	0.616	nd	nd	nd	nd	0.244	
acetilglucósido	0.518	0.591	0.661	0.487	nd	nd	0.425	0.295	0.298	0.502	nd	nd	nd	nd	0.287	
$\bar{x}$	0.525	0.615	0.609	0.534	nd	nd	0.462	0.325	0.372	0.585	nd	nd	nd	nd	0.264	
s	0.006	0.026	0.045	0.048	nd	nd	0.032	0.032	0.105	0.072	nd	nd	nd	nd	0.022	

Tabla A.22. Evolución de aductos de condensación antociano-metilmetileno-flavanol (mg/L) durante el proceso de maceración de vinos Merlot, Syrah, Tempranillo y Cabernet Sauvignon (valores, media y desviación estándar).

	Merlot			Syrah			Tempranillo			Cabernet Sauvignon					
	0 h	24 h	48 h	72 h	96 h	0 h	24 h	48 h	72 h	96 h	0 h	24 h	48 h	72 h	96 h
Malvidín-3-O-glc-metilmetileno (epi)catequina	0.336	0.574	0.531	0.603	0.297	0.695	0.578	0.322	0.653	0.379	0.270	0.399	0.403	0.358	0.336
$\bar{x}$	0.325	0.541	0.528	0.616	0.376	0.710	0.578	0.355	0.444	0.565	0.351	0.425	0.440	0.373	0.287
s	0.379	0.501	0.559	0.628	0.317	0.539	0.522	0.546	0.284	0.410	0.399	0.512	0.388	0.441	0.413
Malvidín-3-O-glc-metilmetileno (epi)catequina	0.347	0.539	0.539	0.616	0.330	0.648	0.559	0.408	0.46	0.451	0.340	0.445	0.410	0.391	0.345
$\bar{x}$	0.029	0.037	0.017	0.013	0.041	0.095	0.032	0.121	0.185	0.100	0.065	0.059	0.027	0.044	0.064
s	nd	nd	0.420	0.321	0.612	nd	nd	0.366	0.365	0.609	0.338	0.317	0.312	0.332	0.393
Malvidín-3-O-glc-metilmetileno (epi)catequina	nd	nd	0.360	0.300	0.585	nd	nd	0.372	0.337	0.493	0.359	0.349	0.315	0.329	0.375
$\bar{x}$	nd	nd	0.313	0.375	0.497	nd	nd	0.344	0.368	0.451	0.301	0.376	0.310	0.284	0.374
s	nd	nd	0.364	0.332	0.565	nd	nd	0.361	0.357	0.518	0.333	0.347	0.312	0.315	0.381
Malvidín-3-O-glc-metilmetileno (epi)catequina	nd	nd	0.054	0.039	0.060	nd	nd	0.015	0.017	0.082	0.029	0.030	0.003	0.027	0.011
$\bar{x}$	0.297	0.318	0.293	0.277	nd	0.343	0.322	0.314	0.353	0.402	0.291	0.306	0.354	0.279	0.257
s	0.281	0.316	0.316	0.291	nd	0.368	0.322	0.288	0.264	0.561	0.275	0.364	0.268	0.278	0.249
Malvidín-3-O-glc-metilmetileno (epi)catequina	0.311	0.312	0.295	0.242	nd	0.351	0.336	0.454	0.323	0.336	0.253	0.336	0.314	0.294	0.260
$\bar{x}$	0.296	0.315	0.301	0.270	nd	0.354	0.327	0.311	0.313	0.366	0.273	0.335	0.312	0.284	0.255
s	0.015	0.003	0.013	0.025	nd	0.013	0.008	0.021	0.045	0.033	0.019	0.029	0.043	0.009	0.006

Tabla A.23. Evolución de ácidos hidroxibenzoicos (mg/L) durante el proceso de maceración de vinos Merlot, Syrah, Tempranillo y Cabernet Sauvignon (valores, media y desviación estándar).

	Merlot			Syrah			Tempranillo			Cabernet Sauvignon					
	0 h	24 h	48 h	72 h	96 h	0 h	24 h	48 h	72 h	96 h	0 h	24 h	48 h	72 h	96 h
Ácido gálico	4.54	14.7	20.3	21.2	22.4	3.50	7.86	9.47	11.1	15.2	12.6	41.7	32.3	29.6	16.8
	4.29	14.3	16.3	21.7	21.7	3.31	7.86	9.43	11.1	15.0	12.9	42.1	29.0	28.3	16.4
$\bar{x}$	4.61	15.7	19.4	21.5	24.6	3.38	7.74	9.46	10.9	17.8	12.7	43.5	29.8	30.8	15.5
	4.48	14.9	18.7	21.5	22.9	3.40	7.82	9.45	11.00	16.00	12.7	42.4	30.4	29.5	16.2
s	0.168	0.721	2.10	0.252	1.51	0.096	0.069	0.021	0.116	1.56	0.153	0.945	1.72	1.25	0.666
Ácido protocatéuico	2.76	4.41	7.01	5.25	2.19	1.82	3.66	3.47	4.26	4.42	3.56	3.33	3.91	3.56	1.16
	2.42	4.21	7.46	4.60	2.14	1.90	3.66	3.41	4.19	4.67	3.30	2.57	4.12	3.08	0.96
$\bar{x}$	2.59	4.36	7.90	5.14	2.95	1.83	3.67	3.45	4.28	4.56	3.21	2.60	4.31	2.49	0.86
	2.59	4.33	7.45	5.00	2.43	1.85	3.66	3.44	4.24	4.55	3.36	2.83	4.11	3.04	0.992
s	0.170	0.104	0.445	0.348	0.454	0.044	0.006	0.031	0.047	0.125	0.182	0.430	0.283	0.536	0.154
Ácido vanílico	3.32	4.26	4.18	4.23	4.00	nd	5.35	9.20	14.8	6.55	1.09	1.26	1.62	1.25	0.32
	3.50	4.56	3.73	4.18	4.35	nd	5.35	10.3	14.8	6.46	1.04	1.02	1.36	1.23	0.45
$\bar{x}$	3.67	4.77	4.54	4.14	4.73	nd	5.68	10.3	14.9	6.14	1.14	1.15	1.48	1.26	0.40
	3.49	4.53	4.15	4.18	4.36	nd	5.46	9.93	14.8	6.38	1.09	1.14	1.49	1.25	0.391
s	0.175	0.256	0.406	0.045	0.365	nd	0.191	0.645	0.058	0.215	0.050	0.120	0.130	0.015	0.064
Ácido siríngico	3.45	4.66	3.89	3.98	3.52	0.279	1.10	1.18	0.948	0.874	1.57	1.65	1.93	2.01	1.35
	3.34	4.54	4.16	4.02	3.35	0.243	1.08	1.13	1.16	0.807	1.54	1.59	2.04	1.93	1.33
$\bar{x}$	3.23	4.58	4.39	4.10	3.26	0.310	1.13	1.15	0.972	0.892	1.57	1.68	2.16	1.84	1.35
	3.36	4.59	4.15	4.03	3.38	0.277	1.10	1.15	1.03	0.858	1.56	1.64	2.04	1.93	1.34
s	0.116	0.061	0.250	0.061	0.132	0.034	0.025	0.025	0.116	0.045	0.017	0.046	0.115	0.085	0.012

Tabla A.24. Evolución de ésteres de ácidos hidroxycinámicos (mg/L) durante el proceso de maceración de vinos Merlot, Syrah, Tempranillo y Cabernet Sauvignon (valores, media y desviación estándar).

	Merlot					Syrah					Tempranillo					Cabernet Sauvignon				
	0 h	24 h	48 h	72 h	96 h	0 h	24 h	48 h	72 h	96 h	0 h	24 h	48 h	72 h	96 h	0 h	24 h	48 h	72 h	96 h
Ácido c-caftárico	1.11	4.89	4.04	3.45	3.11	1.13	3.52	2.78	2.87	3.03	1.97	4.69	3.40	2.48	1.14	2.91	3.10	3.54	3.27	3.46
	1.09	4.93	4.07	3.36	3.10	1.15	3.52	2.82	2.96	3.11	1.96	4.62	3.08	2.35	1.18	2.96	3.03	2.72	3.29	3.35
$\bar{x}$	1.12	4.82	4.01	3.48	3.11	1.16	3.59	2.79	2.90	3.02	1.95	4.63	3.32	2.35	1.17	2.99	3.08	3.82	3.28	3.44
	1.11	4.88	4.04	3.43	3.10	1.15	3.54	2.80	2.91	3.05	1.96	4.65	3.27	2.39	1.16	2.95	3.07	3.36	3.28	3.42
s	0.015	0.056	0.030	0.062	0.005	0.015	0.040	0.021	0.046	0.049	0.010	0.038	0.167	0.075	0.021	0.040	0.036	0.572	0.010	0.059
	0.860	1.34	0.990	0.978	0.688	4.37	4.13	4.56	4.41	4.52	1.79	1.81	2.03	2.05	0.96	1.07	0.945	0.949	0.906	1.18
Ácido t-caftárico	0.896	1.01	1.00	1.01	0.774	4.30	4.13	4.47	4.51	4.50	1.70	1.75	1.79	1.91	0.99	1.02	0.781	0.896	0.845	1.10
	0.825	0.990	0.818	0.956	0.776	4.18	4.25	4.53	4.51	4.50	1.76	1.80	1.98	1.92	0.94	1.02	0.763	1.040	0.962	1.14
$\bar{x}$	0.860	1.00	0.907	0.981	0.746	4.28	4.17	4.52	4.48	4.51	1.75	1.79	1.93	1.96	0.963	1.04	0.830	0.962	0.904	1.14
	0.036	0.014	0.126	0.027	0.050	0.096	0.069	0.046	0.058	0.011	0.046	0.032	0.127	0.078	0.023	0.029	0.100	0.073	0.059	0.040
Ácido c-cutárico	0.868	1.67	1.53	1.26	1.14	0.783	1.20	1.18	1.22	0.991	0.807	1.58	1.07	0.866	0.719	0.844	1.35	1.16	1.38	2.01
	0.625	1.69	1.46	1.26	0.896	0.786	1.20	1.20	1.26	1.03	0.792	1.60	0.942	1.07	0.789	0.822	1.42	0.92	1.39	2.28
$\bar{x}$	0.733	1.69	1.45	1.10	0.908	0.783	1.24	1.19	1.23	0.998	0.815	1.63	1.06	1.10	0.810	0.833	1.41	1.20	1.40	1.82
	0.742	1.68	1.48	1.21	0.981	0.784	1.21	1.19	1.24	1.01	0.805	1.60	1.02	1.01	0.773	0.833	1.39	1.09	1.39	2.04
s	0.122	0.012	0.044	0.092	0.138	0.002	0.023	0.010	0.021	0.021	0.012	0.025	0.071	0.127	0.048	0.011	0.038	0.154	0.010	0.231
	0.734	0.851	0.743	0.808	0.868	0.718	0.886	0.987	0.893	0.951	0.828	0.815	0.911	0.962	0.723	1.21	1.71	1.47	1.32	1.86
Ácido t-cutárico	0.842	0.858	0.819	0.818	1.07	0.711	0.886	1.03	0.922	0.960	0.831	0.809	0.867	0.927	0.717	1.31	1.70	1.42	1.29	1.91
	0.794	0.822	0.785	0.799	1.090	0.711	0.881	1.00	0.935	0.983	0.821	0.817	0.915	0.944	0.727	1.20	1.81	1.51	1.28	2.03
$\bar{x}$	0.790	0.844	0.782	0.808	1.01	0.713	0.884	1.01	0.917	0.965	0.827	0.814	0.898	0.944	0.722	1.24	1.74	1.47	1.30	1.93
	0.054	0.019	0.038	0.009	0.123	0.004	0.003	0.022	0.022	0.017	0.005	0.004	0.027	0.018	0.005	0.061	0.061	0.045	0.021	0.087

Tabla A.24. (Continuación). Evolución de ésteres de ácidos hidroxicinámicos (mg/L) durante el proceso de maceración de vinos Merlot, Syrah, Tempranillo y Cabernet Sauvignon (valores, media y desviación estándar).

	Merlot			Syrah			Tempranillo			Cabernet Sauvignon										
	0 h	24 h	48 h	72 h	96 h	0 h	24 h	48 h	72 h	96 h	0 h	24 h	48 h	72 h	96 h					
Ácido c-fertárico	0.281	0.771	0.711	0.761	0.650	nd	1.22	1.32	1.39	1.48	0.977	1.25	1.38	1.25	0.386	0.456	0.293	0.502	0.155	0.133
	0.366	0.662	0.730	0.767	0.585	nd	0.974	1.10	1.32	1.48	0.967	1.27	1.22	0.960	0.402	0.526	0.285	0.579	0.174	0.154
	0.309	0.837	0.692	0.710	0.618	nd	1.01	1.25	1.37	1.42	0.947	1.28	1.33	1.01	0.370	0.454	0.266	0.445	0.175	0.187
$\bar{x}$	0.319	0.757	0.711	0.746	0.618	nd	1.07	1.22	1.36	1.46	0.964	1.27	1.31	1.07	0.386	0.479	0.281	0.509	0.168	0.158
s	0.043	0.088	0.019	0.031	0.032	nd	0.133	0.112	0.036	0.035	0.015	0.015	0.082	0.155	0.016	0.041	0.014	0.067	0.011	0.027
Ácido t-fertárico	0.221	0.379	0.346	0.405	0.223	nd	0.133	0.139	0.149	0.138	0.310	0.438	0.475	0.504	0.136	0.208	0.343	0.426	0.609	0.435
	0.212	0.332	0.349	0.357	0.241	nd	0.133	0.133	0.142	0.152	0.301	0.430	0.444	0.442	0.135	0.222	0.323	0.446	0.562	0.558
	0.230	0.419	0.343	0.427	0.258	nd	0.119	0.137	0.151	0.154	0.305	0.441	0.417	0.466	0.117	0.213	0.280	0.364	0.543	0.428
$\bar{x}$	0.221	0.377	0.346	0.396	0.241	nd	0.128	0.136	0.147	0.148	0.305	0.436	0.445	0.471	0.129	0.214	0.315	0.412	0.571	0.474
s	0.009	0.044	0.003	0.036	0.017	nd	0.008	0.003	0.005	0.009	0.005	0.006	0.029	0.031	0.011	0.007	0.032	0.043	0.034	0.073

Tabla A.25. Evolución de derivados del flavan-3-ol (mg/L) durante el proceso de maceración de vinos Merlot, Syrah, Tempranillo y Cabernet Sauvignon (valores, media y desviación estándar).

	Merlot			Syrah			Tempranillo			Cabernet Sauvignon										
	0 h	24 h	48 h	72 h	96 h	0 h	24 h	48 h	72 h	96 h	0 h	24 h	48 h	72 h	96 h					
(+)-Catequina	9.15	36.0	42.9	76.1	66.9	7.52	36.2	30.7	36.1	36.1	2.80	17.7	17.6	17.5	12.9	39.3	121.3	171.6	188.6	192.3
	10.6	35.9	49.7	75.7	68.6	7.14	38.4	31.7	39.0	38.7	3.03	16.8	17.7	17.0	13.6	37.2	126.8	163.5	186.7	181.0
	9.23	42.8	45.7	72.1	63.6	7.30	40.8	31.1	36.7	41.4	2.76	16.9	18.1	17.0	14.6	39.0	124.2	163.5	184.7	185.4
$\bar{x}$	9.66	38.2	46.1	74.6	66.4	7.32	38.5	31.2	37.3	38.7	2.86	17.2	17.8	17.2	13.7	38.5	124.1	166.2	186.7	186.2
s	0.815	3.96	3.42	2.20	2.53	0.191	2.30	0.503	1.53	2.63	0.146	0.500	0.231	0.272	0.871	1.11	2.75	4.68	1.95	5.70
(-)-Epicatequina	48.0	62.8	72.8	72.1	85.6	23.4	44.5	49.3	51.5	43.7	46.9	79.3	78.9	82.5	64.0	84.4	111.9	161.3	114.8	109.9
	46.0	62.6	69.3	78.4	86.3	22.1	41.7	50.2	56.9	45.5	43.7	75.5	74.6	76.6	63.6	88.7	119.4	147.7	109.7	115.3
	46.2	66.0	72.7	77.9	96.7	24.6	43.1	49.6	54.4	44.7	48.2	77.2	80.3	74.8	58.0	84.1	124.0	172.9	106.1	105.8
$\bar{x}$	46.7	63.8	71.6	76.1	89.5	23.4	43.1	49.7	54.3	44.6	46.3	77.3	77.9	78.0	61.9	85.7	118.4	160.6	110.2	110.3
s	1.11	1.91	1.99	3.50	6.22	1.25	1.40	0.458	2.70	0.902	2.32	1.90	2.97	4.03	3.39	2.58	6.11	12.6	4.37	4.76
Procianidinas B1 + B3	0.836	21.7	31.0	33.0	43.9	1.00	26.2	18.7	23.4	7.50	3.00	23.1	22.7	21.3	12.2	4.60	31.6	22.2	17.4	18.3
	0.598	21.5	32.5	31.1	45.0	1.00	26.8	19.6	27.7	8.31	2.87	24.3	21.3	24.1	12.8	4.33	33.5	21.5	18.3	17.2
	0.616	21.6	28.7	34.7	56.1	0.989	27.3	19.3	27.7	8.90	2.92	24.3	21.3	24.5	13.1	4.49	31.2	28.9	22.5	17.8
$\bar{x}$	0.683	21.6	30.7	32.9	44.7	0.996	26.8	19.2	26.3	8.24	2.93	23.9	23.4	23.3	12.7	4.473	32.1	24.2	19.4	17.8
s	0.133	0.100	1.91	1.80	0.666	0.006	0.551	0.458	2.48	0.703	0.066	0.693	0.755	1.74	0.458	0.136	1.23	4.09	2.72	0.558
Procianidinas B2 + B4	2.53	11.6	15.9	17.9	22.5	3.29	26.2	18.6	22.8	9.27	2.20	7.85	12.2	12.5	6.04	5.85	20.6	28.2	20.7	15.7
	2.22	11.7	15.3	18.4	25.5	3.29	26.8	18.4	23.3	9.91	2.09	6.35	12.9	15.6	5.95	5.47	23.8	27.5	21.6	17.1
	1.56	14.0	14.9	17.5	20.9	3.31	27.3	18.1	22.7	8.95	2.08	6.35	13.0	13.8	5.98	5.80	26.7	29.8	23.4	14.9
$\bar{x}$	2.10	12.4	15.4	17.9	23.0	3.30	26.8	18.4	22.9	9.38	2.12	6.85	12.7	14.0	5.99	5.71	23.7	28.5	21.9	15.9
s	0.495	1.36	0.503	0.425	2.34	0.012	0.551	0.252	0.321	0.489	0.067	0.866	0.436	1.56	0.046	0.206	3.05	1.18	1.37	1.10

Tabla A.25. (Continuación). Evolución de derivados del flavan-3-ol (mg/L) durante el proceso de maceración de vinos Merlot, Syrah, Tempranillo y Cabernet Sauvignon (valores, media y desviación estándar).

	Merlot			Syrah			Tempranillo			Cabernet Sauvignon										
	0 h	24 h	48 h	72 h	96 h	0 h	24 h	48 h	72 h	96 h	0 h	24 h	48 h	72 h	96 h					
B2-3-O-galato	nd	1.01	1.02	0.962	2.06	nd	2.95	10.0	3.75	2.86	0.533	2.33	1.96	1.91	1.83	0.703	2.25	6.31	3.14	1.99
	nd	0.880	0.867	1.01	2.40	nd	3.11	9.65	4.23	2.64	0.620	2.52	1.53	1.98	1.97	0.767	2.02	6.22	3.21	1.80
$\bar{x}$	nd	0.843	1.02	1.02	2.09	nd	3.47	9.65	3.39	3.03	0.670	2.52	1.48	1.76	2.22	0.711	2.12	6.15	3.58	2.25
	nd	0.924	0.969	1.00	2.22	nd	3.18	9.76	3.79	2.84	0.401	2.46	1.66	1.88	2.01	0.727	2.13	6.23	3.31	2.01
<i>s</i>	nd	0.110	0.088	0.047	0.171	nd	0.266	0.185	0.421	0.196	0.354	0.110	0.264	0.112	0.198	0.035	0.115	0.080	0.236	0.226
B2-3-O'-galato	0.730	2.02	1.03	0.614	0.712	nd	8.08	10.7	13.5	1.58	0.400	2.93	1.65	1.60	1.64	1.46	7.15	8.10	5.18	2.72
	0.620	2.00	0.173	0.786	0.795	nd	7.83	10.7	13.5	1.55	0.306	3.21	1.77	1.22	1.78	1.14	9.92	8.80	4.27	3.10
$\bar{x}$	0.577	1.95	1.12	0.751	0.696	nd	8.67	10.7	14.2	1.59	0.302	2.99	1.47	1.55	1.60	1.28	9.68	8.37	5.05	3.76
	0.642	2.43	1.20	0.685	0.778	nd	8.19	10.7	13.7	1.57	0.338	4.12	0.669	1.03	1.67	1.29	8.92	8.42	4.83	3.19
<i>s</i>	0.079	0.529	0.091	0.069	0.024	nd	0.431	0.042	0.404	0.021	0.058	0.162	0.100	0.170	0.095	0.160	1.53	0.353	0.492	0.526
B1-3-O-galato	nd	nd	nd	nd	nd	nd	3.67	3.72	3.85	4.05	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	nd	nd	nd	nd	nd	nd	3.59	3.67	3.44	3.69	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
$\bar{x}$	nd	nd	nd	nd	nd	nd	3.71	3.97	3.40	3.87	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	nd	nd	nd	nd	nd	nd	3.66	3.79	3.56	3.87	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
<i>s</i>	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0.06	0.16	0.25	0.180	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Epicatequín galato	0.133	1.19	1.25	2.87	1.61	nd	nd	nd	nd	nd	0.156	1.11	1.51	2.04	1.10	nd	nd	nd	nd	nd
	0.153	1.17	1.14	3.02	1.45	nd	nd	nd	nd	nd	0.166	1.13	1.39	2.10	0.988	nd	nd	nd	nd	nd
$\bar{x}$	0.162	1.12	1.04	3.18	1.76	nd	nd	nd	nd	nd	0.149	1.13	1.45	2.27	1.08	nd	nd	nd	nd	nd
	0.149	1.16	1.14	3.02	1.61	nd	nd	nd	nd	nd	0.157	1.12	0.450	2.14	1.06	nd	nd	nd	nd	nd
<i>s</i>	0.015	0.036	0.105	0.155	0.155	nd	nd	nd	nd	nd	0.009	0.012	0.064	0.119	0.060	nd	nd	nd	nd	nd
Epigallocatequín galato	0.011	0.857	1.02	0.733	1.54	nd	nd	nd	nd	nd	0.531	1.67	1.55	1.30	1.96	0.183	1.64	1.08	0.654	0.296
	0.014	0.926	1.08	0.807	1.75	nd	nd	nd	nd	nd	0.518	1.67	1.50	1.25	2.00	0.151	1.70	1.03	0.457	0.282
$\bar{x}$	0.014	0.896	1.12	0.872	1.81	nd	nd	nd	nd	nd	0.522	1.68	1.67	1.57	1.87	0.201	1.73	0.971	0.553	0.228
	0.006	0.893	1.07	0.804	1.70	nd	nd	nd	nd	nd	0.524	1.67	1.57	1.37	1.94	0.178	1.69	1.03	0.555	0.269
<i>s</i>	0.004	0.035	0.050	0.070	0.142	nd	nd	nd	nd	nd	0.007	0.006	0.087	0.172	0.067	0.025	0.05	0.055	0.099	0.036



Tabla A.25. (Continuación). Evolución de derivados del flavan-3-ol (mg/L) durante el proceso de maceración de vinos Merlot, Syrah, Tempranillo y Cabernet Sauvignon (valores, media y desviación estándar).

	Merlot				Syrah				Tempranillo				Cabernet Sauvignon			
	0 h	24 h	48 h	72 h	96 h	0 h	24 h	48 h	72 h	96 h	0 h	24 h	48 h	72 h	96 h	
Trímero 1	0.301	0.950	2.02	2.15	1.87	nd	5.87	3.15	4.26	4.16	0.219	1.61	0.766	nd	nd	
	0.260	0.863	2.13	1.91	1.97	nd	6.53	3.03	4.31	3.81	0.284	1.66	0.745	nd	nd	
$\bar{x}$	0.285	1.06	1.96	1.68	1.72	nd	6.24	2.69	4.51	3.67	0.297	1.66	0.808	nd	nd	
	0.282	0.958	2.04	1.91	1.85	nd	6.21	2.96	4.36	3.88	0.267	1.64	0.706	nd	nd	
s	0.021	0.099	0.086	0.235	0.126	nd	0.331	0.239	0.132	0.252	0.042	0.029	0.141	nd	nd	
Trímero 2	0.583	0.929	1.08	1.46	1.50	nd	4.57	3.12	4.34	2.74	0.524	3.11	2.37	1.67	2.49	
	0.623	0.837	0.794	1.48	1.54	nd	4.35	3.36	4.28	2.10	0.574	3.04	1.58	1.65	2.45	
$\bar{x}$	0.650	0.865	0.954	1.47	1.38	nd	4.84	4.01	4.82	2.76	0.633	3.04	1.70	1.62	2.46	
	0.618	0.810	0.806	1.57	1.37	nd	4.59	3.50	4.48	2.53	0.577	3.06	1.88	1.647	2.47	
s	0.034	0.134	0.268	0.173	0.255	nd	0.245	0.460	0.296	0.375	0.055	0.040	0.426	0.025	0.021	
Trímero 3	0.611	0.351	0.915	1.66	1.59	nd	nd	nd	nd	nd	1.53	1.14	0.894	1.68	2.00	
	0.599	0.401	1.18	1.81	1.25	nd	nd	nd	nd	nd	1.40	1.27	0.790	1.56	1.93	
$\bar{x}$	0.583	0.441	1.12	1.54	1.42	nd	nd	nd	nd	nd	1.56	1.47	0.601	1.70	1.50	
	0.598	0.531	1.07	1.47	1.23	nd	nd	nd	nd	nd	1.50	1.36	0.762	1.48	1.81	
s	0.014	0.238	0.139	0.380	0.376	nd	nd	nd	nd	nd	0.085	0.191	0.149	0.269	0.271	
Tetrámero 1	nd	nd	nd	nd	nd	nd	5.20	3.00	2.93	nd	nd	nd	nd	nd	nd	
	nd	nd	nd	nd	nd	nd	4.88	3.11	2.82	nd	nd	nd	nd	nd	nd	
$\bar{x}$	nd	nd	nd	nd	nd	nd	6.15	2.85	2.65	nd	nd	nd	nd	nd	nd	
	nd	nd	nd	nd	nd	nd	5.41	2.99	2.80	nd	nd	nd	nd	nd	nd	
s	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0.661	0.131	0.141	nd	nd	nd	nd	nd	nd	
Tetrámero 2	0.575	1.61	1.70	0.923	1.90	nd	2.39	6.72	2.33	1.67	nd	nd	1.34	0.591	nd	
	0.598	1.63	1.60	0.992	2.05	nd	3.31	6.13	3.34	2.19	nd	nd	1.12	0.660	nd	
$\bar{x}$	0.513	1.48	1.86	0.913	2.01	nd	2.50	6.13	2.81	2.05	nd	nd	1.30	0.779	nd	
	0.562	1.44	1.72	0.943	1.99	nd	2.73	6.33	2.83	1.97	nd	nd	1.25	0.691	nd	
s	0.044	0.312	0.131	0.043	0.078	nd	0.502	0.341	0.505	0.269	nd	nd	0.117	0.095	nd	
											0.272	2.18	1.64	3.66	3.80	
											0.276	2.20	1.48	3.95	3.96	
											0.269	2.27	1.68	4.03	3.52	
											0.272	2.22	1.60	3.88	3.76	
											0.004	0.047	0.106	0.195	0.223	

Tabla A.26. Evolución de flavonoles (mg/L) durante el proceso de maceración de vinos Merlot, Syrah, Tempranillo y Cabernet Sauvignon (valores, media y desviación estándar).

	Merlot				Syrah				Tempranillo				Cabernet Sauvignon			
	0 h	24 h	48 h	72 h	96 h	0 h	24 h	48 h	72 h	96 h	0 h	24 h	48 h	72 h	96 h	
Quercetín-3-O-glucósido	4.77	6.22	5.11	5.16	3.89	4.64	5.73	1.31	1.95	2.34	0.075	1.37	1.64	1.21	1.00	
	4.75	6.10	5.11	4.90	3.96	4.54	5.65	1.31	1.91	2.34	0.095	1.39	1.70	1.17	1.03	
$\bar{x}$	5.02	6.11	5.18	4.60	4.02	4.54	5.73	1.33	1.91	2.54	0.085	1.35	1.670	1.13	0.975	
	4.85	6.14	5.13	4.89	3.96	4.57	5.70	1.32	1.92	2.41	0.085	1.37	1.67	1.17	1.00	
s	0.150	0.067	0.040	0.278	0.065	0.058	0.046	0.012	0.023	0.115	0.010	0.020	0.030	0.040	0.028	
Quercetín-3-O-glucurónido + quercetín-3-O-galactósido	3.39	8.79	7.92	8.21	9.29	1.32	3.24	0.413	0.696	1.00	0.232	1.12	1.30	1.28	0.753	
	3.30	8.76	8.06	8.24	9.04	1.28	3.15	0.407	0.705	1.00	0.224	1.11	1.31	0.980	0.782	
$\bar{x}$	3.55	8.81	8.04	8.06	9.03	1.31	3.18	0.417	0.712	1.10	0.221	1.11	1.30	1.07	0.746	
	3.41	8.79	8.01	8.17	9.12	1.30	3.19	0.412	0.704	1.03	0.226	1.11	1.30	1.11	0.760	
s	0.127	0.025	0.076	0.096	0.147	0.021	0.046	0.005	0.008	0.058	0.006	0.006	0.006	0.154	0.019	
Kaempferol-3-O-glucósido	0.613	0.878	0.693	0.698	0.692	1.26	1.20	1.16	1.31	1.15	1.31	2.07	1.79	1.74	1.44	
	0.620	0.895	0.705	0.612	0.594	1.22	1.41	1.17	1.31	1.14	1.24	2.11	2.03	1.71	1.50	
$\bar{x}$	0.651	0.871	0.743	0.673	0.571	1.20	1.33	1.15	1.33	1.16	1.31	2.09	1.78	1.59	1.37	
	0.628	0.881	0.714	0.661	0.619	1.23	1.31	1.16	1.32	1.15	1.29	2.09	1.87	1.68	1.44	
s	0.020	0.012	0.026	0.044	0.064	0.031	0.106	0.010	0.012	0.010	0.040	0.020	0.142	0.079	0.065	
Kaempferol-3-O-glucurónido + isorhamnetín-3-O-glucósido	4.25	4.52	4.00	3.66	3.46	9.17	11.0	9.90	10.7	9.39	0.075	1.37	1.64	1.21	1.00	
	4.27	4.52	4.02	3.61	3.50	9.05	10.9	10.0	11.1	9.38	0.095	1.39	1.70	1.17	1.03	
$\bar{x}$	4.52	4.51	4.10	3.95	3.41	9.06	11.1	10.1	10.9	10.5	0.085	1.35	1.670	1.13	0.975	
	4.35	4.52	4.04	3.74	3.46	9.09	11.0	10.0	10.9	9.76	0.850	1.37	1.14	1.16	1.13	
s	0.150	0.005	0.053	0.184	0.045	0.067	0.100	0.100	0.200	0.644	0.050	0.006	0.006	0.018	0.015	

Tabla A.26. (Continuación). Evolución de flavonoles (mg/L) durante el proceso de maceración de vinos Merlot, Syrah, Tempranillo y Cabernet Sauvignon (valores, media y desviación estándar).

	Merlot					Syrah					Tempranillo					Cabernet Sauvignon				
	0 h	24 h	48 h	72 h	96 h	0 h	24 h	48 h	72 h	96 h	0 h	24 h	48 h	72 h	96 h	0 h	24 h	48 h	72 h	96 h
Miricetin-3-O-glucósido	0.355	0.479	0.418	0.390	0.317	0.158	0.216	0.035	0.033	0.044	0.078	0.023	0.024	0.025	0.019	0.551	0.472	0.180	0.276	0.395
$\bar{x}$	0.336	0.483	0.412	0.407	0.337	0.149	0.192	0.033	0.036	0.042	0.080	0.022	0.029	0.024	0.018	0.559	0.435	0.166	0.257	0.416
s	0.336	0.480	0.390	0.409	0.370	0.151	0.216	0.030	0.037	0.042	0.079	0.025	0.026	0.020	0.023	0.651	0.421	0.177	0.262	0.418
Laricitrin-3-O-glucósido	0.342	0.481	0.407	0.402	0.341	0.153	0.208	0.033	0.035	0.043	0.079	0.023	0.026	0.023	0.020	0.587	0.443	0.174	0.265	0.410
$\bar{x}$	0.011	0.002	0.015	0.010	0.027	0.005	0.014	0.003	0.002	0.001	0.001	0.002	0.003	0.003	0.003	0.056	0.026	0.007	0.010	0.013
s	0.974	1.03	0.947	0.879	0.776	0.838	1.10	0.393	0.492	0.547	0.136	0.412	0.465	0.800	0.296	1.70	1.46	1.25	1.29	1.14
Laricitrin-3-O-glucósido	0.959	1.00	0.935	0.850	0.774	0.812	1.09	0.351	0.472	0.551	0.135	0.424	0.472	0.775	0.312	1.77	1.39	1.20	1.28	1.14
$\bar{x}$	1.02	1.02	0.956	0.817	0.776	0.832	1.04	0.366	0.482	0.568	0.125	0.417	0.462	0.771	0.277	1.87	1.40	1.40	1.18	1.44
s	0.984	1.02	0.946	0.849	0.775	0.827	1.08	0.370	0.482	0.555	0.132	0.418	0.466	0.782	0.295	1.78	1.42	1.28	1.25	1.24
Siringetin-3-O-glucósido	0.032	0.015	0.011	0.031	0.001	0.014	0.032	0.021	0.010	0.011	0.006	0.006	0.005	0.016	0.018	0.085	0.038	0.104	0.061	0.172
$\bar{x}$	2.94	3.12	3.05	2.97	2.91	3.60	4.46	4.19	4.52	4.03	1.24	2.14	1.79	1.81	1.86	5.92	6.13	7.86	6.06	5.87
s	3.01	3.09	3.06	2.86	2.94	3.59	4.49	4.19	4.66	3.98	1.21	2.15	1.76	1.79	1.89	6.20	5.77	6.97	5.86	5.68
Siringetin-3-O-glucósido	3.15	3.13	3.11	3.12	2.93	3.61	4.49	4.20	4.64	4.47	1.22	2.11	1.80	1.90	1.82	6.37	5.66	7.28	5.78	5.97
$\bar{x}$	3.03	3.11	3.07	2.98	2.93	3.60	4.48	4.19	4.61	4.16	1.22	2.13	1.78	1.83	1.86	6.16	5.85	7.37	5.90	5.84
s	0.107	0.021	0.032	0.131	0.015	0.010	0.017	0.006	0.076	0.270	0.015	0.021	0.021	0.059	0.035	0.227	0.246	0.452	0.144	0.147

Tabla A.26. (Continuación). Evolución de flavonoles (mg/L) durante el proceso de maceración de vinos Merlot, Syrah, Tempranillo y Cabernet Sauvignon (valores, media y desviación estándar).

	Merlot			Syrah			Tempranillo			Cabernet Sauvignon										
	0 h	24 h	48 h	72 h	96 h	0 h	24 h	48 h	72 h	96 h	0 h	24 h	48 h	72 h	96 h					
Miricetina	0.144	0.146	0.121	0.120	0.128	0.350	0.293	0.294	0.349	0.282	0.030	0.078	0.074	0.019	0.014	0.198	0.386	0.433	0.304	0.338
$\bar{x}$	0.149	0.156	0.122	0.119	0.137	0.333	0.298	0.277	0.334	0.280	0.037	0.071	0.065	0.017	0.011	0.174	0.376	0.413	0.305	0.338
s	0.160	0.153	0.118	0.118	0.110	0.330	0.279	0.260	0.360	0.266	0.037	0.057	0.063	0.018	0.012	0.202	0.377	0.491	0.298	0.332
Quercetina	0.151	0.152	0.120	0.119	0.125	0.338	0.290	0.277	0.348	0.276	0.035	0.069	0.067	0.018	0.012	0.191	0.380	0.446	0.302	0.336
$\bar{x}$	0.008	0.005	0.002	0.001	0.014	0.011	0.010	0.017	0.013	0.009	0.004	0.011	0.006	0.001	0.002	0.015	0.006	0.041	0.004	0.003
s	1.11	1.66	1.65	1.67	1.58	0.214	0.545	0.477	0.706	1.22	0.548	1.13	0.806	0.909	1.07	1.86	1.08	1.09	0.841	0.726
Quercetina	1.12	1.66	1.64	1.65	1.62	0.222	0.484	0.524	0.756	1.23	0.567	1.12	0.781	1.18	1.14	1.88	1.10	0.994	0.741	0.658
$\bar{x}$	1.21	1.65	1.68	1.63	1.70	0.205	0.485	0.535	0.858	1.34	0.568	1.16	0.895	1.05	1.03	1.90	1.12	1.18	0.789	0.750
s	1.15	1.66	1.66	1.65	1.63	0.214	0.505	0.512	0.773	1.26	0.561	1.14	0.827	1.05	1.08	1.88	1.10	1.09	0.790	0.711
Kaempferol	0.055	0.006	0.021	0.044	0.061	0.009	0.035	0.031	0.077	0.067	0.011	0.021	0.060	0.136	0.056	0.020	0.020	0.093	0.050	0.048
$\bar{x}$	0.345	0.415	0.361	0.352	0.321	nd	0.191	0.232	0.250	0.302	0.427	0.601	0.449	0.447	0.577	0.637	0.502	0.333	0.310	0.220
s	0.347	0.436	0.364	0.354	0.330	nd	0.197	0.252	0.255	0.297	0.431	0.610	0.463	0.488	0.598	0.592	0.487	0.321	0.295	0.218
Kaempferol	0.366	0.427	0.368	0.349	0.334	nd	0.194	0.255	0.251	0.336	0.440	0.624	0.466	0.519	0.566	0.569	0.512	0.325	0.284	0.224
$\bar{x}$	0.353	0.426	0.364	0.352	0.328	nd	0.194	0.246	0.252	0.312	0.433	0.612	0.459	0.485	0.580	0.599	0.500	0.326	0.296	0.221
s	0.012	0.011	0.004	0.003	0.007	nd	0.003	0.013	0.003	0.021	0.007	0.012	0.009	0.036	0.016	0.035	0.013	0.006	0.013	0.003
Isorhamnetina	0.358	0.359	0.428	0.458	0.474	nd	0.141	0.238	0.321	0.488	0.055	0.117	0.078	0.040	0.140	0.427	0.134	0.155	0.307	0.084
$\bar{x}$	0.362	0.375	0.439	0.440	0.460	nd	0.140	0.238	0.327	0.499	0.058	0.113	0.077	0.040	0.132	0.368	0.168	0.154	0.304	0.090
s	0.388	0.424	0.446	0.463	0.453	nd	0.153	0.217	0.326	0.557	0.054	0.132	0.090	0.044	0.140	0.290	0.141	0.149	0.295	0.096
Siringetina	0.369	0.386	0.438	0.454	0.462	nd	0.145	0.231	0.325	0.515	0.056	0.121	0.082	0.127	0.137	0.362	0.148	0.153	0.302	0.090
$\bar{x}$	0.016	0.034	0.009	0.012	0.011	nd	0.007	0.012	0.003	0.037	0.002	0.010	0.007	0.012	0.005	0.069	0.018	0.003	0.006	0.006
s	0.062	0.053	0.091	0.135	0.165	nd	0.095	0.107	0.046	0.129	0.054	0.078	0.119	0.110	0.092	0.108	0.134	0.150	0.131	0.119
Siringetina	0.059	0.065	0.081	0.119	0.153	nd	0.108	0.102	0.047	0.131	0.073	0.082	0.124	0.107	0.103	0.122	0.141	0.154	0.120	0.121
$\bar{x}$	0.073	0.060	0.077	0.151	0.123	nd	0.106	0.118	0.048	0.117	0.063	0.080	0.129	0.115	0.107	0.119	0.138	0.142	0.139	0.122
s	0.065	0.059	0.083	0.135	0.147	nd	0.103	0.109	0.047	0.126	0.063	0.080	0.124	0.111	0.101	0.116	0.138	0.149	0.130	0.121
S	0.007	0.006	0.007	0.016	0.022	nd	0.007	0.008	0.001	0.008	0.010	0.002	0.005	0.004	0.008	0.007	0.004	0.006	0.011	0.002

Tabla A.27. Evolución de polímeros (mg/L) durante el proceso de maceración de vinos Merlot, Syrah, Tempranillo y Cabernet Sauvignon (valores, media y desviación estándar).

	Merlot					Syrah					Tempranillo					Cabernet Sauvignon				
	0 h	24 h	48 h	72 h	96 h	0 h	24 h	48 h	72 h	96 h	0 h	24 h	48 h	72 h	96 h	0 h	24 h	48 h	72 h	96 h
Polímeros	202.6	595.9	660.8	703.9	712.3	96.9	505.3	378.7	349.5	397.8	122.4	793.4	830.3	824.9	816.8	253.5	849.0	593.7	564.1	488.4
$\bar{x}$	209.4	604.6	704.5	688.3	722.7	91.1	500.0	343.0	350.8	378.7	127.3	877.5	854.4	815.1	841.6	228.7	852.1	591.5	559.0	460.3
s	211.5	575.1	726.3	719.5	717.7	84.5	517.6	343.8	345.6	369.6	125.5	821.0	806.2	831.7	791.9	247.8	867.0	597.8	554.1	446.5
Polímeros coloreados	207.8	591.9	697.2	703.9	717.6	90.8	507.6	355.2	348.6	382.0	125.1	830.6	830.3	823.9	816.8	243.3	856.0	594.3	559.1	465.1
$\bar{x}$	16.2	27.1	33.2	31.1	33.8	6.20	40.6	28.1	33.0	35.1	7.83	46.8	47.8	44.5	49.2	13.0	46.2	31.9	5.00	21.4
s	15.4	25.4	25.4	28.2	36.3	12.6	42.2	28.5	32.4	35.2	7.65	49.1	48.9	45.8	46.1	15.6	27.2	23.0	27.0	27.6
$\bar{x}$	15.7	24.9	34.0	31.3	34.5	12.9	41.5	29.3	32.2	36.5	7.36	48.5	52.5	46.4	48.2	16.4	27.6	23.1	28.4	28.1
s	15.8	25.8	30.9	30.2	34.9	12.6	41.4	28.6	32.5	35.6	7.61	48.1	49.7	45.6	47.8	16.1	26.9	22.9	27.2	27.3
	0.404	1.15	4.75	1.73	1.29	0.351	0.802	0.611	0.416	0.781	0.237	1.19	2.46	0.971	1.58	0.436	0.945	0.321	1.16	0.929

Tabla A.28. Evolución de la capacidad antioxidante (mmol TE/L) durante el proceso de maceración de vinos Merlot, Syrah, Tempranillo y Cabernet Sauvignon (valores, media y desviación estándar).

	Merlot			Syrah			Tempranillo			Cabernet Sauvignon										
	0 h	24 h	48 h	72 h	96 h	0 h	24 h	48 h	72 h	96 h	0 h	24 h	48 h	72 h	96 h					
Capacidad antioxidante	3.76	6.39	6.39	6.25	6.71	3.32	5.48	5.67	5.54	5.54	5.57	6.91	6.87	6.86	6.85	6.28	7.15	7.00	7.15	7.28
	3.85	6.16	6.34	6.23	6.82	3.35	5.51	5.55	5.85	5.40	5.92	6.89	6.88	6.59	6.87	6.33	7.23	7.00	7.19	7.25
	3.73	6.46	6.36	6.14	6.70	3.40	5.44	5.68	5.69	5.40	5.91	6.86	6.78	6.90	6.84	6.36	7.19	7.05	7.19	7.28
$\bar{x}$	3.78	6.33	6.36	6.20	6.74	3.36	5.48	5.63	5.69	5.45	5.80	6.89	6.85	6.79	6.85	6.32	7.19	7.02	7.17	7.27
s	0.065	0.158	0.024	0.059	0.070	0.037	0.033	0.073	0.153	0.081	0.198	0.026	0.053	0.171	0.018	0.038	0.044	0.028	0.026	0.014

Tabla A.29. Evolución de las absorbancias a 420, 520 y 620 nm (u.a.) y de la tonalidad durante el proceso de estabilización en botella de vinos Merlot, Syrah y Tempranillo (valores, media y desviación estándar).

	Sin contacto con virutas de roble														
	Merlot				Syrah				Tempranillo						
	M0	M3	M6	M9	M12	M0	M3	M6	M9	M12	M0	M3	M6	M9	M12
A <sub>420</sub>	3.02	2.83	3.69	4.02	3.80	2.78	2.90	3.46	3.50	3.55	2.87	3.51	4.28	4.65	4.47
$\bar{x}$	3.06	2.85	3.71	4.01	3.86	2.79	2.89	3.48	3.56	3.51	2.85	3.53	4.26	4.71	4.51
s	3.02	2.86	3.69	4.02	3.79	2.79	2.90	3.47	3.58	3.54	2.87	3.53	4.28	4.63	4.48
A <sub>520</sub>	3.03	2.84	3.70	4.02	3.82	2.79	2.90	3.47	3.55	3.54	2.87	3.52	4.27	4.66	4.48
$\bar{x}$	0.027	0.014	0.015	0.007	0.036	0.004	0.003	0.011	0.041	0.021	0.014	0.008	0.013	0.040	0.019
s	4.13	2.97	3.95	4.00	3.70	4.55	3.10	3.26	3.02	2.93	3.92	3.30	3.37	3.32	3.08
A <sub>620</sub>	4.18	2.98	3.98	3.98	3.74	4.54	3.10	3.17	2.99	2.89	3.90	3.31	3.36	3.36	3.10
$\bar{x}$	4.11	2.98	3.95	3.98	3.69	4.56	3.10	3.27	3.02	2.91	3.91	3.31	3.38	3.40	3.08
s	4.14	2.97	3.96	3.99	3.71	4.55	3.10	3.23	3.01	2.91	3.91	3.31	3.37	3.36	3.09
A <sub>620</sub>	0.037	0.005	0.017	0.008	0.025	0.012	0.001	0.053	0.013	0.018	0.013	0.006	0.010	0.036	0.013
$\bar{x}$	0.797	0.797	1.11	1.21	1.05	0.702	0.745	0.860	0.815	0.815	0.755	0.830	0.944	0.956	0.871
s	0.811	0.802	1.13	1.20	1.07	0.702	0.740	0.862	0.808	0.791	0.747	0.847	0.945	0.970	0.876
Tonalidad	0.795	0.798	1.11	1.21	1.04	0.708	0.745	0.862	0.818	0.796	0.752	0.841	0.943	0.974	0.870
$\bar{x}$	0.801	0.799	1.12	1.21	1.05	0.704	0.743	0.861	0.814	0.801	0.751	0.839	0.944	0.967	0.872
s	0.009	0.003	0.008	0.004	0.015	0.003	0.003	0.001	0.005	0.013	0.004	0.009	0.001	0.009	0.003
Tonalidad	0.731	0.954	0.935	1.01	1.03	0.612	0.935	1.06	1.16	1.21	0.733	1.06	1.27	1.40	1.45
$\bar{x}$	0.732	0.956	0.934	1.01	1.03	0.615	0.934	1.10	1.19	1.22	0.731	1.06	1.27	1.40	1.45
s	0.734	0.960	0.933	1.01	1.03	0.612	0.936	1.06	1.19	1.22	0.734	1.07	1.27	1.36	1.45
Tonalidad	0.732	0.957	0.934	1.01	1.03	0.613	0.935	1.07	1.18	1.22	0.733	1.07	1.27	1.39	1.45
$\bar{x}$	0.001	0.003	0.001	0.001	0.003	0.002	0.001	0.021	0.016	0.001	0.002	0.001	0.001	0.020	0.001
s															

Tabla A.29. (Continuación). Evolución de las absorbancias a 420, 520 y 620 nm (u.a.) y de la tonalidad durante el proceso de estabilización en botella de vinos Merlot, Syrah y Tempranillo (valores, media y desviación estándar).

	Tras contacto con virutas de roble														
	Merlot				Syrah				Tempranillo						
	M0	M3	M6	M9	M12	M0	M3	M6	M9	M12	M0	M3	M6	M9	M12
A <sub>420</sub>	3.04	3.34	3.74	3.87	3.82	2.75	2.68	3.42	3.44	3.47	2.90	3.56	4.27	4.69	4.19
	3.00	3.29	3.77	3.86	3.83	2.75	2.75	3.43	3.44	3.52	2.92	3.54	4.31	4.67	4.22
$\bar{x}$	3.04	3.32	3.76	3.87	3.87	2.76	2.68	3.45	3.54	3.49	2.91	3.54	4.32	4.63	4.21
	3.02	3.32	3.75	3.87	3.84	2.76	2.70	3.43	3.47	3.49	2.91	3.54	4.30	4.66	4.21
s	0.021	0.024	0.017	0.009	0.027	0.006	0.044	0.018	0.057	0.021	0.010	0.010	0.029	0.030	0.020
	3.82	3.68	4.11	4.03	3.91	4.09	2.87	3.16	2.84	2.82	3.68	3.45	3.39	3.36	2.87
A <sub>520</sub>	3.80	3.63	4.14	4.02	3.91	4.09	2.93	3.18	2.83	2.85	3.69	3.43	3.42	3.42	2.89
	3.82	3.65	4.13	4.04	3.94	4.10	2.88	3.20	2.90	2.84	3.67	3.42	3.43	3.40	2.88
$\bar{x}$	3.82	3.66	4.13	4.03	3.92	4.09	2.89	3.18	2.86	2.84	3.68	3.43	3.41	3.39	2.88
	0.012	0.026	0.016	0.009	0.019	0.005	0.029	0.018	0.037	0.017	0.007	0.013	0.020	0.035	0.014
A <sub>620</sub>	0.766	1.01	1.21	1.24	1.14	0.675	0.689	0.822	0.764	0.777	0.720	0.899	0.962	0.960	0.802
	0.759	0.985	1.22	1.23	1.15	0.681	0.725	0.830	0.758	0.789	0.730	0.894	0.965	1.01	0.811
$\bar{x}$	0.765	1.01	1.22	1.24	1.16	0.677	0.691	0.836	0.799	0.789	0.721	0.897	0.964	0.973	0.812
	0.763	0.999	1.22	1.24	1.15	0.678	0.702	0.829	0.774	0.785	0.724	0.897	0.964	0.979	0.808
s	0.004	0.012	0.005	0.005	0.010	0.003	0.020	0.007	0.022	0.007	0.006	0.003	0.002	0.023	0.006
	0.795	0.906	0.909	0.960	0.979	0.672	0.931	1.08	1.21	1.23	0.789	1.03	1.26	1.40	1.46
Tonalidad	0.789	0.906	0.910	0.959	0.978	0.673	0.942	1.08	1.21	1.23	0.792	1.03	1.26	1.36	1.46
	0.794	0.909	0.911	0.959	0.982	0.674	0.931	1.08	1.22	1.23	0.791	1.03	1.26	1.36	1.46
$\bar{x}$	0.793	0.907	0.910	0.959	0.980	0.673	0.935	1.08	1.22	1.23	0.791	1.03	1.26	1.37	1.46
	0.003	0.002	0.001	0.001	0.002	0.001	0.006	0.001	0.004	0.000	0.002	0.001	0.001	0.020	0.001



Tabla A.30. Evolución de las coordenadas CIELAB  $h_{ab}$ ,  $C^*_{ab}$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  y  $L^*$  (unidades CIELAB) durante el proceso de estabilización en botella de vinos Merlot, Syrah y Tempranillo (valores, media y desviación estándar).

	Sin contacto con virutas de roble														
	Merlot				Syrah				Tempranillo						
	M0	M3	M6	M9	M12	M0	M3	M6	M9	M12	M0	M3	M6	M9	M12
$h_{ab}$	33.3	34.4	29.3	27.6	31.0	34.3	34.8	34.4	36.7	37.1	33.6	34.4	33.4	33.8	36.4
	33.1	34.4	29.0	27.7	30.9	34.3	34.8	34.3	36.9	37.5	33.7	34.2	33.4	33.4	36.2
	33.3	34.5	29.3	27.6	31.1	34.2	34.8	34.3	36.7	37.4	33.7	34.3	33.4	33.2	36.4
$\bar{x}$	33.3	34.4	29.2	27.7	31.0	34.3	34.8	34.3	36.8	37.3	33.7	34.3	33.4	33.5	36.3
$s$	0.117	0.067	0.147	0.063	0.121	0.044	0.025	0.018	0.109	0.214	0.054	0.121	0.023	0.272	0.102
$C^*_{ab}$	62.5	60.9	51.6	47.0	54.0	66.4	63.4	59.1	59.7	59.4	64.0	60.7	55.2	53.7	56.8
	61.9	60.7	51.1	47.3	52.9	66.4	63.7	59.0	60.1	60.7	64.4	59.8	55.1	53.2	56.7
	62.6	60.9	51.6	47.2	54.1	66.1	63.5	59.0	59.6	60.5	64.2	60.1	55.3	53.6	57.0
$\bar{x}$	62.3	60.8	51.5	47.2	53.7	66.3	63.5	59.0	59.8	60.2	64.2	60.2	55.2	53.5	56.8
$s$	0.358	0.134	0.293	0.165	0.637	0.163	0.118	0.041	0.245	0.690	0.183	0.487	0.095	0.266	0.120
$a^*$	52.3	50.2	45.0	41.7	46.3	54.9	52.1	48.7	47.9	47.4	53.3	50.1	46.1	44.7	45.7
	51.9	50.1	44.7	41.9	45.6	54.9	52.2	48.7	48.0	48.2	53.6	49.4	46.0	44.4	45.8
	52.3	50.2	45.1	41.9	46.3	54.7	52.1	48.7	47.7	48.1	53.4	49.7	46.2	44.9	45.8
$\bar{x}$	52.1	50.2	44.9	41.8	46.1	54.8	52.2	48.7	47.9	47.9	53.4	49.7	46.1	44.6	45.8
$s$	0.231	0.084	0.192	0.125	0.417	0.109	0.083	0.023	0.133	0.418	0.122	0.331	0.081	0.221	0.051
$b^*$	34.3	34.4	25.2	21.8	27.8	37.4	36.2	33.3	35.7	35.8	35.4	34.3	30.4	29.9	33.7
	33.8	34.3	24.8	22.0	26.9	37.4	36.3	33.3	36.1	36.9	35.7	33.6	30.4	29.3	33.5
	34.4	34.5	25.3	21.9	27.9	37.2	36.2	33.3	35.6	36.7	35.6	33.9	30.5	29.4	33.8
$\bar{x}$	34.2	34.4	25.1	21.9	27.6	37.3	36.3	33.3	35.8	36.5	35.6	33.9	30.4	29.5	33.7
$s$	0.302	0.126	0.258	0.120	0.545	0.132	0.088	0.039	0.236	0.594	0.148	0.380	0.053	0.294	0.149
$L^*$	20.8	21.7	14.9	12.7	16.3	22.8	22.5	19.8	21.1	21.2	21.7	20.4	17.7	17.4	19.7
	20.4	21.5	14.6	12.9	15.8	22.8	22.6	19.7	21.4	21.9	21.9	19.9	17.7	17.1	19.5
	20.8	21.7	14.9	12.8	16.4	22.7	22.5	19.7	21.1	21.7	21.8	20.1	17.8	17.1	19.7
$\bar{x}$	20.7	21.6	14.8	12.8	16.2	22.8	22.5	19.8	21.2	21.6	21.8	20.1	17.8	17.2	19.6
$s$	0.225	0.076	0.157	0.071	0.329	0.086	0.062	0.029	0.149	0.361	0.117	0.229	0.029	0.174	0.090

Tabla A.30. (Continuación). Evolución de las coordenadas CIELAB  $h_{ab}$ ,  $C^*_{ab}$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  y  $L^*$  (unidades CIELAB) durante el proceso de estabilización en botella de vinos Merlot, Syrah y Tempranillo (valores, media y desviación estándar).

	Tras contacto con virutas de roble														
	Merlot				Syrah				Tempranillo						
	M0	M3	M6	M9	M12	M0	M3	M6	M9	M12	M0	M3	M6	M9	M12
$h_{ab}$	34.1	31.2	27.8	27.3	29.5	34.7	35.4	35.3	38.2	37.8	34.4	33.0	33.0	33.6	38.2
	34.2	31.6	27.6	27.4	29.3	34.6	35.2	35.1	38.3	37.5	34.3	33.1	32.9	32.7	37.9
	34.1	31.3	27.7	27.3	29.1	34.7	35.4	35.0	37.6	37.6	34.4	33.1	32.9	33.3	38.0
$\bar{x}$	34.1	31.4	27.7	27.3	29.3	34.7	35.3	35.2	38.0	37.6	34.4	33.0	32.9	33.2	38.0
s	0.032	0.215	0.087	0.091	0.193	0.047	0.144	0.127	0.358	0.139	0.064	0.057	0.045	0.468	0.138
$C^*_{ab}$	63.9	55.3	49.6	47.7	52.6	66.9	65.0	60.7	61.8	61.7	65.6	58.6	55.2	53.2	60.2
	64.1	56.2	49.3	48.0	52.1	66.4	63.3	60.4	62.2	61.2	65.0	58.4	55.2	52.1	59.8
	64.0	55.0	49.5	47.9	51.7	66.8	65.0	60.1	60.0	61.0	65.5	58.9	55.3	53.7	59.7
$\bar{x}$	64.0	55.5	49.5	47.9	52.1	66.7	64.5	60.4	61.3	61.3	65.3	58.6	55.2	53.0	59.9
s	0.136	0.576	0.152	0.182	0.471	0.254	0.988	0.288	1.18	0.384	0.328	0.289	0.032	0.831	0.270
$a^*$	52.9	47.3	43.9	42.4	45.8	55.0	53.0	49.5	48.6	48.8	54.1	49.1	46.3	44.7	47.3
	53.1	47.8	43.7	42.6	45.4	54.6	51.8	49.4	48.8	48.5	53.7	49.2	46.4	43.9	47.2
	52.9	47.1	43.8	42.6	45.2	54.9	53.0	49.2	47.5	48.3	54.0	48.9	46.4	44.9	47.1
$\bar{x}$	53.0	47.4	43.8	42.5	45.5	54.8	52.6	49.4	48.3	48.5	53.9	49.1	46.4	44.5	47.2
s	0.093	0.390	0.100	0.128	0.326	0.178	0.713	0.159	0.694	0.234	0.230	0.150	0.050	0.566	0.133
$b^*$	35.8	28.7	23.2	21.8	26.0	38.1	37.7	35.1	38.2	37.8	37.1	31.9	30.0	29.7	37.2
	36.0	28.4	22.9	22.1	25.5	37.8	36.5	34.8	38.5	37.2	36.6	32.1	30.0	28.1	36.7
	35.9	28.6	23.0	22.0	25.2	38.1	37.7	34.5	36.6	37.2	37.0	31.8	30.0	29.5	36.7
$\bar{x}$	35.9	28.6	23.0	22.0	25.5	38.0	37.3	34.8	37.8	37.4	36.9	31.9	30.0	29.1	36.9
s	0.105	0.127	0.137	0.149	0.383	0.188	0.702	0.274	1.025	0.340	0.245	0.127	0.019	0.845	0.277
$L^*$	21.7	17.1	13.6	12.8	15.2	23.5	24.3	20.9	22.8	22.5	22.7	18.9	17.5	17.3	21.8
	21.9	17.6	13.4	13.0	15.0	23.3	23.2	20.7	23.0	22.1	22.4	19.0	17.5	16.4	21.4
	21.7	17.1	13.5	12.9	14.8	23.4	24.2	20.5	21.8	22.1	22.7	18.9	17.5	17.2	21.5
$\bar{x}$	21.8	17.3	13.5	12.9	15.0	23.4	23.9	20.7	22.5	22.2	22.6	18.9	17.5	16.9	21.6
s	0.097	0.297	0.086	0.089	0.230	0.109	0.601	0.18	0.657	0.218	0.167	0.073	0.018	0.491	0.189

Tabla A.31. Evolución de los parámetros color total de pigmentos y color de pigmentos poliméricos (u.a.) durante el proceso de estabilización en botella de vinos Merlot, Syrah y Tempranillo (valores, media y desviación estándar).

	Sin contacto con virutas de roble														
	Merlot				Syrah				Tempranillo						
	M0	M3	M6	M9	M12	M0	M3	M6	M9	M12	M0	M3	M6	M9	M12
WCA	10.1	5.07	4.92	3.95	3.75	11.8	6.80	4.07	3.40	3.41	9.15	3.66	3.69	3.12	2.75
	11.5	4.91	5.01	4.10	3.95	12.1	6.91	3.93	3.26	3.36	9.51	3.33	3.81	3.04	2.69
	11.7	5.01	4.98	4.03	4.22	12.0	7.43	4.14	3.38	3.59	8.83	3.13	3.74	3.10	2.89
$\bar{x}$	11.1	5.00	4.97	4.03	3.97	12.0	7.05	4.05	3.35	3.45	9.16	3.37	3.75	3.09	2.78
s	0.919	0.081	0.047	0.073	0.238	0.124	0.336	0.104	0.074	0.120	0.340	0.271	0.058	0.043	0.104
PPC	1.04	2.32	2.74	2.76	2.81	0.975	2.08	2.26	2.31	2.43	1.35	2.74	2.61	2.72	2.62
	1.07	2.29	2.60	2.74	2.87	0.979	2.00	2.16	2.31	2.40	1.38	2.34	2.59	2.65	2.67
	1.08	2.20	2.58	2.77	2.84	0.904	2.07	2.18	2.34	2.39	1.49	2.38	2.58	2.68	2.67
$\bar{x}$	1.06	2.27	2.64	2.76	2.84	0.953	2.05	2.20	2.32	2.41	1.41	2.49	2.59	2.68	2.65
s	0.023	0.063	0.092	0.013	0.030	0.042	0.043	0.054	0.015	0.023	0.075	0.223	0.015	0.033	0.025

Tabla A.31. (Continuación). Evolución de los parámetros color total de pigmentos y color de pigmentos poliméricos (u.a.) durante el proceso de estabilización en botella de vinos Merlot, Syrah y Tempranillo (valores, media y desviación estándar).

	Tras contacto con virutas de roble														
	Merlot				Syrah				Tempranillo						
	M0	M3	M6	M9	M12	M0	M3	M6	M9	M12	M0	M3	M6	M9	M12
WCA	9.84	7.61	4.15	3.59	3.44	8.96	6.19	3.50	3.03	3.04	8.75	3.90	3.52	2.57	2.49
$\bar{x}$	9.95	7.56	4.33	3.51	3.61	9.89	6.75	3.57	2.84	3.22	8.22	3.97	3.29	3.03	2.67
s	9.72	7.61	4.42	3.39	3.60	9.39	6.51	3.65	2.99	3.23	9.17	3.76	3.50	2.86	2.49
PPC	9.83	7.59	4.30	3.50	3.55	9.41	6.48	3.57	2.95	3.16	8.71	3.88	3.44	2.82	2.55
$\bar{x}$	0.116	0.027	0.140	0.098	0.095	0.464	0.282	0.075	0.099	0.107	0.476	0.105	0.125	0.231	0.109
s	1.19	2.51	3.06	2.88	3.14	1.24	2.38	2.26	2.30	2.26	1.40	2.19	2.74	2.74	2.63
PPC	1.18	2.53	3.09	3.05	3.13	1.31	2.00	2.23	2.30	2.22	1.56	2.28	2.64	2.76	2.58
$\bar{x}$	1.20	2.63	3.03	3.09	3.10	1.19	1.96	2.30	2.32	2.25	1.62	2.44	2.65	2.73	2.73
s	1.19	2.56	3.06	3.01	3.12	1.25	2.11	2.27	2.30	2.24	1.53	2.30	2.68	2.74	2.65
$\bar{x}$	0.013	0.061	0.031	0.115	0.023	0.060	0.232	0.036	0.012	0.023	0.116	0.127	0.054	0.017	0.080
s															

Tabla A.32. Evolución de taninos totales (g/L) y de la capacidad antioxidante (mmol TE/L) durante el proceso de estabilización en botella de vinos Merlot, Syrah y Tempranillo (valores, media y desviación estándar).

	Sin contacto con virutas de roble														
	Merlot				Syrah				Tempranillo						
	M0	M3	M6	M9	M12	M0	M3	M6	M9	M12	M0	M3	M6	M9	M12
Taninos totales	8.79	13.0	13.3	11.3	8.93	6.26	8.9	13.3	12.2	11.2	9.93	9.23	13.4	10.1	10.1
	8.62	13.4	12.7	11.6	8.62	6.44	8.9	12.8	11.7	10.8	9.91	9.10	13.1	10.1	9.89
	9.03	13.0	12.9	11.7	8.56	6.34	8.8	13.8	11.9	11.6	9.96	9.22	13.2	10.1	10.1
$\bar{x}$	8.81	13.2	12.9	11.5	8.70	6.35	8.9	13.3	12.0	11.2	9.93	9.18	13.3	10.1	10.0
s	0.208	0.196	0.302	0.184	0.200	0.093	0.040	0.519	0.237	0.375	0.028	0.077	0.169	0.018	0.117
Actividad antioxidante	5.86	5.62	5.41	5.59	6.22	4.17	4.39	5.24	4.23	3.35	6.04	6.30	6.40	5.73	5.96
	5.92	5.64	5.42	5.60	6.18	4.17	4.64	5.32	4.48	3.46	6.16	6.38	6.48	5.87	6.09
	5.96	5.71	5.44	5.61	6.27	4.13	4.59	5.24	4.51	4.53	6.06	6.37	6.49	5.97	6.22
$\bar{x}$	5.91	5.66	5.42	5.60	6.23	4.16	4.54	5.26	4.41	3.78	6.09	6.35	6.46	5.86	6.09
s	0.049	0.048	0.014	0.012	0.044	0.020	0.130	0.045	0.156	0.653	0.061	0.042	0.049	0.119	0.131

Tabla A.32. (Continuación). Evolución de taninos totales (g/L) y de la capacidad antioxidante (mmol TE/L) durante el proceso de estabilización en botella de vinos Merlot, Syrah y Tempranillo (valores, media y desviación estándar).

	Tras contacto con virutas de roble														
	Merlot				Syrah				Tempranillo						
	M0	M3	M6	M9	M12	M0	M3	M6	M9	M12	M0	M3	M6	M9	M12
Taninos totales	9.43	9.54	12.6	10.9	9.16	8.62	8.89	12.8	12.1	10.2	9.87	9.54	13.1	9.48	10.3
	9.31	9.44	12.7	10.6	9.16	8.15	8.97	12.9	12.1	10.5	9.90	9.53	12.8	9.71	10.0
	9.26	9.51	12.2	10.6	9.01	8.28	8.89	12.8	12.2	10.2	10.1	9.42	13.2	9.63	10.0
$\bar{x}$	9.34	9.50	12.5	10.7	9.11	8.35	8.92	12.8	12.1	10.3	9.95	9.50	13.0	9.60	10.1
s	0.087	0.053	0.230	0.172	0.085	0.244	0.041	0.096	0.091	0.155	0.111	0.069	0.246	0.118	0.147
Actividad antioxidante	5.71	6.32	5.19	5.62	6.13	4.52	4.69	4.91	4.07	4.30	6.35	6.58	6.15	5.67	5.77
	5.61	6.32	5.30	5.77	6.23	4.59	5.08	4.87	4.58	4.41	6.42	6.62	6.22	5.63	5.75
	5.74	6.40	5.14	5.46	6.23	4.63	4.99	4.94	4.49	4.43	6.45	6.56	6.23	5.68	6.01
$\bar{x}$	5.69	6.35	5.21	5.62	6.20	4.58	4.92	4.91	4.38	4.38	6.41	6.59	6.20	5.66	5.84
s	0.068	0.048	0.082	0.151	0.058	0.059	0.203	0.031	0.270	0.067	0.054	0.028	0.044	0.029	0.145

Tabla A.33. Evolución de antocianos glucosilados (mg/L) durante el proceso de estabilización en botella de vinos Merlot, Syrah y Tempranillo (valores, media y desviación estándar).

	Sin contacto con virutas de roble											
	Merlot				Syrah				Tempranillo			
	M0	M3	M6	M12	M0	M3	M6	M12	M0	M3	M6	M12
Delfinidín-3-O-glucósido	5.00	3.37	2.58	nd	5.59	2.33	2.14	nd	7.40	2.45	0.961	nd
	4.94	3.51	2.68	nd	5.59	2.41	2.14	nd	7.12	2.46	0.891	nd
$\bar{x}$	4.91	3.68	2.63	nd	5.40	2.37	2.10	nd	6.99	2.59	1.09	nd
$s$	4.95	3.52	2.63	nd	5.53	2.37	2.13	nd	7.17	2.50	0.981	nd
Cianidín-3-O-glucósido	0.046	0.155	0.050	nd	0.110	0.040	0.023	nd	0.210	0.078	0.101	nd
	5.23	3.68	2.93	nd	6.64	2.52	2.35	nd	5.44	2.20	1.24	nd
$\bar{x}$	5.22	4.01	3.06	nd	6.55	2.63	2.44	nd	5.54	2.23	1.11	nd
$s$	5.24	4.22	2.98	nd	6.43	2.53	2.26	nd	5.52	2.20	1.19	nd
Petunidín-3-O-glucósido	8.10	5.59	3.11	1.61	9.57	3.04	2.68	1.22	11.9	3.03	2.07	nd
	8.32	5.33	3.48	1.85	9.40	3.03	2.81	1.41	11.7	3.09	1.68	nd
$\bar{x}$	7.98	5.77	3.32	1.62	9.28	2.99	2.86	1.51	11.6	3.10	2.27	nd
$s$	8.13	5.56	3.30	1.69	9.42	3.02	2.78	1.38	11.7	3.07	2.01	nd
Peonidín-3-O-glucósido	0.172	0.221	0.186	0.136	0.146	0.026	0.093	0.147	0.153	0.038	0.300	nd
	24.1	12.6	5.33	2.73	40.1	7.95	4.18	2.44	12.0	2.87	2.00	nd
$\bar{x}$	23.9	11.2	5.43	3.11	38.8	7.41	4.34	2.91	12.1	2.81	2.12	nd
$s$	23.7	8.3	5.52	2.44	38.0	5.64	3.92	2.35	11.6	2.78	2.29	nd
Malvidín-3-O-glucósido	23.9	10.7	5.43	2.76	39.0	7.00	4.15	2.57	11.9	2.82	2.14	nd
	0.200	2.20	0.095	0.336	1.060	1.21	0.212	0.301	0.265	0.05	0.146	nd
$\bar{x}$	81.2	29.8	11.1	5.88	80.9	15.2	6.62	3.41	77.6	10.0	5.08	2.88
$s$	78.9	29.1	11.6	5.14	77.0	15.7	6.62	3.38	76.3	11.4	5.67	3.25
$\bar{x}$	81.9	29.0	11.7	5.18	75.9	15.6	6.05	3.44	73.1	11.9	5.74	3.36
	80.7	29.3	11.5	5.40	77.9	15.5	6.43	3.41	75.7	11.1	5.50	3.16
$s$	1.57	0.436	0.321	0.416	2.63	0.265	0.329	0.030	2.32	1.01	0.363	0.251
				0.174				0.146				0.129

Tabla A.33. (Continuación). Evolución de antocianos glucosilados (mg/L) durante el proceso de estabilización en botella de vinos Merlot, Syrah y Tempranillo (valores, media y desviación estándar).

	Tras contacto con virutas de roble														
	Merlot				Syrah				Tempranillo						
	M0	M3	M6	M9	M12	M0	M3	M6	M9	M12	M0	M3	M6	M9	M12
Delfidín-3-O-glucósido	4.70	2.91	2.15	nd	nd	5.23	2.29	nd	nd	nd	6.78	2.42	1.13	nd	nd
$\bar{x}$	4.74	2.64	2.18	nd	nd	5.09	2.31	nd	nd	nd	6.55	2.46	0.91	nd	nd
s	4.76	2.70	2.16	nd	nd	5.32	2.22	nd	nd	nd	6.51	2.50	0.94	nd	nd
	4.73	2.75	2.16	nd	nd	5.21	2.27	nd	nd	nd	6.61	2.46	0.99	nd	nd
	0.031	0.142	0.015	nd	nd	0.116	0.047	nd	nd	nd	0.146	0.040	0.119	nd	nd
Cianidín-3-O-glucósido	4.85	2.92	2.28	nd	nd	6.04	2.56	2.13	nd	nd	5.23	2.20	nd	nd	nd
$\bar{x}$	4.80	2.84	2.30	nd	nd	5.92	2.36	2.20	nd	nd	5.11	2.15	nd	nd	nd
s	4.86	3.14	2.29	nd	nd	5.99	2.32	2.18	nd	nd	5.11	2.26	nd	nd	nd
	4.84	2.97	2.29	nd	nd	5.98	2.41	2.17	nd	nd	5.15	2.20	nd	nd	nd
	0.032	0.155	0.010	nd	nd	0.060	0.129	0.036	nd	nd	0.069	0.055	nd	nd	nd
Petunidín-3-O-glucósido	6.88	3.92	2.74	nd	nd	8.12	2.73	2.43	nd	nd	10.8	2.95	2.11	nd	nd
$\bar{x}$	6.96	4.39	2.88	nd	nd	8.24	2.71	2.26	nd	nd	10.5	2.95	1.79	nd	nd
s	6.93	3.96	2.80	nd	nd	8.21	2.66	2.49	nd	nd	10.2	3.04	1.69	nd	nd
	6.92	4.09	2.81	nd	nd	8.19	2.70	2.39	nd	nd	10.5	2.98	1.86	nd	nd
	0.040	0.261	0.070	nd	nd	0.062	0.036	0.119	nd	nd	0.300	0.052	0.219	nd	nd
Peonidín-3-O-glucósido	16.6	8.29	3.88	2.04	1.80	30.1	5.64	3.40	2.38	1.64	10.7	2.78	1.84	nd	nd
$\bar{x}$	16.4	7.30	4.18	1.97	1.48	30.3	5.34	3.11	2.38	1.55	10.4	2.73	2.01	nd	nd
s	16.4	7.56	4.02	1.83	1.43	30.3	4.89	3.29	3.04	1.51	10.5	2.84	1.97	nd	nd
	16.5	7.72	4.03	1.95	1.57	30.2	5.29	3.27	2.60	1.57	10.5	2.78	1.94	nd	nd
	0.115	0.513	0.150	0.107	0.201	0.115	0.377	0.146	0.381	0.067	0.153	0.055	0.089	nd	nd
Malvidín-3-O-glucósido	55.7	14.5	6.73	4.27	3.00	56.3	11.1	4.71	2.83	2.60	66.3	10.4	4.32	2.27	2.56
$\bar{x}$	55.5	14.1	6.79	3.96	3.20	57.2	10.4	4.25	3.23	2.33	63.6	10.5	4.17	2.90	2.56
s	56.2	13.8	6.75	4.05	2.49	57.8	9.67	4.58	3.12	2.41	63.1	10.9	4.30	2.78	2.59
	55.8	14.1	6.76	4.09	2.90	57.1	10.4	4.51	3.06	2.45	64.3	10.6	4.26	2.65	2.57
	0.361	0.351	0.031	0.159	0.366	0.755	0.715	0.237	0.207	0.139	1.72	0.265	0.081	0.335	0.017



Tabla A.34. Evolución de antocianos acetilglucosilados (mg/L) durante el proceso de estabilización en botella de vinos Merlot, Syrah y Tempranillo (valores, media y desviación estándar).

	Sin contacto con virutas de roble														
	Merlot				Syrah				Tempranillo						
	M0	M3	M6	M9	M12	M0	M3	M6	M9	M12	M0	M3	M6	M9	M12
Delfinidín-3-O-acetilglucósido	nd	nd	nd	nd	nd	5.43	nd	nd	nd	nd	6.35	nd	nd	nd	nd
	nd	nd	nd	nd	nd	5.59	nd	nd	nd	nd	6.72	nd	nd	nd	nd
$\bar{x}$	nd	nd	nd	nd	nd	5.56	nd	nd	nd	nd	6.37	nd	nd	nd	nd
	nd	nd	nd	nd	nd	0.085	nd	nd	nd	nd	0.340	nd	nd	nd	nd
Cianidín-3-O-acetilglucósido	4.54	nd	nd	nd	nd	5.15	nd	nd	nd	nd	4.84	nd	nd	nd	nd
	4.74	nd	nd	nd	nd	4.83	nd	nd	nd	nd	4.92	nd	nd	nd	nd
$\bar{x}$	4.55	nd	nd	nd	nd	4.92	nd	nd	nd	nd	4.57	nd	nd	nd	nd
	4.61	nd	nd	nd	nd	4.97	nd	nd	nd	nd	4.78	nd	nd	nd	nd
s	0.113	nd	nd	nd	nd	0.165	nd	nd	nd	nd	0.183	nd	nd	nd	nd
	5.60	nd	nd	nd	nd	6.34	3.35	nd	nd	nd	5.74	nd	nd	nd	nd
Petunidín-3-O-acetilglucósido	5.71	nd	nd	nd	nd	6.03	3.43	nd	nd	nd	5.34	nd	nd	nd	nd
	5.49	nd	nd	nd	nd	6.05	3.25	nd	nd	nd	5.33	nd	nd	nd	nd
$\bar{x}$	5.60	nd	nd	nd	nd	6.14	3.34	nd	nd	nd	5.47	nd	nd	nd	nd
	0.110	nd	nd	nd	nd	0.173	0.090	nd	nd	nd	0.234	nd	nd	nd	nd
s	8.25	4.99	3.78	2.89	2.63	13.70	5.61	3.43	nd	nd	6.28	nd	nd	nd	nd
	7.44	5.26	4.21	2.67	2.71	13.00	5.45	3.29	nd	nd	6.11	nd	nd	nd	nd
Peonidín-3-O-acetilglucósido	8.16	4.11	4.05	3.00	2.58	13.10	4.88	3.13	nd	nd	6.07	nd	nd	nd	nd
	7.95	4.79	4.01	2.85	2.64	13.27	5.31	3.28	nd	nd	6.15	nd	nd	nd	nd
$\bar{x}$	0.444	0.601	0.217	0.168	0.066	0.379	0.384	0.150	nd	nd	0.112	nd	nd	nd	nd
	24.4	7.19	5.30	3.46	2.26	29.0	6.85	4.59	2.75	2.29	9.57	3.26	2.32	1.61	nd
s	23.9	6.82	5.76	2.45	1.95	27.8	7.02	4.17	2.70	3.04	9.73	3.65	2.64	2.08	nd
	24.3	6.99	5.61	2.66	2.49	28.1	6.83	3.92	2.69	2.65	9.56	3.80	3.02	1.85	nd
Malvidín-3-O-acetilglucósido	24.2	7.00	5.56	2.86	2.23	28.3	6.90	4.23	2.71	2.66	9.62	3.57	2.66	1.85	nd
	0.265	0.185	0.235	0.533	0.271	0.624	0.104	0.339	0.032	0.375	0.095	0.279	0.350	0.235	nd

Tabla A.34. (Continuación). Evolución de antocianos acetilglucosilados (mg/L) durante el proceso de estabilización en botella de vinos Merlot, Syrah y Tempranillo (valores, media y desviación estándar).

	Tras contacto con virutas de roble														
	Merlot				Syrah				Tempranillo						
	M0	M3	M6	M9	M12	M0	M3	M6	M9	M12	M0	M3	M6	M9	M12
Delfinidín-3-O-acetilglucósido	nd	nd	nd	nd	nd	5.29	nd	nd	nd	nd	6.31	nd	nd	nd	nd
	nd	nd	nd	nd	nd	5.43	nd	nd	nd	nd	6.13	nd	nd	nd	nd
$\bar{x}$	nd	nd	nd	nd	nd	5.69	nd	nd	nd	nd	6.33	nd	nd	nd	nd
	nd	nd	nd	nd	nd	5.47	nd	nd	nd	nd	6.26	nd	nd	nd	nd
s	nd	nd	nd	nd	nd	0.203	nd	nd	nd	nd	0.110	nd	nd	nd	nd
	4.79	nd	nd	nd	nd	4.75	nd	nd	nd	nd	4.68	nd	nd	nd	nd
Cianidín-3-O-acetilglucósido	4.70	nd	nd	nd	nd	4.84	nd	nd	nd	nd	4.65	nd	nd	nd	nd
	4.80	nd	nd	nd	nd	4.83	nd	nd	nd	nd	4.88	nd	nd	nd	nd
$\bar{x}$	4.76	nd	nd	nd	nd	4.81	nd	nd	nd	nd	4.74	nd	nd	nd	nd
	0.055	nd	nd	nd	nd	0.049	nd	nd	nd	nd	0.125	nd	nd	nd	nd
Petunidín-3-O-acetilglucósido	5.17	nd	nd	nd	nd	6.00	4.14	nd	nd	nd	5.23	nd	nd	nd	nd
	5.07	nd	nd	nd	nd	6.14	4.33	nd	nd	nd	4.80	nd	nd	nd	nd
$\bar{x}$	5.19	nd	nd	nd	nd	6.09	4.24	nd	nd	nd	5.09	nd	nd	nd	nd
	5.14	nd	nd	nd	nd	6.08	4.24	nd	nd	nd	5.04	nd	nd	nd	nd
s	0.064	nd	nd	nd	nd	0.071	0.095	nd	nd	nd	0.219	nd	nd	nd	nd
	7.16	4.11	4.46	nd	nd	11.3	4.88	2.61	nd	nd	5.82	nd	nd	nd	nd
Peonidín-3-O-acetilglucósido	7.03	4.26	4.60	nd	nd	11.5	4.69	3.06	nd	nd	5.40	nd	nd	nd	nd
	6.90	4.19	3.86	nd	nd	11.7	4.68	3.01	nd	nd	5.64	nd	nd	nd	nd
$\bar{x}$	7.03	4.19	4.31	nd	nd	11.5	4.75	2.89	nd	nd	5.62	nd	nd	nd	nd
	0.130	0.075	0.393	nd	nd	0.200	0.113	0.247	nd	nd	0.211	nd	nd	nd	nd
Malvidín-3-O-acetilglucósido	18.2	4.74	5.78	2.97	2.68	22.9	5.35	2.94	2.63	2.89	8.54	4.20	2.11	1.53	nd
	18.1	5.00	5.31	3.09	3.80	23.1	5.15	3.46	3.09	2.10	8.43	4.14	2.73	2.02	nd
$\bar{x}$	18.2	5.07	5.23	3.33	3.90	23.6	5.13	3.40	2.85	2.59	8.50	4.13	2.60	1.86	nd
	18.2	4.94	5.44	3.13	3.46	23.2	5.21	3.27	2.86	2.53	8.49	4.16	2.48	1.80	nd
s	0.058	0.174	0.297	0.183	0.677	0.361	0.122	0.284	0.230	0.399	0.056	0.038	0.327	0.250	nd

Tabla A.35. Evolución de antocianos cumaril y cafeoilglucosilados (mg/L) durante el proceso de estabilización en botella de vinos Merlot, Syrah y Tempranillo (valores, media y desviación estándar).

	Sin contacto con virutas de roble														
	Merlot				Syrah				Tempranillo						
	M0	M3	M6	M9	M12	M0	M3	M6	M9	M12	M0	M3	M6	M9	M12
Cianidín-3-O-cumarilglucósido	4.48	nd	nd	nd	nd	5.15	nd	nd	nd	nd	4.29	nd	nd	nd	nd
	4.37	nd	nd	nd	nd	5.33	nd	nd	nd	nd	4.25	nd	nd	nd	nd
$\bar{x}$	4.28	nd	nd	nd	nd	5.12	nd	nd	nd	nd	4.26	nd	nd	nd	nd
	0.100	nd	nd	nd	nd	0.114	nd	nd	nd	nd	0.021	nd	nd	nd	nd
Petunidín-3-O-cumarilglucósido	4.51	nd	nd	nd	nd	4.99	nd	nd	nd	nd	5.84	nd	nd	nd	nd
	4.35	nd	nd	nd	nd	5.08	nd	nd	nd	nd	5.79	nd	nd	nd	nd
$\bar{x}$	4.54	nd	nd	nd	nd	4.88	nd	nd	nd	nd	6.12	nd	nd	nd	nd
	0.102	nd	nd	nd	nd	4.98	nd	nd	nd	nd	5.92	nd	nd	nd	nd
Peonidín-3-O-cumarilglucósido	5.07	nd	nd	nd	nd	7.31	2.97	2.39	nd	nd	4.80	nd	nd	nd	nd
	5.47	nd	nd	nd	nd	7.22	2.91	2.25	nd	nd	4.93	nd	nd	nd	nd
$\bar{x}$	4.93	nd	nd	nd	nd	7.14	2.92	2.54	nd	nd	5.06	nd	nd	nd	nd
	0.280	nd	nd	nd	nd	7.22	2.93	2.39	nd	nd	4.93	nd	nd	nd	nd
Malvidín-3-O-cumarilglucósido	7.05	2.14	2.33	1.18	1.30	11.3	3.40	2.45	1.13	1.24	12.2	3.23	1.23	1.02	0.99
	7.37	2.17	2.37	1.11	1.34	10.7	3.57	2.53	1.11	1.35	12.4	3.21	1.44	1.12	1.20
$\bar{x}$	7.05	2.33	2.35	1.13	1.31	10.6	2.93	2.53	1.15	1.31	12.1	3.17	1.50	1.07	1.06
	0.185	0.102	0.020	0.036	0.021	0.379	0.332	0.046	0.020	0.056	0.153	0.031	0.142	0.050	0.106
Malvidín-3-O-cafeoilglucósido	6.26	nd	nd	nd	nd	7.18	nd	nd	nd	nd	8.03	2.89	nd	nd	nd
	6.20	nd	nd	nd	nd	7.33	nd	nd	nd	nd	8.27	2.60	nd	nd	nd
$\bar{x}$	6.23	nd	nd	nd	nd	6.99	nd	nd	nd	nd	8.31	2.72	nd	nd	nd
	0.030	nd	nd	nd	nd	7.17	nd	nd	nd	nd	8.20	2.74	nd	nd	nd
s						0.170	nd	nd	nd	nd	0.151	0.146	nd	nd	nd

Tabla A.35. (Continuación). Evolución de antocianos cumaril y cafeoilglucosilados (mg/L) durante el proceso de estabilización en botella de vinos Merlot, Syrah y Tempranillo (valores, media y desviación estándar).

	Tras contacto con virutas de roble														
	Merlot				Syrah				Tempranillo						
	M0	M3	M6	M9	M12	M0	M3	M6	M9	M12	M0	M3	M6	M9	M12
Cianidín-3-O-cumarilglucósido	4.26	nd	nd	nd	nd	5.44	nd	nd	nd	nd	4.43	nd	nd	nd	nd
	4.19	nd	nd	nd	nd	5.44	nd	nd	nd	nd	4.39	nd	nd	nd	nd
$\bar{x}$	4.30	nd	nd	nd	nd	5.57	nd	nd	nd	nd	4.46	nd	nd	nd	nd
	4.25	nd	nd	nd	nd	5.48	nd	nd	nd	nd	4.43	nd	nd	nd	nd
s	0.056	nd	nd	nd	nd	0.075	nd	nd	nd	nd	0.035	nd	nd	nd	nd
	4.28	nd	nd	nd	nd	4.68	nd	nd	nd	nd	5.35	nd	nd	nd	nd
Petunidín-3-O-cumarilglucósido	4.12	nd	nd	nd	nd	4.44	nd	nd	nd	nd	5.36	nd	nd	nd	nd
	4.29	nd	nd	nd	nd	4.72	nd	nd	nd	nd	5.28	nd	nd	nd	nd
$\bar{x}$	4.23	nd	nd	nd	nd	4.61	nd	nd	nd	nd	5.33	nd	nd	nd	nd
	0.095	nd	nd	nd	nd	0.151	nd	nd	nd	nd	0.044	nd	nd	nd	nd
Peonidín-3-O-cumarilglucósido	4.63	nd	nd	nd	nd	6.52	2.70	nd	nd	nd	4.64	nd	nd	nd	nd
	4.54	nd	nd	nd	nd	6.30	2.56	nd	nd	nd	4.63	nd	nd	nd	nd
$\bar{x}$	4.63	nd	nd	nd	nd	6.45	2.63	nd	nd	nd	4.57	nd	nd	nd	nd
	4.60	nd	nd	nd	nd	6.42	2.63	nd	nd	nd	4.61	nd	nd	nd	nd
s	0.052	nd	nd	nd	nd	0.112	0.070	nd	nd	nd	0.038	nd	nd	nd	nd
	5.88	2.33	2.47	1.11	1.53	9.58	2.93	2.43	1.08	1.18	10.3	3.17	1.28	1.06	1.13
Malvidín-3-O-cumarilglucósido	5.75	2.37	2.53	1.13	1.59	8.91	2.97	2.38	1.12	1.49	10.3	3.10	1.50	1.06	1.05
	5.90	2.22	2.54	1.11	1.53	9.18	2.98	2.32	1.03	1.58	10.2	3.15	1.35	1.07	1.10
$\bar{x}$	5.84	2.31	2.51	1.12	1.55	9.22	2.96	2.38	1.08	1.42	10.3	3.14	1.38	1.06	1.09
	0.081	0.078	0.038	0.012	0.035	0.337	0.026	0.055	0.045	0.210	0.058	0.036	0.112	0.006	0.040
Malvidín-3-O-cafeoilglucósido	5.40	nd	nd	nd	nd	6.12	nd	nd	nd	nd	7.06	2.41	nd	nd	nd
	5.39	nd	nd	nd	nd	6.17	nd	nd	nd	nd	7.09	2.42	nd	nd	nd
$\bar{x}$	5.50	nd	nd	nd	nd	6.40	nd	nd	nd	nd	7.09	2.42	nd	nd	nd
	5.43	nd	nd	nd	nd	6.23	nd	nd	nd	nd	7.08	2.42	nd	nd	nd
s	0.061	nd	nd	nd	nd	0.149	nd	nd	nd	nd	0.017	0.006	nd	nd	nd

Tabla A.36. Evolución de piranoantocianos tipo vitisina (mg/L) durante el proceso de estabilización en botella de vinos Merlot, Syrah y Tempranillo (valores, media y desviación estándar).

	Sin contacto con virutas de roble														
	Merlot				Syrah				Tempranillo						
	M0	M3	M6	M9	M12	M0	M3	M6	M9	M12	M0	M3	M6	M9	M12
Vitisina tipo A	1.09	7.49	5.06	5.15	4.32	nd	1.39	2.43	2.89	3.26	2.79	3.32	5.76	3.92	3.23
malvidín-3-O-acetilglucósido	1.22	7.83	4.90	4.23	4.49	nd	1.40	2.56	3.16	2.87	3.21	3.27	5.62	3.60	3.43
$\bar{x}$	1.28	7.77	5.13	4.91	4.56	nd	1.38	2.16	3.11	2.78	2.44	3.45	5.01	4.54	3.10
s	1.20	7.70	5.03	4.76	4.46	nd	1.39	2.38	3.05	2.97	2.81	3.35	5.46	4.02	3.25
	0.097	0.181	0.118	0.477	0.123	nd	0.010	0.204	0.144	0.255	0.386	0.093	0.399	0.478	0.166
Vitisina tipo A	nd	4.10	2.09	1.99	1.52	nd	0.767	2.29	1.85	1.70	nd	nd	1.44	1.00	1.43
peonidín-3-O-acetilglucósido	nd	3.79	2.54	1.96	1.58	nd	0.721	2.25	2.03	1.51	nd	nd	1.69	1.19	1.28
$\bar{x}$	nd	3.93	2.31	1.90	1.47	nd	0.743	2.14	2.08	1.60	nd	nd	1.57	1.24	1.31
s	nd	3.94	2.31	1.95	1.52	nd	0.744	2.23	1.99	1.60	nd	nd	1.57	1.14	1.34
	nd	0.155	0.225	0.046	0.055	nd	0.023	0.078	0.121	0.095	nd	nd	0.125	0.127	0.079
Vitisina tipo B	nd	4.23	3.15	1.92	1.44	0.328	0.892	1.54	2.21	1.91	0.923	0.966	2.54	1.66	1.21
malvidín-3-O-glucósido	nd	3.55	3.36	1.70	2.00	0.298	1.02	1.55	1.79	1.99	0.833	1.00	2.77	1.66	1.10
$\bar{x}$	nd	4.00	3.51	1.72	1.93	0.261	0.966	1.43	1.94	1.64	0.781	1.15	2.31	2.12	1.01
s	nd	3.93	3.34	1.78	1.79	0.296	0.959	1.51	1.98	1.85	0.846	1.04	2.54	1.81	1.11
	nd	0.346	0.181	0.122	0.305	0.034	0.064	0.067	0.213	0.183	0.072	0.098	0.230	0.266	0.100
Vitisina tipo B	nd	2.44	2.29	nd	nd	nd	nd	nd	1.54	1.51	nd	nd	nd	nd	nd
peonidín-3-O-glucósido	nd	2.16	2.24	nd	nd	nd	nd	nd	1.73	1.42	nd	nd	nd	nd	nd
$\bar{x}$	nd	2.31	2.23	nd	nd	nd	nd	nd	1.44	1.36	nd	nd	nd	nd	nd
s	nd	2.30	2.25	nd	nd	nd	nd	nd	1.57	1.43	nd	nd	nd	nd	nd
	nd	0.140	0.032	nd	nd	nd	nd	nd	0.147	0.075	nd	nd	nd	nd	nd
Vitisina tipo B	nd	5.07	3.49	3.50	2.47	1.30	1.63	2.39	1.53	2.18	nd	1.34	2.60	0.961	1.25
peonidín-3-O-acetilglucósido	nd	4.36	3.82	2.67	2.89	1.27	1.78	2.49	1.85	1.54	nd	1.20	3.46	0.994	1.36
$\bar{x}$	nd	4.69	3.80	2.85	2.88	1.09	1.80	1.90	1.70	1.92	nd	1.44	3.01	0.944	1.09
s	nd	4.71	3.70	3.01	2.75	1.22	1.74	2.26	1.69	1.88	nd	1.33	3.02	0.966	1.23
	nd	0.355	0.185	0.437	0.240	0.114	0.093	0.316	0.160	0.322	nd	0.121	0.430	0.025	0.136

Tabla A.36. (Continuación). Evolución de piranoantocianos tipo vitisina (mg/L) durante el proceso de estabilización en botella de vinos Merlot, Syrah y Tempranillo (valores, media y desviación estándar).

	Tras contacto con virutas de roble														
	Merlot				Syrah				Tempranillo						
	M0	M3	M6	M9	M12	M0	M3	M6	M9	M12	M0	M3	M6	M9	M12
Vitisina tipo A	1.30	6.83	2.07	4.36	4.04	nd	1.27	1.85	2.64	2.90	2.74	3.05	4.27	3.15	3.16
malvidín-3-O-acetilglucósido	1.08	7.35	2.47	4.15	4.20	nd	1.31	1.78	2.61	2.81	2.54	3.19	4.74	3.55	3.16
$\bar{x}$	1.16	6.97	2.23	4.19	3.36	nd	1.28	1.59	2.80	2.72	2.78	3.02	4.10	3.40	3.50
s	1.18	7.05	2.26	4.23	3.87	nd	1.29	1.74	2.68	2.81	2.69	3.09	4.37	3.37	3.27
	0.111	0.269	0.201	0.112	0.446	nd	0.021	0.135	0.102	0.090	0.129	0.091	0.332	0.202	0.196
Vitisina tipo A	nd	2.57	1.76	1.71	1.41	nd	0.696	1.39	1.60	1.46	nd	nd	1.22	1.08	1.02
peonidín-3-O-acetilglucósido	nd	2.89	2.09	1.75	1.23	nd	0.619	1.43	1.74	1.45	nd	nd	1.41	1.10	1.02
$\bar{x}$	nd	2.57	1.90	1.84	1.21	nd	0.629	1.42	1.88	1.49	nd	nd	1.30	0.966	1.04
s	nd	2.68	1.92	1.77	1.28	nd	0.648	1.41	1.74	1.47	nd	nd	1.31	1.05	1.03
	nd	0.185	0.166	0.067	0.110	nd	0.042	0.021	0.140	0.021	nd	nd	0.095	0.072	0.012
Vitisina tipo B	1.41	5.01	2.60	1.84	3.74	0.510	0.508	1.23	1.82	1.54	0.59	1.28	2.17	2.02	1.69
malvidín-3-O-glucósido	1.63	5.49	2.87	2.08	3.18	0.490	0.646	1.24	1.52	1.30	0.68	1.22	2.38	2.39	1.69
$\bar{x}$	1.46	5.02	2.71	2.19	2.95	0.590	0.452	1.26	1.68	1.51	0.60	1.21	2.25	2.14	1.41
s	1.50	5.17	2.73	2.04	3.29	0.530	0.535	1.24	1.67	1.45	0.62	1.24	2.27	2.18	1.60
	0.115	0.274	0.136	0.179	0.406	0.053	0.100	0.015	0.150	0.131	0.046	0.038	0.106	0.189	0.162
Vitisina tipo B	nd	2.31	2.10	nd	nd	nd	nd	nd	nd	1.10	nd	nd	nd	nd	nd
peonidín-3-O-glucósido	nd	2.17	2.12	nd	nd	nd	nd	nd	nd	1.08	nd	nd	nd	nd	nd
$\bar{x}$	nd	2.36	2.10	nd	nd	nd	nd	nd	nd	1.17	nd	nd	nd	nd	nd
s	nd	2.28	2.11	nd	nd	nd	nd	nd	nd	1.12	nd	nd	nd	nd	nd
	nd	0.098	0.012	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0.047	nd	nd	nd	nd	nd
Vitisina tipo B	nd	5.35	3.62	3.73	3.02	0.814	1.47	1.58	1.85	1.78	nd	1.61	2.18	2.16	1.88
peonidín-3-O-acetilglucósido	nd	5.63	3.88	3.24	2.95	0.829	1.57	1.25	1.78	1.91	nd	1.71	2.46	2.10	1.88
$\bar{x}$	nd	5.70	3.23	3.19	2.70	0.931	1.53	1.66	1.69	1.65	nd	1.69	1.87	1.99	1.37
s	nd	5.56	3.58	3.39	2.89	0.858	1.52	1.50	1.77	1.78	nd	1.67	2.17	2.08	1.71
	nd	0.185	0.327	0.298	0.168	0.064	0.050	0.217	0.080	0.130	nd	0.053	0.295	0.089	0.294

Tabla A.37. Evolución de derivados antocianícos de fórmula antociano-metilmelileno-flavanol (mg/L) durante el proceso de estabilización en botella de vinos Merlot, Syrah y Tempranillo (valores, media y desviación estándar).

	Sin contacto con virutas de roble														
	Merlot				Syrah				Tempranillo						
	M0	M3	M6	M9	M12	M0	M3	M6	M9	M12	M0	M3	M6	M9	M12
Malvidín-3-O-glc-metilmelileno-(epi)catequina	0.915	4.25	4.81	4.33	4.09	0.809	1.76	4.37	3.37	2.53	0.624	1.38	4.06	2.63	1.99
$\bar{x}$	0.869	4.26	5.17	3.76	4.06	0.752	1.64	3.97	3.66	2.58	0.688	1.44	4.92	2.80	2.18
s	0.077	0.061	0.242	0.408	0.079	0.032	0.151	0.228	0.310	0.258	0.034	0.097	0.430	0.185	0.095
Malvidín-3-O-glc-metilmelileno-(epi)catequina	0.625	5.24	2.73	3.46	2.75	0.740	1.86	2.12	2.26	2.51	0.678	2.02	2.10	2.18	2.25
$\bar{x}$	0.730	5.45	2.56	2.98	2.68	0.811	1.76	2.06	2.17	2.74	0.667	2.32	2.52	2.59	1.61
s	0.834	5.32	2.69	2.64	2.46	0.814	1.67	1.74	2.38	2.52	0.698	2.28	2.06	2.50	1.89
Malvidín-3-O-glc-metilmelileno-(epi)catequina	0.730	5.34	2.66	3.03	2.63	0.788	1.76	1.97	2.27	2.59	0.681	2.21	2.23	2.42	1.92
$\bar{x}$	0.105	0.106	0.089	0.412	0.151	0.042	0.095	0.204	0.105	0.130	0.016	0.163	0.255	0.215	0.321
s	0.457	1.28	1.19	1.98	1.91	0.547	0.639	1.46	1.57	1.62	0.605	2.040	1.88	1.62	1.43
Malvidín-3-O-glc-metilmelileno-(epi)catequina	0.387	1.34	1.30	1.67	1.99	0.510	0.703	1.39	1.83	1.79	0.611	1.860	2.01	1.59	1.70
$\bar{x}$	0.454	1.50	1.22	1.64	1.76	0.523	0.673	1.16	1.60	1.43	0.742	1.900	2.08	1.94	1.63
s	0.433	1.37	1.24	1.76	1.89	0.527	0.672	1.34	1.67	1.61	0.653	1.933	1.99	1.72	1.59
Peonidín-3-O-glc-metilmelileno-(epi)catequina	0.040	0.114	0.057	0.188	0.117	0.019	0.032	0.157	0.142	0.180	0.077	0.095	0.101	0.194	0.140
$\bar{x}$	nd	1.93	1.37	nd	nd	nd	0.829	1.35	0.00	0.00	nd	nd	nd	nd	nd
s	nd	2.32	1.58	nd	nd	nd	0.857	1.14	0.00	0.00	nd	nd	nd	nd	nd
Peonidín-3-O-glc-metilmelileno-(epi)catequina	nd	2.37	1.52	nd	nd	nd	0.838	1.50	0.00	0.00	nd	nd	nd	nd	nd
$\bar{x}$	nd	2.21	1.49	nd	nd	nd	0.841	1.33	0.00	0.00	nd	nd	nd	nd	nd
s	nd	0.241	0.108	nd	nd	nd	0.014	0.181	0.000	0.000	nd	nd	nd	nd	nd
Peonidín-3-O-glc-metilmelileno-(epi)catequina	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0.876	1.76	1.57	nd	nd	nd	nd	nd
$\bar{x}$	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0.902	2.03	1.43	nd	nd	nd	nd	nd
s	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0.926	1.89	1.54	nd	nd	nd	nd	nd
Peonidín-3-O-glc-metilmelileno-(epi)catequina	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0.901	1.89	1.51	nd	nd	nd	nd	nd
$\bar{x}$	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0.025	0.135	0.074	nd	nd	nd	nd	nd
s	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0.025	0.135	0.074	nd	nd	nd	nd	nd

Tabla A.37. (Continuación). Evolución de derivados antocianicos de fórmula antociano-metilmileno-flavanol (mg/L) durante el proceso de estabilización en botella de vinos Merlot, Syrah y Tempranillo (valores, media y desviación estándar).

	Tras contacto con virutas de roble														
	Merlot					Syrah					Tempranillo				
	M0	M3	M6	M9	M12	M0	M3	M6	M9	M12	M0	M3	M6	M9	M12
Malvidín-3-O-glc-metilmileno-(epi)catequina	1.21	3.94	2.27	3.74	3.77	0.865	1.71	2.19	3.37	1.90	0.603	1.24	4.55	3.13	2.92
$\bar{x}$	0.855	4.60	2.20	4.23	3.98	1.08	1.79	3.08	2.98	2.16	0.53	1.32	4.45	2.20	2.92
s	1.08	4.49	2.25	3.92	3.71	0.960	1.64	2.36	3.20	2.09	0.582	1.12	3.90	2.67	2.24
Malvidín-3-O-glc-metilmileno-(epi)catequina	1.05	4.34	2.24	3.96	3.82	0.968	1.71	2.54	3.18	2.05	0.570	1.23	4.30	2.67	2.69
$\bar{x}$	0.180	0.354	0.036	0.248	0.142	0.108	0.075	0.472	0.196	0.135	0.040	0.101	0.350	0.465	0.393
s	1.31	2.39	3.46	2.84	2.67	0.897	1.71	1.39	2.95	2.46	0.674	1.67	2.41	2.62	3.55
Malvidín-3-O-glc-metilmileno-(epi)catequina	1.06	2.86	3.14	2.89	2.87	0.977	1.63	1.59	2.60	2.07	0.706	1.91	2.84	2.13	3.55
$\bar{x}$	1.14	3.21	3.23	3.93	3.08	0.961	1.70	1.41	2.32	2.72	0.702	1.90	2.35	2.75	3.22
s	1.17	2.82	3.28	3.22	2.87	0.945	1.68	1.46	2.62	2.42	0.694	1.83	2.53	2.50	3.44
Malvidín-3-O-glc-metilmileno-(epi)catequina	0.128	0.411	0.165	0.615	0.205	0.042	0.044	0.110	0.316	0.327	0.017	0.136	0.267	0.327	0.191
$\bar{x}$	0.469	1.51	1.45	2.05	2.11	1.13	1.04	0.644	1.81	1.46	0.68	1.89	4.07	1.96	2.29
s	0.492	1.56	1.32	2.25	2.48	0.925	0.959	0.955	1.59	1.44	0.668	1.780	3.13	1.84	2.29
Peonidín-3-O-glc-metilmileno-(epi)catequina	0.415	1.52	1.29	2.04	2.05	1.22	1.25	0.879	1.48	1.72	0.68	1.80	3.20	2.07	1.98
$\bar{x}$	0.459	1.53	1.35	2.11	2.21	1.09	1.08	0.826	1.63	1.54	0.68	1.82	3.47	1.96	2.19
s	0.040	0.026	0.085	0.118	0.233	0.151	0.150	0.162	0.168	0.156	0.007	0.059	0.524	0.115	0.179
Peonidín-3-O-glc-metilmileno-(epi)catequina	nd	2.37	1.46	nd	nd	nd	0.838	1.00	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
$\bar{x}$	nd	2.45	1.54	nd	nd	nd	0.746	1.15	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
s	nd	2.67	1.51	nd	nd	nd	0.878	0.802	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Peonidín-3-O-glc-metilmileno-(epi)catequina	nd	2.50	1.50	nd	nd	nd	0.821	0.984	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
$\bar{x}$	nd	0.155	0.040	nd	nd	nd	0.068	0.175	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
s	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	1.03	1.77	1.36	nd	nd	nd	nd	nd
Peonidín-3-O-glc-metilmileno-(epi)catequina	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	1.02	1.40	1.44	nd	nd	nd	nd	nd
$\bar{x}$	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	1.07	1.62	1.62	nd	nd	nd	nd	nd
s	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	1.04	1.60	1.47	nd	nd	nd	nd	nd
	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0.026	0.186	0.133	nd	nd	nd	nd	nd



Tabla A.37. (Continuación). Evolución de derivados antocianícos de fórmula antociano-metilmetileno-flavanol (mg/L) durante el proceso de estabilización en botella de vinos Merlot, Syrah y Tempranillo (valores, media y desviación estándar).

	Sin contacto con virutas de roble														
	Merlot				Syrah				Tempranillo						
	M0	M3	M6	M9	M12	M0	M3	M6	M9	M12	M0	M3	M6	M9	M12
Mv-3-O-acetilglc- metilmetileno- (epi)catequina	nd	0.933	0.462	0.667	0.870	nd	1.44	0.396	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
$\bar{x}$	nd	0.870	0.459	0.561	1.02	nd	1.47	0.374	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
s	nd	0.905	0.452	0.694	0.895	nd	1.58	0.365	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Mv-3-O-acetilglc- metilmetileno- (epi)catequina	nd	0.903	0.458	0.641	0.928	nd	1.50	0.378	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
$\bar{x}$	nd	0.032	0.005	0.070	0.080	nd	0.074	0.016	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
s	nd	nd	nd	0.431	0.644	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Mv-3-O-acetilglc- metilmetileno- (epi)catequina	nd	nd	nd	0.370	0.644	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
$\bar{x}$	nd	nd	nd	0.385	0.720	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
s	nd	nd	nd	0.395	0.669	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	nd	nd	nd	0.032	0.044	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd

Tabla A.37. (Continuación). Evolución de derivados antocianicos de fórmula antociano-metilmetileno-flavanol (mg/L) durante el proceso de estabilización en botella de vinos Merlot, Syrah y Tempranillo (valores, media y desviación estándar).

	Tras contacto con virutas de roble														
	Merlot				Syrah				Tempranillo						
	M0	M3	M6	M9	M12	M0	M3	M6	M9	M12	M0	M3	M6	M9	M12
Mv-3-O-acetilglc- metilmetileno- (epi)catequina	nd	0.689	0.461	0.924	1.44	nd	1.05	0.453	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
$\bar{x}$	nd	0.756	0.430	1.11	1.00	nd	1.20	0.406	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
s	nd	0.677	0.497	0.810	1.12	nd	1.18	0.449	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Mv-3-O-acetilglc- metilmetileno- (epi)catequina	nd	0.707	0.463	0.948	1.19	nd	1.14	0.436	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
$\bar{x}$	nd	0.043	0.034	0.151	0.227	nd	0.081	0.026	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
s	nd	nd	nd	0.392	0.726	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Mv-3-O-acetilglc- metilmetileno- (epi)catequina	nd	nd	nd	0.464	1.06	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
$\bar{x}$	nd	nd	nd	0.429	0.941	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
s	nd	nd	nd	0.428	0.909	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	nd	nd	nd	0.036	0.169	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd

Tabla A.38. Evolución de ácidos hidroxibenzoicos (mg/L) durante el proceso de estabilización en botella de vinos Merlot, Syrah y Tempranillo (valores, media y desviación estándar).

	Sin contacto con virutas de roble														
	Merlot				Syrah				Tempranillo						
	M0	M3	M6	M9	M12	M0	M3	M6	M9	M12	M0	M3	M6	M9	M12
Ácido gálico	32.9	77.1	52.2	57.0	74.5	29.5	64.4	84.0	159.8	173.9	21.5	115.5	242.7	447.1	422.9
$\bar{x}$	30.5	75.9	51.6	58.5	66.2	28.9	57.5	76.8	152.6	164.7	23.5	107.8	260.8	442.1	380.1
s	30.7	77.9	52.0	61.5	81.3	29.7	58.2	87.6	149.8	160.4	23.4	108.2	259.2	413.1	364.7
Ácido vanílico	31.4	77.0	51.9	59.0	74.0	29.4	60.0	82.8	154.1	166.3	22.8	110.5	254.2	434.1	389.2
$\bar{x}$	1.33	1.01	0.306	2.29	7.56	0.416	3.80	5.50	5.16	6.90	1.13	4.33	10.0	18.4	30.2
s	4.36	8.10	7.61	10.0	7.02	9.12	12.3	8.20	15.0	8.82	6.23	8.07	5.31	5.95	5.35
Ácido siríngico	4.07	8.90	7.88	9.94	8.36	8.93	12.8	8.90	14.0	7.29	7.20	8.30	4.81	8.07	6.28
$\bar{x}$	4.24	10.0	7.71	9.95	7.84	9.01	10.6	7.35	13.8	9.56	7.08	8.00	4.45	7.34	5.03
s	4.22	9.00	7.73	9.96	7.74	9.02	11.9	8.15	14.3	8.56	6.84	8.12	4.86	7.12	5.55
Ácido p-coumárico	0.146	0.954	0.137	0.032	0.676	0.095	1.15	0.776	0.643	1.16	0.529	0.157	0.432	1.08	0.649
$\bar{x}$	11.2	17.1	10.5	11.8	9.9	7.38	7.01	6.45	8.19	6.07	11.2	10.6	7.39	12.3	8.99
s	11.2	16.1	12.4	12.4	10.1	9.06	7.17	5.26	7.32	5.43	12.2	9.42	7.97	13.4	9.21
Ácido siríngico	10.7	16.2	10.5	13.7	10.7	8.23	6.70	5.90	8.10	6.54	10.9	9.27	7.51	12.4	9.14
$\bar{x}$	11.0	16.5	11.1	12.6	10.2	8.22	6.96	5.87	7.87	6.01	11.4	9.76	7.62	12.7	9.11
s	0.289	0.551	1.10	0.971	0.408	0.840	0.239	0.596	0.478	0.557	0.681	0.728	0.306	0.601	0.112

Tabla A.38. (Continuación). Evolución de ácidos hidroxibenzoicos (mg/L) durante el proceso de estabilización en botella de vinos Merlot, Syrah y Tempranillo (valores, media y desviación estándar).

	Tras contacto con virutas de roble														
	Merlot				Syrah				Tempranillo						
	M0	M3	M6	M9	M12	M0	M3	M6	M9	M12	M0	M3	M6	M9	M12
Ácido gálico	40.4	73.9	96.9	56.7	108.0	26.0	59.0	88.4	145.4	179.4	33.1	125.2	271.6	447.9	345.6
	38.7	67.6	96.1	57.5	88.5	25.4	60.1	83.0	180.7	184.7	34.2	119.4	233.5	440.2	356.9
$\bar{x}$	38.9	68.5	100.8	56.2	89.5	26.2	60.3	87.5	175.9	162.1	32.9	116.1	242.0	420.0	420.3
	39.3	70.0	97.9	56.8	95.3	25.9	59.8	86.3	167.3	175.4	33.4	120.2	249.0	436.0	374.3
s	0.929	3.41	2.51	0.656	11.0	0.416	0.700	2.89	19.1	11.8	0.700	4.61	20.0	14.4	40.3
	6.50	11.2	9.20	11.6	14.2	15.3	16.2	10.5	10.6	9.80	6.19	6.14	2.71	6.26	6.52
Ácido vanillico	6.65	9.74	8.83	11.1	14.8	15.6	13.8	10.6	11.4	11.3	6.85	7.15	2.59	6.73	6.34
	6.60	12.1	8.39	11.3	11.8	17.2	13.9	9.42	11.2	8.46	6.01	7.00	2.27	5.93	6.91
$\bar{x}$	6.58	11.0	8.81	11.3	13.6	16.0	14.6	10.2	11.1	9.85	6.35	6.76	2.52	6.31	6.59
	0.076	1.19	0.406	0.252	1.59	1.02	1.36	0.654	0.416	1.42	0.442	0.545	0.227	0.402	0.291
Ácido siríngico	11.1	13.2	9.15	12.6	13.4	8.78	8.37	6.97	9.36	10.7	10.4	11.3	9.22	13.9	10.1
	10.1	12.8	9.19	12.9	13.7	7.73	8.26	7.08	10.5	8.94	10.1	9.69	9.17	13.5	11.3
$\bar{x}$	10.3	14.3	10.0	13.4	14.0	7.53	7.46	6.57	10.5	8.14	11.2	11.6	8.64	12.6	11.2
	10.5	13.4	9.45	13.0	13.7	8.01	8.03	6.87	10.1	9.26	10.6	10.9	9.01	13.3	10.9
s	0.529	0.777	0.480	0.404	0.300	0.671	0.497	0.268	0.658	1.31	0.569	1.027	0.321	0.666	0.666

Tabla A.39. Evolución de ésteres de ácidos hidroxicinámicos (mg/L) durante el proceso de estabilización en botella de vinos Merlot, Syrah y Tempranillo (valores, media y desviación estándar).

	Sin contacto con virutas de roble														
	Merlot				Syrah				Tempranillo						
	M0	M3	M6	M9	M12	M0	M3	M6	M9	M12	M0	M3	M6	M9	M12
Ácido c-caftárico	2.56	5.66	4.29	5.14	4.73	3.28	1.50	3.51	3.77	3.87	5.10	4.47	3.49	5.36	4.78
$\bar{x}$	2.56	5.57	4.43	4.34	4.66	3.55	1.43	2.97	3.86	4.06	5.67	4.10	4.41	5.36	4.70
s	2.59	5.85	4.32	5.86	3.69	3.77	1.54	2.99	3.91	4.53	5.45	4.72	4.04	4.70	4.40
Ácido t-caftárico	2.57	5.69	4.35	5.11	4.36	3.53	1.49	3.16	3.85	4.15	5.41	4.43	3.98	5.14	4.63
$\bar{x}$	0.017	0.143	0.074	0.760	0.581	0.245	0.056	0.306	0.071	0.340	0.287	0.312	0.463	0.381	0.200
s	1.72	4.43	1.76	2.06	3.14	4.43	4.42	3.33	4.42	3.41	4.45	3.65	2.90	5.85	2.71
Ácido t-cutárico	1.71	5.32	2.02	1.72	3.28	4.60	4.04	3.55	4.50	3.72	4.82	3.60	2.77	4.83	2.96
$\bar{x}$	1.69	5.18	1.86	1.90	2.58	5.09	3.98	3.91	4.57	4.45	4.45	3.92	3.27	5.26	2.31
s	1.71	4.98	1.88	1.89	3.00	4.71	4.15	3.60	4.50	3.86	4.57	3.72	2.98	5.31	2.66
Ácido c-cutárico	0.015	0.479	0.131	0.170	0.370	0.343	0.239	0.293	0.075	0.534	0.214	0.172	0.259	0.512	0.328
$\bar{x}$	1.33	3.20	3.17	3.27	2.76	1.46	1.99	2.22	2.54	2.78	1.99	3.61	3.20	3.09	1.69
s	1.58	3.47	3.12	2.98	2.29	1.43	1.88	1.98	2.46	2.90	2.17	3.00	2.90	3.14	1.90
Ácido t-cutárico	1.56	3.81	3.15	3.07	2.46	1.55	1.93	2.15	2.77	3.07	1.98	2.80	3.13	3.50	1.67
$\bar{x}$	1.49	3.49	3.15	3.11	2.50	1.48	1.93	2.12	2.59	2.92	2.05	3.14	3.08	3.24	1.75
s	0.139	0.306	0.025	0.148	0.238	0.062	0.055	0.123	0.161	0.146	0.107	0.422	0.157	0.224	0.127
Ácido t-cutárico	1.39	3.45	2.45	2.76	2.78	1.01	3.29	2.23	2.55	2.88	2.05	2.65	2.94	3.78	2.34
$\bar{x}$	1.43	3.62	2.50	2.88	2.96	1.12	3.50	2.00	2.67	2.96	2.23	2.64	2.83	4.14	2.10
s	1.34	3.84	2.47	2.98	2.26	1.09	3.30	2.10	2.41	3.38	2.20	2.70	3.14	4.13	2.30
Ácido t-cutárico	1.39	3.64	2.47	2.87	2.67	1.07	3.36	2.11	2.54	3.07	2.16	2.66	2.97	4.02	2.25
$\bar{x}$	0.045	0.196	0.025	0.110	0.364	0.057	0.118	0.115	0.130	0.269	0.096	0.032	0.157	0.205	0.129
s															

Tabla A.39. (Continuación). Evolución de ésteres de ácidos hidroxycinámicos (mg/L) durante el proceso de estabilización en botella de vinos Merlot, Syrah y Tempranillo (valores, media y desviación estándar).

	Tras contacto con virutas de roble														
	Merlot					Syrah					Tempranillo				
	M0	M3	M6	M9	M12	M0	M3	M6	M9	M12	M0	M3	M6	M9	M12
Ácido <i>c</i> -caftárico	2.15	5.33	3.99	5.24	4.11	3.35	3.02	4.20	3.47	4.49	5.77	5.49	5.49	6.18	4.53
	2.12	4.64	3.92	4.20	4.44	3.41	2.73	3.58	4.16	4.09	5.81	4.69	4.55	5.70	4.39
$\bar{x}$	2.12	5.10	3.63	4.61	3.73	3.50	2.76	3.61	4.07	4.71	5.67	5.04	5.13	5.59	4.50
	2.13	5.02	3.85	4.68	4.09	3.42	2.84	3.80	3.90	4.43	5.75	5.07	5.06	5.82	4.47
<i>s</i>	0.017	0.351	0.191	0.524	0.355	0.075	0.159	0.350	0.375	0.314	0.072	0.401	0.474	0.314	0.074
Ácido <i>t</i> -caftárico	1.06	3.19	1.86	2.81	2.66	4.59	3.94	3.72	4.23	4.09	3.17	5.86	5.16	5.49	3.38
	0.756	3.11	1.67	3.14	2.92	4.460	3.64	3.73	4.97	3.54	3.79	4.91	5.20	4.98	4.14
$\bar{x}$	0.856	3.10	1.96	3.07	2.90	4.660	3.81	3.83	5.11	4.23	3.50	5.40	5.04	4.58	3.71
	0.891	3.13	1.83	3.01	2.83	4.570	3.80	3.76	4.77	3.95	3.49	5.39	5.13	5.02	3.74
<i>s</i>	0.155	0.049	0.147	0.174	0.145	0.101	0.150	0.061	0.473	0.365	0.310	0.475	0.083	0.456	0.381
Ácido <i>c</i> -cutárico	1.43	2.43	1.49	2.13	2.16	1.50	1.58	2.22	2.13	2.54	1.62	3.05	4.43	4.43	1.95
	1.41	2.42	1.54	2.36	2.33	1.40	1.55	2.09	2.32	2.20	1.88	2.80	4.37	4.53	2.00
$\bar{x}$	1.41	2.47	1.68	2.48	2.27	1.47	1.47	1.98	2.36	2.51	1.70	2.18	4.47	4.63	1.92
	1.42	2.44	1.57	2.32	2.25	1.46	1.53	2.10	2.27	2.42	1.73	2.68	4.42	4.53	1.96
<i>s</i>	0.012	0.026	0.098	0.178	0.086	0.051	0.057	0.120	0.123	0.188	0.133	0.448	0.050	0.100	0.040
Ácido <i>t</i> -cutárico	1.20	2.88	1.78	2.59	2.28	1.14	3.19	2.38	2.19	3.12	1.69	2.51	4.48	4.68	2.15
	1.56	2.48	1.49	2.66	2.24	1.19	2.70	2.24	2.36	3.49	2.02	2.61	4.33	4.48	2.21
$\bar{x}$	1.36	2.68	1.57	2.51	2.33	1.14	3.40	2.21	2.58	3.55	1.89	2.57	5.03	4.61	2.15
	1.37	2.68	1.61	2.59	2.28	1.16	3.10	2.28	2.38	3.39	1.87	2.56	4.61	4.59	2.17
<i>s</i>	0.180	0.200	0.150	0.075	0.045	0.029	0.359	0.091	0.196	0.233	0.166	0.050	0.369	0.101	0.035

Tabla A.39. (Continuación). Evolución de ésteres de ácidos hidroxicinámicos (mg/L) durante el proceso de estabilización en botella de vinos Merlot, Syrah y Tempranillo (valores, media y desviación estándar).

	Sin contacto con virutas de roble														
	Merlot				Syrah				Tempranillo						
	M0	M3	M6	M9	M12	M0	M3	M6	M9	M12	M0	M3	M6	M9	M12
Ácido <i>c</i> -fertánico	0.233	0.950	0.455	0.405	0.711	1.76	1.61	1.16	0.985	0.444	2.64	2.13	1.19	1.35	1.58
	0.232	0.979	0.471	0.391	0.696	1.85	1.67	0.892	0.829	0.551	2.74	2.32	1.17	1.45	1.73
	0.244	1.19	0.462	0.422	0.689	1.86	1.44	1.01	1.12	0.506	2.52	2.05	1.15	1.33	1.33
$\bar{x}$	0.236	1.04	0.463	0.406	0.699	1.82	1.57	1.02	0.978	0.500	2.63	2.17	1.17	1.38	1.55
<i>s</i>	0.007	0.131	0.008	0.016	0.011	0.055	0.119	0.134	0.146	0.054	0.110	0.139	0.020	0.064	0.202
Ácido <i>t</i> -fertánico	0.380	0.912	1.07	1.24	0.620	0.439	nd	0.330	nd	0.200	1.05	1.08	0.820	0.498	0.670
	0.380	0.837	1.10	1.29	0.656	0.497	nd	0.350	nd	0.186	1.25	1.06	0.989	0.467	0.520
	0.434	0.878	1.08	1.43	0.606	0.496	nd	0.345	nd	0.145	1.42	1.10	1.05	0.449	0.683
$\bar{x}$	0.398	0.876	1.08	1.32	0.627	0.477	nd	0.342	nd	0.177	1.24	1.08	0.953	0.471	0.624
<i>s</i>	0.031	0.038	0.015	0.098	0.026	0.033	nd	0.010	nd	0.029	0.185	0.020	0.119	0.025	0.091

Tabla A.39. (Continuación). Evolución de ésteres de ácidos hidroxicinámicos (mg/L) durante el proceso de estabilización en botella de vinos Merlot, Syrah y Tempranillo (valores, media y desviación estándar).

	Tras contacto con virutas de roble														
	Merlot				Syrah				Tempranillo						
	M0	M3	M6	M9	M12	M0	M3	M6	M9	M12	M0	M3	M6	M9	M12
Ácido <i>c</i> -ferráico	0.277	1.41	0.497	0.649	0.659	2.68	1.74	1.48	1.12	0.945	2.10	2.53	0.868	1.65	1.63
	0.243	1.59	0.479	0.743	0.697	2.30	1.58	1.31	0.913	1.09	2.29	2.12	0.900	1.53	1.73
$\bar{x}$	0.236	1.23	0.489	0.516	0.722	2.66	1.63	1.28	1.23	1.09	2.02	1.94	0.839	1.82	1.78
	0.252	1.41	0.488	0.636	0.693	2.55	1.65	1.36	1.09	1.04	2.14	2.20	0.869	1.67	1.71
<i>s</i>	0.022	0.180	0.009	0.114	0.032	0.214	0.082	0.108	0.161	0.084	0.139	0.302	0.031	0.146	0.076
	0.231	0.651	0.554	0.820	0.657	0.707	1.03	0.906	0.209	0.250	1.26	1.28	1.20	0.897	1.32
Ácido <i>t</i> -ferráico	0.249	0.642	0.674	0.884	0.783	0.715	0.903	0.934	0.215	0.216	1.24	1.18	1.77	0.677	1.13
	0.249	0.629	0.694	0.772	0.762	0.729	0.788	0.930	0.218	0.284	1.29	1.37	1.54	0.750	1.08
$\bar{x}$	0.243	0.641	0.641	0.825	0.734	0.717	0.907	0.923	0.214	0.250	1.26	1.28	1.50	0.775	1.18
	0.010	0.011	0.076	0.056	0.068	0.011	0.121	0.015	0.005	0.034	0.025	0.095	0.287	0.112	0.127
<i>s</i>															



Tabla A.40. Evolución de derivados del flavan-3-ol (mg/L) durante el proceso de estabilización en botella de vinos Merlot, Syrah y Tempranillo (valores, media y desviación estándar).

	Sin contacto con virutas de roble														
	Merlot				Syrah				Tempranillo						
	M0	M3	M6	M9	M12	M0	M3	M6	M9	M12	M0	M3	M6	M9	M12
(+)-Catequina	79.7	129.6	73.5	70.5	59.6	76.0	65.5	48.4	43.6	34.1	83.1	70.4	38.2	58.2	5.4
$\bar{x}$	78.1	134.9	72.8	74.2	56.1	70.9	59.8	40.5	44.3	34.4	93.4	69.7	49.3	52.8	6.2
s	80.3	150.0	73.0	80.7	60.2	78.1	61.5	44.9	56.2	37.4	83.1	69.1	52.6	41.9	5.6
	79.4	138.2	73.1	75.1	58.6	75.0	62.2	44.6	48.0	35.3	86.6	69.7	46.7	51.0	5.7
	1.14	10.6	0.405	5.17	2.22	3.69	2.92	3.97	7.05	1.85	5.97	0.62	7.54	8.28	0.424
(-)-Epicatequina	23.6	36.3	12.1	nd	4.01	42.2	12.8	nd	nd	nd	42.9	21.4	5.7	nd	nd
$\bar{x}$	22.0	35.4	13.1	nd	4.60	40.3	12.7	nd	nd	nd	42.8	20.3	4.3	nd	nd
s	31.4	35.3	12.8	nd	5.44	43.6	12.5	nd	nd	nd	44.1	20.7	4.6	nd	nd
	25.7	35.7	12.7	nd	4.68	42.0	12.7	nd	nd	nd	43.3	20.8	4.9	nd	nd
	5.03	0.551	0.513	nd	0.719	1.66	0.153	nd	nd	nd	0.72	0.557	0.758	nd	nd
Procianidinas B1 + B3	14.2	12.4	9.31	10.0	6.80	7.37	5.06	4.70	5.94	3.58	8.89	6.45	3.85	4.64	4.64
$\bar{x}$	13.0	13.2	8.82	8.83	7.18	7.88	4.89	5.81	5.89	3.88	8.81	6.01	5.51	3.96	6.13
s	15.7	11.7	9.09	8.95	7.21	7.72	5.12	5.65	5.90	4.60	9.91	6.17	4.83	4.13	5.37
	14.3	12.4	9.07	9.26	7.06	7.66	5.02	5.39	5.91	4.02	9.20	6.21	4.73	4.24	5.38
	1.36	0.751	0.245	0.644	0.229	0.261	0.118	0.600	0.026	0.522	0.613	0.223	0.835	0.354	0.745
Procianidinas B2 + B4	15.3	21.2	5.48	4.18	2.15	14.5	6.92	6.23	8.03	8.02	10.1	9.49	7.91	7.81	8.08
$\bar{x}$	17.6	20.6	4.91	4.81	1.54	16.9	7.15	7.93	7.72	7.45	9.5	7.97	6.88	7.50	9.33
s	15.9	23.0	5.09	4.71	1.84	15.3	6.58	8.54	7.88	7.68	10.4	8.68	7.51	7.78	8.68
	16.3	21.6	5.16	4.57	1.84	15.5	6.88	7.57	7.88	7.72	10.0	8.71	7.43	7.70	8.70
	1.18	1.25	0.291	0.339	0.305	1.20	0.287	1.20	0.155	0.287	0.455	0.761	0.519	0.171	0.625

Tabla A.40. (Continuación). Evolución de derivados del flavan-3-ol (mg/L) durante el proceso de estabilización en botella de vinos Merlot, Syrah y Tempranillo (valores, media y desviación estándar).

	Tras contacto con virutas de roble														
	Merlot				Syrah				Tempranillo						
	M0	M3	M6	M12	M0	M3	M6	M12	M0	M3	M6	M12			
(+) -Catequina	88.5	103.8	49.2	61.3	55.5	75.0	59.6	50.9	33.1	26.3	72.8	40.6	34.7	64.4	3.9
	80.4	94.3	41.3	64.8	53.4	76.5	56.6	48.7	30.2	20.9	78.5	37.4	32.5	55.0	3.8
$\bar{x}$	82.3	101.0	48.7	54.8	46.3	71.9	51.0	42.4	31.1	24.6	79.3	39.1	40.7	47.8	3.3
	83.7	99.7	46.4	60.3	51.7	74.5	55.7	47.3	31.4	23.9	76.9	39.0	36.0	55.7	3.7
s	4.24	4.88	4.38	5.04	4.81	2.35	4.35	4.43	1.52	2.77	3.55	1.62	4.25	8.30	0.32
	63.1	15.1	10.8	nd	10.1	56.2	12.4	nd	nd	nd	35.1	21.5	3.00	13.4	nd
(-) -Epicatequina	58.3	17.9	11.3	nd	9.18	53.6	12.0	nd	nd	nd	34.4	20.9	2.38	8.94	nd
	60.6	16.1	12.1	nd	8.87	51.6	12.1	nd	nd	nd	34.2	21.8	2.87	11.2	nd
$\bar{x}$	60.7	16.4	11.4	nd	9.38	53.8	12.2	nd	nd	nd	34.6	21.4	2.75	11.2	nd
	2.40	1.42	0.656	nd	0.640	2.31	0.21	nd	nd	nd	0.473	0.458	0.327	2.230	nd
Procianidinas B1 + B3	22.2	15.9	14.5	13.0	11.8	9.39	9.59	9.47	3.67	4.04	10.4	7.92	7.99	6.37	4.02
	20.2	19.2	12.7	13.2	9.9	9.52	10.4	9.38	8.10	3.55	8.35	8.64	9.73	6.65	3.87
$\bar{x}$	22.3	18.9	15.2	14.7	10.5	9.45	10.7	9.43	7.81	4.04	10.4	10.3	8.91	6.88	3.31
	21.5	18.0	14.1	13.6	10.7	9.45	10.2	9.43	6.53	3.88	9.72	8.97	8.88	6.63	3.73
s	1.17	1.82	1.31	0.929	0.968	0.065	0.567	0.045	2.48	0.283	1.18	1.24	0.870	0.26	0.373
	20.6	10.8	5.17	8.62	8.91	19.7	6.71	6.96	5.69	12.1	11.9	10.7	5.83	4.50	3.47
Procianidinas B2 + B4	18.8	10.6	6.07	7.49	7.99	18.6	6.15	6.77	6.89	10.6	12.4	12.2	5.96	5.13	3.11
	20.4	10.9	6.41	9.15	7.74	18.5	6.49	7.09	4.90	9.29	13.2	13.0	5.28	4.60	3.26
$\bar{x}$	19.9	10.8	5.88	8.42	8.21	18.9	6.45	6.94	5.83	10.7	12.5	12.0	5.69	4.74	3.28
	0.987	0.153	0.641	0.848	0.616	0.644	0.282	0.161	1.00	1.41	0.666	1.18	0.361	0.339	0.181

Tabla A.40. (continuación). Evolución de derivados del flavan-3-ol (mg/L) durante el proceso de estabilización en botella de vinos Merlot, Syrah y Tempranillo (valores, media y desviación estándar).

	Sin contacto con virutas de roble														
	Merlot				Syrah				Tempranillo						
	M0	M3	M6	M9	M12	M0	M3	M6	M9	M12	M0	M3	M6	M9	M12
B2-3-O-galato	11.2	23.9	16.6	32.7	36.4	6.16	4.40	12.4	23.9	18.7	11.8	12.6	17.3	26.5	25.9
	13.3	27.0	15.0	33.5	36.8	5.09	4.20	14.9	22.1	19.9	10.2	12.2	15.5	23.9	25.5
	12.2	23.7	15.0	32.4	35.8	4.41	3.95	13.0	23.5	22.0	11.3	13.9	18.2	23.4	24.4
$\bar{x}$	12.2	24.9	15.5	32.9	36.3	5.22	4.18	13.4	23.2	20.2	11.1	12.9	17.0	24.6	25.3
s	1.05	1.85	0.924	0.569	0.503	0.882	0.225	1.31	0.945	1.67	0.819	0.889	1.37	1.66	0.777
B2-3-O'-galato	nd	9.44	nd	nd	2.49	1.61	7.39	2.99	3.41	4.90	5.33	7.27	nd	nd	5.05
	nd	11.6	nd	nd	3.43	1.36	7.32	4.01	2.89	4.01	4.74	7.30	nd	nd	5.54
	nd	10.9	nd	nd	3.24	1.28	6.71	3.56	3.33	5.82	4.59	8.58	nd	nd	4.26
$\bar{x}$	nd	10.6	nd	nd	3.05	1.42	7.14	3.52	3.21	4.91	4.89	7.72	nd	nd	4.95
s	nd	1.10	nd	nd	0.497	0.172	0.374	0.511	0.280	0.905	0.391	0.748	nd	nd	0.646
B1-3-O-galato	6.20	17.2	7.25	12.3	9.31	nd	7.21	nd	nd	18.2	4.17	7.38	16.3	14.8	16.0
	5.59	18.3	8.89	12.3	11.3	nd	6.88	nd	nd	18.6	4.73	6.07	15.1	14.6	17.2
	6.50	20.0	8.90	11.7	10.5	nd	6.26	nd	nd	17.4	4.84	6.07	14.1	15.1	18.2
$\bar{x}$	6.10	18.5	8.35	12.1	10.4	nd	6.78	nd	nd	18.1	4.58	6.51	15.2	14.8	17.1
s	0.464	1.41	0.950	0.341	1.00	nd	0.482	nd	nd	0.611	0.359	0.756	1.10	0.252	1.10

Tabla A.40. (Continuación). Evolución de derivados del flavan-3-ol (mg/L) durante el proceso de estabilización en botella de vinos Merlot, Syrah y Tempranillo (valores, media y desviación estándar).

	Tras contacto con virutas de roble														
	Merlot				Syrah				Tempranillo						
	M0	M3	M6	M9	M12	M0	M3	M6	M9	M12	M0	M3	M6	M9	M12
B2-3-O-galato	20.3	25.4	16.8	26.9	32.9	9.80	5.13	23.7	30.9	19.0	7.75	9.12	12.2	32.0	23.3
	18.5	22.8	18.6	28.9	36.3	8.37	5.83	23.7	28.6	17.3	7.89	10.5	16.6	30.2	23.5
	17.1	23.4	17.4	26.1	34.2	9.55	4.99	25.8	29.2	18.9	9.13	11.0	16.9	27.3	21.5
$\bar{x}$	18.6	23.9	17.6	27.3	34.5	9.24	5.32	24.4	29.6	18.4	8.26	10.2	15.2	29.8	22.8
s	1.60	1.36	0.917	1.44	1.72	0.764	0.450	1.21	1.19	0.954	0.760	0.974	2.63	2.37	1.10
B2-3-O'-galato	nd	nd	nd	nd	4.57	20.6	6.61	nd	nd	nd	5.54	4.32	nd	nd	3.18
	nd	nd	nd	nd	3.29	19.7	6.22	nd	nd	nd	4.65	4.82	nd	nd	3.14
	nd	nd	nd	nd	3.64	19.5	5.37	nd	nd	nd	5.24	4.66	nd	nd	2.64
$\bar{x}$	nd	nd	nd	nd	3.83	19.9	6.07	nd	nd	nd	5.14	4.60	nd	nd	2.99
s	nd	nd	nd	nd	0.662	0.586	0.634	nd	nd	nd	0.453	0.255	nd	nd	0.301
B1-3-O-galato	8.65	11.5	10.2	10.4	9.06	nd	2.80	nd	nd	9.95	7.37	14.7	8.96	18.1	11.4
	7.56	12.3	12.2	13.0	8.92	nd	3.35	nd	nd	9.20	8.02	16.6	8.77	17.9	11.4
	9.20	13.0	13.6	14.0	11.6	nd	3.30	nd	nd	9.76	8.89	17.6	7.54	17.5	11.3
$\bar{x}$	8.47	12.3	12.0	12.5	9.86	nd	3.15	nd	nd	9.64	8.09	16.3	8.42	17.8	11.4
s	0.835	0.735	1.71	1.86	1.51	nd	0.304	nd	nd	0.390	0.763	1.47	0.771	0.306	0.058

Tabla A.41. Evolución de flavonoles (mg/L) durante el proceso de estabilización en botella de vinos Merlot, Syrah y Tempranillo (valores, media y desviación estándar).

	Sin contacto con virutas de roble														
	Merlot				Syrah				Tempranillo						
	M0	M3	M6	M9	M12	M0	M3	M6	M9	M12	M0	M3	M6	M9	M12
Miricetin-3-O-glucósido	$\bar{x}$	0.301	0.466	0.122	0.599	nd	0.459	0.467	0.444	0.450	nd	0.358	nd	0.065	nd
	s	0.301	0.521	0.121	0.610	nd	0.405	0.474	0.425	0.492	nd	0.300	nd	0.064	nd
$\bar{x}$	0.284	0.545	0.133	0.587	nd	0.367	0.463	0.450	0.615	nd	0.287	nd	0.054	nd	nd
	0.295	0.511	0.125	0.599	nd	0.410	0.468	0.440	0.519	nd	0.315	nd	0.061	nd	nd
s	0.010	0.041	0.007	0.012	nd	0.046	0.006	0.013	0.086	nd	0.038	nd	0.006	nd	nd
	4.98	nd	nd	nd	nd	5.29	6.06	4.99	4.95	nd	4.55	3.77	0.847	4.07	nd
Quercetin-3-O-glucósido	4.59	nd	nd	nd	nd	4.90	6.14	4.70	5.13	nd	4.21	3.35	0.920	4.09	nd
	4.73	nd	nd	nd	nd	5.52	5.74	4.69	5.63	nd	4.23	3.41	0.979	4.01	nd
$\bar{x}$	4.77	nd	nd	nd	nd	5.24	5.98	4.79	5.24	nd	4.33	3.51	0.915	4.06	nd
	0.198	nd	nd	nd	nd	0.313	0.212	0.170	0.352	nd	0.191	0.227	0.066	0.042	nd
Quercetin-3-O-glucurónido + quercetin-3-O-galactósido	5.24	10.3	1.84	nd	nd	7.62	nd	1.06	nd	nd	8.52	2.54	0.466	1.10	nd
	4.90	9.43	1.90	nd	nd	7.17	nd	1.10	nd	nd	7.76	2.50	0.378	1.15	nd
$\bar{x}$	5.01	11.4	1.77	nd	nd	7.91	nd	1.09	nd	nd	7.66	2.31	0.522	1.17	nd
	5.05	10.4	1.84	nd	nd	7.57	nd	1.08	nd	nd	7.98	2.45	0.455	1.14	nd
s	0.173	0.987	0.065	nd	nd	0.373	nd	0.021	nd	nd	0.470	0.123	0.073	0.036	nd
	1.16	0.558	0.280	0.347	nd	1.58	0.800	0.560	0.362	nd	2.10	1.140	0.271	nd	nd
Laricitrin-3-O-glucósido	1.13	0.638	0.345	0.289	nd	1.46	0.879	0.487	0.459	nd	1.86	1.010	0.272	nd	nd
	1.05	0.775	0.325	0.323	nd	1.53	0.841	0.549	0.424	nd	1.90	0.946	0.277	nd	nd
$\bar{x}$	1.11	0.657	0.317	0.320	nd	1.52	0.840	0.532	0.415	nd	1.95	1.032	0.273	nd	nd
	0.057	0.110	0.033	0.029	nd	0.060	0.040	0.039	0.049	nd	0.129	0.099	0.003	nd	nd
s	1.03	0.491	0.430	0.296	nd	0.657	0.511	0.252	0.304	nd	2.440	0.822	nd	nd	nd
	1.00	0.527	0.585	0.300	nd	0.623	0.536	0.261	0.337	nd	2.190	0.827	nd	nd	nd
Kaempferol-3-O-glucósido	1.04	0.552	0.569	0.298	nd	0.690	0.528	0.272	0.357	nd	2.040	0.745	nd	nd	nd
	1.02	0.523	0.528	0.298	nd	0.657	0.525	0.262	0.333	nd	2.223	0.798	nd	nd	nd
$\bar{x}$	0.021	0.031	0.085	0.002	nd	0.034	0.013	0.010	0.027	nd	0.202	0.046	nd	nd	nd
	0.021	0.031	0.085	0.002	nd	0.034	0.013	0.010	0.027	nd	0.202	0.046	nd	nd	nd

Tabla A.41. (Continuación). Evolución de flavonoles (mg/L) durante el proceso de estabilización en botella de vinos Merlot, Syrah y Tempranillo (valores, media y desviación estándar).

	Tras contacto con virutas de roble														
	Merlot				Syrah				Tempranillo						
	M0	M3	M6	M9	M12	M0	M3	M6	M9	M12	M0	M3	M6	M9	M12
Miricetín-3-O-glucósido	0.275	0.617	0.150	0.458	nd	0.067	0.439	0.086	0.386	nd	nd	nd	0.207	nd	nd
	0.261	0.604	0.163	0.441	nd	0.083	0.459	0.066	0.404	nd	nd	nd	0.147	nd	nd
$\bar{x}$	0.268	0.548	0.135	0.461	nd	0.078	0.482	0.113	0.412	nd	nd	nd	0.161	nd	nd
	0.268	0.590	0.149	0.453	nd	0.076	0.460	0.088	0.401	nd	nd	nd	0.172	nd	nd
s	0.007	0.037	0.014	0.011	nd	0.008	0.022	0.024	0.013	nd	nd	nd	0.031	nd	nd
Quercetín-3-O-glucósido	3.850	nd	nd	nd	nd	0.501	7.16	1.18	3.83	2.77	0.396	3.05	2.82	2.87	nd
	3.930	nd	nd	nd	nd	0.501	6.57	1.12	3.97	2.70	0.386	2.86	2.61	2.79	nd
$\bar{x}$	3.660	nd	nd	nd	nd	0.475	6.98	1.18	4.00	2.69	0.425	2.98	2.81	2.81	nd
	3.813	nd	nd	nd	nd	0.492	6.90	1.16	3.93	2.72	0.402	2.96	2.75	2.82	nd
s	0.139	nd	nd	nd	nd	0.015	0.302	0.035	0.091	0.044	0.020	0.096	0.118	0.042	nd
Quercetín-3-O-glucurónido + quercetín-3-O-galactósido	3.31	12.4	2.71	nd	nd	1.12	0.0	0.288	nd	nd	1.07	1.8	0.727	0.777	nd
	3.36	11.9	2.83	nd	nd	1.07	0.0	0.239	nd	nd	1.01	1.7	0.646	0.825	nd
$\bar{x}$	3.18	11.2	2.60	nd	nd	1.07	0.0	0.302	nd	nd	1.06	1.9	0.756	0.709	nd
	3.28	11.8	2.71	nd	nd	1.09	0.0	0.276	nd	nd	1.05	1.8	0.710	0.770	nd
s	0.093	0.603	0.115	nd	nd	0.029	0.000	0.033	nd	nd	0.032	0.090	0.057	0.058	nd
Laricitrín-3-O-glucósido	0.949	1.02	0.410	0.367	nd	0.327	0.702	0.166	0.278	nd	0.299	0.816	0.534	nd	nd
	0.943	0.921	0.470	0.382	nd	0.332	0.661	0.169	0.276	nd	0.278	0.735	0.409	nd	nd
$\bar{x}$	0.940	0.907	0.350	0.357	nd	0.297	0.739	0.202	0.309	nd	0.311	0.930	0.441	nd	nd
	0.944	0.949	0.410	0.369	nd	0.319	0.701	0.179	0.288	nd	0.296	0.827	0.461	nd	nd
s	0.005	0.062	0.060	0.013	nd	0.019	0.039	0.020	0.019	nd	0.017	0.098	0.065	nd	nd
Kaempferol-3-O-glucósido	0.927	1.05	0.601	0.490	nd	0.487	0.555	0.371	0.591	nd	0.522	0.732	0.500	nd	nd
	0.934	1.25	0.545	0.607	nd	0.481	0.478	0.371	0.640	nd	0.508	0.790	0.476	nd	nd
$\bar{x}$	0.945	1.23	0.660	0.546	nd	0.462	0.526	0.304	0.629	nd	0.503	0.806	0.531	nd	nd
	0.935	1.18	0.602	0.548	nd	0.477	0.520	0.349	0.620	nd	0.511	0.776	0.502	nd	nd
s	0.009	0.110	0.058	0.059	nd	0.013	0.039	0.039	0.026	nd	0.010	0.039	0.028	nd	nd

Tabla A.41. (Continuación). Evolución de flavonoles (mg/L) durante el proceso de estabilización en botella de vinos Merlot, Syrah y Tempranillo (valores, media y desviación estándar).

	Sin contacto con virutas de roble																
	Merlot				Syrah				Tempranillo								
	M0	M3	M6	M12	M0	M3	M6	M12	M0	M3	M6	M12					
Kaempferol-3-O-glucuronido + isorhametin-3-O-glucósido	$\bar{x}$	4.86	0.450	0.348	0.248	nd	nd	11.8	4.76	3.29	3.30	0.782	1.44	0.661	0.198	nd	nd
	s	4.49	0.532	0.348	0.297	nd	nd	11.0	5.85	3.22	3.33	0.746	1.33	0.666	0.207	nd	nd
Siringetin-3-O-glucósido	$\bar{x}$	4.64	0.493	0.384	0.223	nd	nd	12.7	3.80	3.20	3.82	0.740	1.39	0.654	0.227	nd	nd
	s	4.66	0.492	0.360	0.256	nd	nd	11.8	4.80	3.24	3.49	0.756	1.39	0.660	0.211	nd	nd
Miricetina	$\bar{x}$	0.186	0.041	0.021	0.038	nd	nd	0.850	1.03	0.047	0.286	0.023	0.055	0.006	0.015	nd	nd
	s	4.08	3.62	2.47	2.64	nd	nd	5.52	4.92	0.58	0.00	0.000	2.58	2.32	1.09	1.69	nd
Quercetina	$\bar{x}$	3.79	3.71	2.51	2.57	nd	nd	5.12	5.00	0.61	0.00	0.000	2.41	2.39	1.10	1.81	nd
	s	3.85	4.15	2.39	2.61	nd	nd	5.60	4.51	0.59	0.00	0.000	2.36	2.31	1.28	1.85	nd
Laricitrina	$\bar{x}$	3.91	3.83	2.46	2.61	nd	nd	5.41	4.81	0.60	0.00	0.000	2.45	2.34	1.16	1.78	nd
	s	0.153	0.284	0.061	0.035	0.000	0.000	0.257	0.263	0.015	0.000	0.000	0.115	0.044	0.107	0.083	nd
Quercetina	$\bar{x}$	0.267	0.578	0.267	0.527	0.127	0.127	0.441	0.905	0.534	0.765	0.388	nd	0.961	1.14	1.31	0.156
	s	0.252	0.631	0.235	0.477	0.099	0.099	0.440	0.891	0.560	0.786	0.375	nd	0.887	1.40	1.35	0.142
Quercetina	$\bar{x}$	0.229	0.602	0.281	0.485	0.097	0.097	0.399	0.892	0.484	0.846	0.364	nd	0.869	1.25	1.36	0.156
	s	0.249	0.604	0.261	0.496	0.108	0.108	0.427	0.896	0.526	0.799	0.376	nd	0.906	1.26	1.34	0.151
Quercetina	$\bar{x}$	0.019	0.027	0.024	0.027	0.017	0.017	0.024	0.008	0.039	0.042	0.012	nd	0.049	0.131	0.026	0.008
	s	1.99	5.59	3.57	4.89	2.60	2.60	2.65	6.56	3.88	5.50	2.82	0.886	2.97	2.44	3.09	2.17
Quercetina	$\bar{x}$	1.82	5.19	3.64	4.74	2.37	2.37	2.55	7.12	3.75	5.62	2.87	0.805	2.62	2.26	3.15	2.18
	s	1.95	5.86	3.43	4.97	2.33	2.33	2.81	6.55	3.69	6.11	2.92	0.930	2.66	2.62	3.13	2.11
Quercetina	$\bar{x}$	1.92	5.55	3.55	4.87	2.43	2.43	2.67	6.74	3.77	5.74	2.87	0.874	2.75	2.44	3.12	2.15
	s	0.089	0.337	0.107	0.117	0.146	0.146	0.131	0.326	0.097	0.323	0.050	0.063	0.192	0.180	0.031	0.038
Laricitrina	$\bar{x}$	nd	1.80	0.995	1.34	1.12	1.12	nd	1.94	1.280	1.42	1.14	nd	1.24	0.924	1.30	0.838
	s	nd	1.90	1.040	1.24	0.856	0.856	nd	2.19	1.250	1.44	0.980	nd	1.08	1.03	1.19	0.883
Laricitrina	$\bar{x}$	nd	1.93	1.020	1.29	0.857	0.857	nd	1.79	1.130	1.52	1.010	nd	1.28	0.849	1.25	0.792
	s	nd	1.88	1.018	1.29	0.944	0.944	nd	1.97	1.220	1.46	1.043	nd	1.20	0.934	1.25	0.838
Laricitrina	$\bar{x}$	nd	0.068	0.023	0.050	0.152	0.152	nd	0.202	0.079	0.053	0.085	nd	0.106	0.091	0.055	0.046
	s	nd	0.068	0.023	0.050	0.152	0.152	nd	0.202	0.079	0.053	0.085	nd	0.106	0.091	0.055	0.046

Tabla A.41. (Continuación). Evolución de flavonoles (mg/L) durante el proceso de estabilización en botella de vinos Merlot, Syrah y Tempranillo (valores, media y desviación estándar).

	Tras contacto con virutas de roble														
	Merlot				Syrah				Tempranillo						
	M0	M3	M6	M9	M12	M0	M3	M6	M9	M12	M0	M3	M6	M9	M12
Kaempferol-3-O-glucuronido + isorhametin-3-O-glucósido	$\bar{x}$	4.36	0.883	0.368	nd	nd	6.06	3.95	3.20	2.47	3.43	0.348	0.690	0.280	nd
	s	4.43	0.894	0.362	nd	nd	5.74	4.80	3.03	2.74	3.00	0.347	0.693	0.284	nd
Siringetin-3-O-glucósido	$\bar{x}$	4.23	0.792	0.354	nd	nd	5.62	5.81	2.85	2.62	2.92	0.379	0.707	0.245	nd
	s	4.34	0.856	0.361	nd	nd	5.81	4.86	3.03	2.61	3.12	0.358	0.697	0.270	nd
Miricetina	$\bar{x}$	0.101	0.056	0.007	nd	nd	0.227	0.932	0.175	0.135	0.274	0.018	0.009	0.021	nd
	s	4.34	4.03	2.33	2.06	nd	3.58	6.31	0.43	nd	nd	0.567	2.32	1.19	1.32
Quercetina	$\bar{x}$	4.44	4.03	2.61	2.07	nd	3.36	5.65	0.37	nd	nd	0.564	2.31	1.03	1.32
	s	4.17	3.76	2.28	2.08	nd	3.26	5.74	0.42	nd	nd	0.587	2.28	1.15	1.27
Laricitrina	$\bar{x}$	4.32	3.94	2.41	2.07	nd	3.40	5.90	0.41	nd	nd	0.573	2.30	1.12	1.30
	s	0.137	0.156	0.178	0.010	nd	0.164	0.358	0.033	nd	nd	0.013	0.021	0.083	0.029
Quercetina	$\bar{x}$	0.329	0.497	0.223	0.382	0.173	0.331	0.896	0.510	0.434	0.465	0.032	1.06	1.53	1.25
	s	0.323	0.479	0.215	0.334	0.146	0.301	0.803	0.520	0.520	0.474	0.031	1.12	1.13	1.34
Quercetina	$\bar{x}$	0.321	0.495	0.210	0.374	0.158	0.265	0.871	0.524	0.502	0.472	0.036	1.07	1.08	1.31
	s	0.324	0.490	0.216	0.363	0.159	0.299	0.857	0.518	0.485	0.470	0.033	1.08	1.25	1.30
Quercetina	$\bar{x}$	0.004	0.010	0.007	0.026	0.014	0.033	0.048	0.007	0.045	0.005	0.003	0.032	0.247	0.046
	s	2.92	4.15	1.86	2.25	2.54	2.86	5.85	3.94	3.50	2.46	0.304	2.45	2.23	2.80
Quercetina	$\bar{x}$	2.95	3.95	1.92	2.25	2.21	2.68	5.09	3.84	3.49	2.54	0.276	2.38	2.17	2.80
	s	2.77	3.97	1.83	2.12	2.46	2.73	5.02	3.84	3.63	2.48	0.285	2.31	2.40	2.86
Laricitrina	$\bar{x}$	2.88	4.02	1.87	2.21	2.40	2.76	5.32	3.87	3.54	2.49	0.288	2.38	2.27	2.82
	s	0.096	0.110	0.046	0.075	0.172	0.093	0.460	0.058	0.078	0.042	0.014	0.070	0.119	0.035
Laricitrina	$\bar{x}$	nd	1.07	0.878	0.724	0.969	nd	1.70	1.420	0.977	0.771	nd	0.769	0.934	1.14
	s	nd	0.999	0.845	0.683	0.701	nd	1.670	1.360	0.991	0.914	nd	0.901	0.790	1.02
Laricitrina	$\bar{x}$	nd	1.12	0.860	0.574	0.888	nd	1.68	1.200	1.020	0.784	nd	0.806	1.00	1.04
	s	nd	1.06	0.861	0.660	0.853	nd	1.68	1.327	0.996	0.823	nd	0.825	0.908	1.07
	s	nd	0.061	0.017	0.078	0.137	nd	0.015	0.114	0.022	0.079	nd	0.068	0.107	0.064



Tabla A.41. (Continuación). Evolución de flavonoles (mg/L) durante el proceso de estabilización en botella de vinos Merlot, Syrah y Tempranillo (valores, media y desviación estándar).

	Sin contacto con virutas de roble														
	Merlot				Syrah				Tempranillo						
	M0	M3	M6	M9	M12	M0	M3	M6	M9	M12	M0	M3	M6	M9	M12
Kaempferol	0.487	1.05	0.839	1.03	0.458	0.469	0.798	0.636	0.903	0.487	0.705	1.37	1.11	1.20	1.01
	0.541	1.06	0.843	0.962	0.432	0.507	0.902	0.639	0.949	0.469	0.729	1.23	1.11	1.19	1.01
	0.533	1.23	0.714	1.19	0.448	0.467	0.805	0.595	0.983	0.456	0.845	1.23	1.18	1.23	1.01
$\bar{x}$ s	0.520	1.11	0.799	1.06	0.446	0.481	0.835	0.623	0.945	0.471	0.760	1.28	1.13	1.21	1.01
	0.029	0.101	0.073	0.117	0.013	0.023	0.058	0.025	0.040	0.016	0.075	0.081	0.040	0.021	0.000
	0.507	3.90	1.89	2.91	0.927	1.50	9.53	4.68	5.63	2.48	nd	1.05	0.632	0.635	0.465
Isorhamnetina	0.534	3.66	1.89	2.25	0.903	1.40	10.1	4.48	5.64	2.52	nd	0.945	0.669	0.632	0.482
	0.500	4.04	1.80	2.45	0.895	1.57	9.38	4.49	4.65	2.53	nd	0.919	0.563	0.627	0.505
	0.514	3.87	1.86	2.54	0.908	1.49	9.67	4.55	5.31	2.51	nd	0.971	0.621	0.631	0.484
$\bar{x}$ s	0.018	0.192	0.052	0.338	0.017	0.085	0.380	0.113	0.569	0.026	nd	0.069	0.054	0.004	0.020
	nd	nd	0.404	0.526	0.348	nd	nd	1.14	0.551	0.585	nd	nd	0.515	0.382	0.240
	nd	nd	0.449	0.458	0.410	nd	nd	1.06	0.620	0.453	nd	nd	0.551	0.359	0.236
Siringetina	nd	nd	0.434	0.645	0.380	nd	nd	1.04	0.571	0.468	nd	nd	0.518	0.357	0.253
	nd	nd	0.429	0.543	0.379	nd	nd	1.08	0.581	0.502	nd	nd	0.528	0.366	0.243
	nd	nd	0.023	0.095	0.031	nd	nd	0.053	0.036	0.072	nd	nd	0.020	0.014	0.009

Tabla A.41. (Continuación). Evolución de flavonoles (mg/L) durante el proceso de estabilización en botella de vinos Merlot, Syrah y Tempranillo (valores, media y desviación estándar).

	Tras contacto con virutas de roble														
	Merlot				Syrah				Tempranillo						
	M0	M3	M6	M9	M12	M0	M3	M6	M9	M12	M0	M3	M6	M9	M12
Kaempferol	0.706	0.838	0.443	0.581	0.487	0.446	0.547	0.562	0.580	0.287	0.300	1.18	1.07	1.18	0.934
	0.698	0.731	0.387	0.540	0.453	0.419	0.544	0.587	0.594	0.326	0.274	1.17	1.04	1.15	0.875
	0.658	0.814	0.409	0.502	0.518	0.407	0.549	0.609	0.575	0.323	0.283	1.16	1.12	1.16	0.878
$\bar{x}$	0.687	0.794	0.413	0.541	0.486	0.424	0.547	0.586	0.583	0.312	0.286	1.17	1.08	1.16	0.896
s	0.026	0.056	0.028	0.040	0.033	0.020	0.003	0.024	0.010	0.022	0.013	0.010	0.040	0.015	0.033
Isorhamnetina	1.05	2.48	0.938	1.20	1.08	1.96	8.54	4.66	3.28	2.15	nd	0.535	0.562	0.590	0.474
	0.975	2.27	0.838	1.24	0.979	1.80	7.37	4.53	3.31	2.09	nd	0.496	0.500	0.560	0.479
	0.900	2.30	0.887	1.09	1.14	1.76	7.32	4.54	3.41	2.01	nd	0.526	0.548	0.602	0.475
$\bar{x}$	0.975	2.35	0.888	1.18	1.07	1.84	7.74	4.58	3.33	2.08	nd	0.519	0.537	0.584	0.476
s	0.075	0.114	0.050	0.078	0.081	0.106	0.690	0.072	0.068	0.070	nd	0.020	0.033	0.022	0.003
Siringetina	nd	0.510	0.733	0.323	0.349	nd	nd	0.803	0.468	0.357	nd	0.280	0.324	0.315	0.300
	nd	0.407	0.756	0.340	0.328	nd	nd	0.776	0.471	0.484	nd	0.260	0.266	0.328	0.308
	nd	0.474	0.731	0.303	0.350	nd	nd	0.878	0.521	0.503	nd	0.302	0.297	0.317	0.343
$\bar{x}$	nd	0.464	0.740	0.322	0.342	nd	nd	0.819	0.487	0.448	nd	0.281	0.296	0.320	0.317
s	nd	0.052	0.014	0.019	0.012	nd	nd	0.053	0.030	0.079	nd	0.021	0.029	0.007	0.023

Tabla A.42. Evolución de polímeros y polímeros coloreados (mg/L) durante el proceso de estabilización en botella de vinos Merlot, Syrah y Tempranillo (valores, media y desviación estándar).

	Sin contacto con virutas de roble														
	Merlot				Syrah				Tempranillo						
	M0	M3	M6	M9	M12	M0	M3	M6	M9	M12	M0	M3	M6	M9	M12
Polímeros	556.9	633.5	495.8	443.0	97.0	452.4	499.4	536.5	373.8	160.7	477.1	691.4	509.8	486.3	91.7
	544.8	597.1	538.1	447.0	99.0	384.3	476.2	523.6	324.3	161.4	501.6	676.2	491.4	475.2	109.7
	534.8	611.0	505.8	445.2	103.1	388.2	484.1	505.9	370.3	150.2	511.5	706.6	46.5	493.9	97.5
$\bar{x}$	545.5	613.9	513.2	445.1	99.7	408.3	486.6	522.0	356.1	157.4	496.7	691.4	349.2	485.1	99.6
s	11.1	18.4	22.1	2.00	3.11	38.2	11.8	15.4	27.6	6.27	17.7	15.2	262.3	9.40	9.19
Polímeros coloreados	24.6	43.7	36.7	31.9	5.20	26.2	39.6	37.3	22.6	7.23	27.4	29.9	24.3	19.5	4.60
	25.7	38.2	35.6	32.6	5.13	24.3	36.5	38.1	18.8	7.40	26.8	39.6	24.6	15.3	4.63
	24.7	43.4	36.5	32.4	5.34	23.8	32.8	33.5	21.2	6.81	27.8	42.1	21.8	15.6	4.90
$\bar{x}$	25.0	41.8	36.3	32.3	5.22	24.8	36.3	36.3	20.9	7.15	27.3	37.2	23.6	16.8	4.71
s	0.608	3.09	0.586	0.361	0.107	1.27	3.40	2.46	1.92	0.304	0.503	6.44	1.54	2.34	0.165

Tabla A.42. (Continuación). Evolución de polímeros y polímeros coloreados (mg/L) durante el proceso de estabilización en botella de vinos Merlot, Syrah y Tempranillo (valores, media y desviación estándar).

	Tras contacto con virutas de roble														
	Merlot				Syrah				Tempranillo						
	M0	M3	M6	M9	M12	M0	M3	M6	M9	M12	M0	M3	M6	M9	M12
Polímeros	569.5	711.3	364.3	412.1	152.6	332.0	344.0	329.2	330.5	201.4	613.3	732.0	458.3	426.4	168.7
$\bar{x}$	513.6	660.0	443.7	395.0	150.2	315.1	346.6	321.1	350.2	254.8	550.2	878.8	448.7	428.4	173.2
s	544.6	679.0	415.4	469.9	149.7	330.8	350.6	332.3	319.6	276.7	547.8	837.4	470.6	417.1	163.2
Polímeros coloreados	542.6	683.4	407.8	425.7	150.8	326.0	347.1	327.5	333.4	244.3	570.4	816.1	459.2	424.0	168.4
$\bar{x}$	28.0	25.9	40.2	39.2	1.55	9.43	3.32	5.78	15.5	38.7	37.1	75.7	11.0	6.03	5.01
s	24.2	45.6	32.8	35.4	7.38	17.1	38.2	17.8	18.2	11.70	35.7	36.7	22.0	13.7	8.90
Polímeros coloreados	25.7	43.6	31.4	33.7	7.32	16.5	36.2	18.0	18.5	12.40	34.0	37.7	24.0	13.8	7.58
$\bar{x}$	25.8	47.8	35.9	34.5	7.37	21.6	36.6	17.8	18.7	13.70	35.3	39.1	25.1	15.1	7.54
s	25.2	45.7	33.4	34.5	7.36	18.4	37.0	17.9	18.5	12.60	35.0	37.8	23.7	14.2	8.01
	0.896	2.10	2.30	0.850	0.032	2.79	1.06	0.115	0.252	1.01	0.889	1.21	1.57	0.781	0.774

Tabla A.43. Absorbancias a 420, 520 y 620 nm (u.a.) de los vinos tintos dulces comerciales (valores, media y desviación estándar).

	Vino 1	Vino 2
A <sub>420</sub>	9.06	5.81
	9.03	5.84
	9.10	5.83
$\bar{x}$	9.06	5.83
s	0.036	0.015
A <sub>520</sub>	3.09	2.39
	3.08	2.40
	3.14	2.40
$\bar{x}$	3.10	2.40
s	0.030	0.007
A <sub>620</sub>	1.00	0.790
	1.01	0.786
	1.04	0.797
$\bar{x}$	1.02	0.791
s	0.019	0.006

Tabla A.44. Valores de los parámetros CIELAB  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $L^*$ ,  $h_{ab}$ ,  $L^*$ ,  $h_{ab}$  y  $C^*_{ab}$  (unidades CIELAB) de los vinos tintos dulces comerciales (valores, media y desviación estándar).

	Vino 1	Vino 2
$a^*$	38.9 38.6 38.0	40.2 40.5 40.0
$\bar{x}$ s	38.5 0.451	40.2 0.247
$b^*$	29.7 29.4 28.1	41.7 41.8 41.3
$\bar{x}$ s	29.1 0.839	41.6 0.283
$L^*$	17.3 17.1 16.3	24.4 24.5 24.2
$\bar{x}$ s	16.9 0.488	24.4 0.165
$h_{ab}$	37.4 37.3 36.5	46.1 45.9 45.9
$\bar{x}$ s	37.0 0.486	46.0 0.088
$C^*_{ab}$	49.0 48.5 47.3	57.9 58.2 57.5
$\bar{x}$ s	48.2 0.861	57.9 0.364

Tabla A.45. Valores de los parámetros color total de pigmentos, color de pigmentos poliméricos e índice de polifenoles totales (u.a.) y de la concentración de taninos totales (g/L) de los vinos tintos dulces comerciales (valores, media y desviación estándar).

	Vino 1	Vino 2
WCA	2.02	3.42
	2.02	2.97
	2.31	2.99
$\bar{x}$	2.11	3.13
	0.169	0.253
PPC	2.73	2.13
	2.75	2.22
	2.71	2.19
$\bar{x}$	2.73	2.18
	0.018	0.046
IPT	93.7	77.0
	92.5	74.8
	97.3	73.3
$\bar{x}$	94.5	75.0
	2.50	1.85
Taninos totales	22.5	15.0
	22.3	15.0
	21.9	15.8
$\bar{x}$	22.2	15.3
	0.280	0.434

Tabla A.46. Concentración de ácidos hidroxibenzoicos (mg/L) de los vinos tintos dulces comerciales (valores, media y desviación estándar).

	Vino 1	Vino 2
Ácido gálico	21.4	16.2
	27.1	18.0
	25.1	17.7
$\bar{x}$	24.5	17.3
s	2.89	0.964
Ácido protocatéquico	31.9	nd
	31.6	nd
	31.4	nd
$\bar{x}$	31.6	nd
s	0.252	nd
Ácido vanílicico	10.2	12.5
	11.1	10.1
	12.0	10.5
$\bar{x}$	11.1	11.0
s	0.900	1.29
Ácido siríngico	22.5	16.4
	22.2	16.6
	25.1	16.2
$\bar{x}$	23.3	16.4
s	1.59	0.200



Tabla A.46. Concentración de ácidos hidroxicinámicos (mg/L) de los vinos tintos dulces comerciales (valores, media y desviación estándar).

	Vino 1	Vino 2
Ácido cafeico	3.94 4.47 4.30	3.91 4.05 3.08
$\bar{x}$ s	4.24 0.271	3.68 0.524
Ácido <i>p</i> -cumárico	5.60 5.98 6.15	3.34 2.94 2.55
$\bar{x}$ s	5.91 0.282	2.94 0.395
Ácido ferúlico	0.520 0.573 0.427	nd nd nd
$\bar{x}$ s	0.507 0.074	nd nd

Tabla A.47. Concentración de los ésteres tartáricos de los ácidos hidroxicinámicos (mg/L) de los vinos tintos dulces comerciales (valores, media y desviación estándar).

	Vino 1	Vino 2		Vino 1	Vino 2
Ácido c-caftárico	4.36	3.92	Ácido t-cutárico	4.47	3.91
	4.64	3.93		4.41	4.13
$\bar{x}$	4.38	3.79	$\bar{x}$	4.28	3.64
	4.46	3.88		4.39	3.89
s	0.156	0.078	s	0.097	0.245
	nd	6.40		1.64	1.53
Ácido t-caftárico	nd	7.29	Ácido c-fertárico	2.11	1.66
	nd	6.36		2.01	1.41
$\bar{x}$	nd	6.68	$\bar{x}$	1.92	1.53
	nd	0.526		0.248	0.125
Ácido c-cutárico	4.03	3.90	Ácido c-fertárico	1.06	1.51
	4.09	3.38		1.38	1.12
$\bar{x}$	4.08	3.26	$\bar{x}$	0.971	1.436
	4.07	3.51		1.14	1.36
s	0.032	0.340	s	0.215	0.207

Tabla A.48. Concentración de derivados del flavan-3-ol (mg/L) de los vinos tintos dulces comerciales (valores, media y desviación estándar).

	Vino 1	Vino 2
(+)-Catequina	1.78	1.57
	1.56	1.59
	1.65	1.62
$\bar{x}$	1.66	1.59
s	0.111	0.025
(-)-Epicatequina	4.54	nd
	4.60	nd
	4.76	nd
$\bar{x}$	4.63	nd
s	0.114	nd
Procianidinas B2 + B4	4.12	3.90
	3.68	3.46
	4.05	3.09
$\bar{x}$	3.95	3.64
s	0.236	0.406
B2-3-O-galato	9.77	10.8
	9.53	10.1
	9.53	9.97
$\bar{x}$	9.61	10.3
s	0.139	0.446

Tabla A.49. Concentración de flavonoles (mg/L) de los vinos tintos dulces comerciales (valores, media y desviación estándar).

	Vino 1	Vino 2		Vino 1	Vino 2
Miricetina	nd	0.050	Kaempferol	0.275	0.627
	nd	0.043		0.258	0.558
	nd	0.038		0.261	0.661
$\bar{x}$	nd	0.044	$\bar{x}$	0.265	0.615
s	nd	0.006	s	0.009	0.052
Quercetina	0.736	1.92	Isorhammetina	0.497	0.585
	0.694	1.89		0.415	0.501
	0.827	1.97		0.467	0.629
$\bar{x}$	0.752	1.93	$\bar{x}$	0.460	0.572
s	0.068	0.040	s	0.041	0.065
Laricitrina	0.293	0.472	Siringetina	0.608	0.263
	0.229	0.437		0.545	0.243
	0.259	0.503		0.611	0.264
$\bar{x}$	0.260	3.64	$\bar{x}$	0.588	0.257
s	0.032	0.033	s	0.037	0.012

Tabla A.50. Concentración de polímeros y polímeros coloreados (mg/L) de los vinos tintos dulces comerciales (valores, media y desviación estándar).

	Vino 1	Vino 2
Polímeros	82.6	91.5
	82.6	95.1
	82.6	112.8
$\bar{x}$	82.6	99.8
s	0.003	11.4
Polímeros coloreados	4.37	4.19
	4.77	4.87
	3.19	4.69
$\bar{x}$	4.11	4.58
s	0.821	0.352

## *Anexo 2. Trabajos publicados*

---



# Changes in Hydrophilic and Lipophilic Antioxidant Activity in Relation to their Phenolic Composition during the Chamber Drying of Red Grapes at a Controlled Temperature

María P. Serratosa, Ana Marquez, Azahara Lopez-Toledano, Manuel Medina, and Julieta Merida\*

Department of Agricultural Chemistry, Faculty of Sciences, University of Cordoba, Edificio Marie Curie, Campus de Rabanales, E-14014, Cordoba, Spain

**ABSTRACT:** The purpose of this work was to study the variation of phenol compounds, as measured by HPLC, during the chamber drying under controlled temperature conditions of red grapes of the Merlot and Tempranillo varieties in relation to antioxidant activity. Both lipophilic and hydrophilic antioxidant activities in these grapes increased during the drying process; the former was measured via proton transfer in the coupled oxidation reaction between linoleic acid and  $\beta$ -carotene, and the second via electron transfer in the DPPH assay. The hydrophilic component was invariably greater in Tempranillo grapes, and so was the lipophilic component in Merlot grapes. Only the increase in hydrophilic antioxidant activity obtained a significant correlation with the phenolic compounds during the drying process. However, based on the phenolic fraction analysis, this result was primarily due to phenolic polymers and, to a lesser extent, also to phenolic acids, flavans, and some flavonols and anthocyanins.

**KEYWORDS:** red grapes, grape drying, antioxidant activity, phenolic compounds

## INTRODUCTION

Phenol compounds, which are among secondary plant metabolites, occur naturally in fruits and vegetables and are essential ingredients for the human diet. Grapes are highly appreciated for their high content in phenolic compounds, which contribute to the quality, color stability and sensory properties of table grapes and raisins as well as to those of wines made from them. The concentration of phenols in grapes depends on the particular variety, as well as on environmental factors and cultivation practices. As a rule, phenol compounds tend to accumulate in grape skins and seeds, but can also be found in grape pulp. Specifically, phenolic acids occur mainly in pulp, whereas flavonoid compounds usually concentrate in skins, seeds, and bunch stems.<sup>1</sup> The white grape skins abound with flavans, proanthocyanidins and hydroxycinnamic acids.<sup>2</sup> The red grape varieties also include anthocyanins and flavonols.<sup>3</sup> Interest in phenol compounds has grown substantially in recent years by virtue of their well-known healthy effects. Thus, the biological activity of these compounds has been examined in studies about their ability to inhibit the oxidation of low-density human lipoproteins,<sup>4</sup> their antioxidant properties and radioprotective effects,<sup>5</sup> and their ability to prevent cataracts,<sup>6</sup> neurodegenerative diseases, cardiovascular disturbances and cancer.<sup>7</sup>

Raisins are among the natural products containing the greatest amounts of phenol compounds, possessing the highest antioxidant activity. The phenol composition of raisins has been the subject of various studies<sup>8,9</sup> assessing their antioxidant properties and their relationship to phenols.<sup>10,11</sup>

The antioxidant activity in wine, grapes and raisins has been assessed with methods based on various reactions, both *in vitro* and *in vivo*. The *in vitro* assays used for this purpose are usually based on electron transfer reactions such as those exposing free-radical scavenging activity on ABTS<sup>11,12</sup> or on DPPH.<sup>13–15</sup> The *in vitro* assays also determine the reducing power (FRAP);<sup>14,15</sup> or

the copper reduction (CUPRAC). Other alternative assays are based on proton transfer reactions and include the total peroxyl radical-trapping antioxidant (TRAP) assay, the oxygen radical absorbance capacity (ORAC) assay<sup>13</sup> and the coupled oxidation reaction between linoleic acid and  $\beta$ -carotene in a lipophilic medium.<sup>16</sup>

Lipophilic and hydrophilic assays provide complementary information.<sup>16</sup> The lipophilic assays are less effective with water-soluble compounds, although they are similar to the biological conditions. Hydrophilic assays are better to evaluate the antioxidant activity of compounds such as anthocyanins.<sup>17</sup> The linoleic acid/ $\beta$ -carotene assay is based on proton-transfer mechanisms and is especially relevant to the removal of free radicals *in vivo*. The DPPH assay measure the ability of antioxidants in wine to capture free radicals via electron-transfer mechanisms, which generates free radicals that are extraneous to the body.<sup>16</sup>

The drying process of grapes is traditionally used to obtain sweet wines. This process, used in southern Spain and Italy, is based on direct exposure of bunches to the sun or to the air. However, these processes are very dependent on weather conditions each year. In addition, these methods have risks due to attack by insects and fungi that produce phytotoxins. Therefore, in recent years various methods of drying chamber under controlled conditions have been developed, which show some interesting advantages against the traditional sun-drying of grapes. Principally, the drying time is shortened and chamber-drying allows selection of grapes at a higher ripening degree and more independent of the particular climatic conditions of

**Received:** November 2, 2010

**Accepted:** January 19, 2011

**Revised:** January 14, 2011



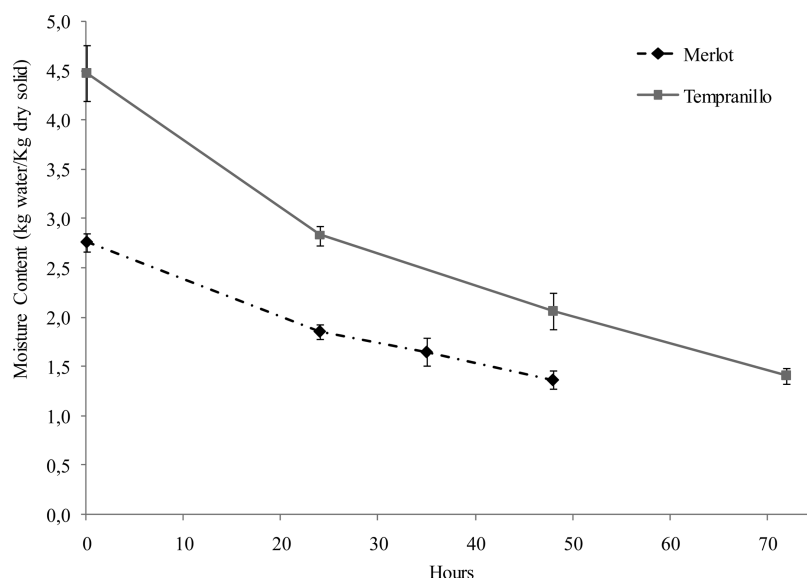


Figure 1. Drying curves of Merlot and Tempranillo grapes dried at 40 °C.

the year. Certainly, good quality raisins can be obtained from low ripeness grapes if dehydrated artificially, due to instantly stopping cellular respiration, in comparison with sun dried raisins.<sup>18</sup>

During grape dehydration, an increase in brown color of raisins takes place due to pigments formed by the effect of the enzymatic and nonenzymatic reactions.<sup>8</sup> Several phenolic compounds are well-known substrates for oxidative enzymes such as polyphenoloxidase (PPO) that catalyzes the oxidation of phenolic compounds to quinones in the presence of molecular oxygen, subsequently evolving to brown pigments (melanins). The Maillard reaction is faster with increasing temperatures (especially above 50 °C), and it is favored by pH values over the range 4–7, which are quite usual in foods.<sup>19</sup>

It is difficult to evaluate the contribution of each pathway to the browning of the grapes used in the production of sweet wines. On one hand, some authors<sup>20</sup> have pointed out that at the end of the ripening, and during drying, the grapes contain high concentrations of sugars that may inhibit the browning action of polyphenoloxidase, thereby gradually reducing the contribution of the enzymatic pathway as raising progresses. On the other hand, the raising temperature and the gradual decreasing of water activity of grapes can facilitate the progress of the Maillard reactions, leading to the formation of colored polymers of a high molecular weight.<sup>21</sup> Additionally, during drying at 40 °C the phenolic compounds (particularly anthocyanins) gradually become more strongly colored polymeric pigments. Mazza and Maniati<sup>22</sup> found that the pH and the presence of oxygen, acetaldehyde, sulfur dioxide and copigment-forming molecules facilitate these reactions. In addition, these reactions may be favored by the drying temperature since other authors<sup>23</sup> previously found the fermentation temperature to be a critical trigger for the polymer pigment formation reactions.

In this work, we studied the variation of the phenolic composition of red grapes of the Merlot and Tempranillo varieties during their chamber drying at a controlled temperature in relation to their antioxidant activity. Hydrophilic antioxidant activity was measured via the DPPH assay and its lipophilic assay via the linoleic acid/ $\beta$ -carotene coupled oxidation reaction.

The chamber-drying of red grape varieties under controlled conditions is a step in the elaboration of sweet red wines. This is intended to facilitate the diversification of the current supply of Andalusian red wines with a new one by introducing a nontraditional wine capable of reaching a market niche similar to that of Pedro Ximenez sweet white wine.

## MATERIALS AND METHODS

**Reagents.** Anthocyanins (malvidin-3-*O*-glucoside chloride), phenolic acids (gallic, protocatechuic, *p*-OH-benzoic, vanillic, syringic, caffeic, *p*-coumaric, ferulic), catechins ((+)-catechin), Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid), DPPH (2,2-diphenylpicrylhydrazyl),  $\beta$ -carotene, Tween 40 and linoleic acid were purchased from Sigma-Aldrich Chemical Co. (Madrid, Spain). Flavonols (quercetin, quercetin-3-glucoside, kaempferol, kaempferol-3-rutinoside, kaempferol-3-glucoside, myricetin, isorhamnetin, isorhamnetin-3-glucoside) were obtained from Extrasynthese (Genay, France). Methanol, ethanol, formic acid, chloroform, hydrochloric acid, ethyl acetate, acetonitrile and purified water were purchased from Merck (Madrid, Spain).

**Grape Drying.** The material used in this study consisted of Tempranillo and Merlot grapes from the Montilla-Moriles region (southern Spain). For each variety was selected an area of 5 × 5 vines for harvesting grapes in 2009. An amount of about 15 kg of grapes was uniformly distributed in several trays and allowed to dry in a Frisol Climatronic chamber at an air temperature of 40 °C and a constant relative humidity of ca. 20%. All drying tests were done in triplicate. During the drying process, appropriate samples of the two grape varieties were withdrawn for the measurement of their weight loss and content in reducing sugars. Drying was stopped when the sugar content fell below 325 g/L approximately. Once in the laboratory, the whole bunches of raisins were pressed on a vertical press similar to industrial models. The maximum pressure reached in each pressing cycle was 300 bar, and each raisin batch was pressed in two cycles. Without skin maceration, the percentage of must obtained was 35 and 25% (volume/weight) for Tempranillo and Merlot respectively, which was centrifuged at 3000 rpm for analysis.

**Extraction of Phenolic Compounds.** A volume of 2 mL of must was passed through a Sep-Pak C18 cartridge, with 900 mg of filling

(Long Body Sep-Pak Plus; Waters Associates; Milford, MA) that was previously activated with 10 mL of methanol and 10 mL of HCl 0.01% in water. The cartridge was eluted with 10 mL of HCl 0.01% in water. This volume in addition to the volume obtained as a result of the sample run-through prior to the elution was used for the determination of phenolic acids, esters and flavan-3-ol fraction (fraction 1). The flavonol fraction was eluted with 5 mL of ethyl acetate (fraction 2). The anthocyanin fraction and polymers was eluted with 5 mL of methanol (fraction 3). These three collected fractions were concentrated and passed through a filter of 0.45  $\mu\text{m}$  pore size for injection into a Spectra-Physics (San Jose, CA) P4000 HPLC instrument. All the fractions were concentrated on a rotary evaporator to 2 mL.

**Identification and HPLC Analysis.** The identification of the phenolic compounds was achieved by comparison of the retention times of the standards, UV spectra obtained by diode array HPLC (Spectra-Physics UV6000LP) and calculation of UV absorbance ratios after coinjection of samples and standards one at a time. Peak-height comparison was based on the results of samples with and without the standard. The identification of compounds was confirmed by HPLC/ESI-MS analysis (TermoQuest Finnigan AQA quadrupole mass spectrometer). The instrument was operated in both the negative ion and positive ion modes. The ion spray voltage was  $-4$  kV and the orifice voltage  $-60$  V. Mass data were acquired in two different ways, namely, in the scan mode (by scanning the  $m/z$  range 150–1066 at 1.2 intervals) and in the multiple ion mode (by using mass ranges around specific  $m/z$  values). Caftaric and coumaric acids were isolated by the method described by Singleton et al.<sup>24</sup> The purity of standards was 95–99%. Each compound was quantified by comparison with a calibration curve obtained with the corresponding standard, except the caftaric, coumaric and ferulic acid, which were quantified as caffeic, *p*-coumaric and ferulic acid, respectively, and procyanidins, which were quantified as catechin. Anthocyanins were quantified as malvidin-3-glucoside. The fraction of polymers has been mostly identified as anthocyanin compounds of high molecular weight by its absorption at 520 nm, but it may include other compounds belonging to other phenolic families.

The column used in the analyses was a 250 mm  $\times$  4.6 mm i.d., 5  $\mu\text{m}$ , LiChrospher 100 RP-18, using 10% aqueous formic acid (A) and acetonitrile/formic acid/H<sub>2</sub>O (45:45:10) (B) as mobile phases at a flow rate of 1 mL/min.

The elution phases and detection were as follows.

- Fraction 1: gradient elution from 5 to 10% B in 35 min, gradient elution up to 20% B in 10 min, gradient elution up to 30% B in 10 min, gradient elution up to 100% CH<sub>3</sub>CN in 10 min, and isocratic elution for 10 min; detection at 280 nm for quantification of phenolic acids and flavan-3-ol and 315 nm for quantification of esters of hydroxycinnamic acid;
- Fraction 2: gradient elution from 5 to 30% B in 5 min, gradient elution up to 40% B in 14 min, gradient elution up to 80% B in 11 min, gradient elution up to 100% CH<sub>3</sub>CN in 1 min, and isocratic elution for 10 min; detection at 360 nm for quantification of flavonols;
- Fraction 3: gradient elution from 15 to 30% B in 17 min, gradient elution up to 73% B in 28 min, gradient elution up to 100% B in 3 min, and isocratic elution for 10 min;
- Polymer fraction: gradient elution from 5 to 10% B in 5 min, gradient elution up to 20% B in 10 min, gradient elution up to 30% B in 10 min, gradient elution up to 100% B in 15 min, and isocratic elution for 10 min; detection at 520 nm for quantification of anthocyanins and 280 nm for quantification of polymers fractions.

**Determination of Antioxidant Activity.** Antioxidant activity was analyzed in the musts obtained during the drying of the Merlot and Tempranillo grapes and in the previous cited fraction through two methods:

**DPPH Assay.** The ability of the musts to scavenge free radicals was determined according to Alen-Ruiz et al.<sup>16</sup> For this purpose, a 45 mg/L solution of DPPH (2,2-diphenylpicrylhydrazyl) in methanol was prepared on a daily basis and stored in the dark. All musts were diluted 10 times with a solution containing 12% ethanol in water prior to analysis. A 80 mg/L solution of Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid) (a vitamin E analogue) was used as a standard. The analytical procedure was as follows: a 200  $\mu\text{L}$  aliquot of diluted must was placed in a cell to which 3 mL of a 45 mg/L solution of DPPH in methanol was then added. A blank (200  $\mu\text{L}$  dilution sample + 3 mL methanol), a control sample (200  $\mu\text{L}$  of 12% ethanol in water + 3 mL of DPPH solution) and a Trolox standard (200  $\mu\text{L}$  of Trolox solution + 3 mL of DPPH solution) were also prepared in parallel. Following vigorous stirring, the absorbances at 517 nm of the control sample and blank were measured on a Perkin-Elmer Lambda 25 spectrophotometer. The sample and the Trolox standard were measured under identical conditions after 10 min of incubation at room temperature. All samples were analyzed in triplicate. The results, expressed in millimoles of Trolox (mmol TE) per liter, were calculated as follows:

$$\text{antioxidant activity of sample (mmol TE/L)}$$

$$= (0.32A_1 \times \text{wine dilution factor})/A_2$$

$$A_1 = \text{absorbance}_{\text{control}(t=0)} - \text{absorbance}_{\text{sample}}$$

$$A_2 = \text{absorbance}_{\text{control}(t=0)} - \text{absorbance}_{\text{standard}(t=0)}$$

$$A_{\text{sample}} = \text{absorbance}_{\text{sample}(t=10)} - \text{absorbance}_{\text{blank}(t=0)}$$

**Linoleic Acid/ $\beta$ -Carotene Coupled Oxidation Reaction.** Antioxidant activity in the musts was assessed with the  $\beta$ -carotene linoleate model system.<sup>17</sup> For this purpose, a solution of  $\beta$ -carotene was prepared by dissolving 2 mg of the compound in 10 mL of chloroform. A 2.5 mL aliquot of the solution was placed in a 100 mL round-bottom flask and supplied with 60 mg of linoleic acid and 400 mg of Tween 40 as emulsifier. Following the vacuum removal of the chloroform, the flask was filled with 100 mL of aerated distilled water and stirred vigorously. Then, several cells were filled with 3 mL of emulsion containing a 200  $\mu\text{L}$  aliquot of must diluted to a variable extent with 12% of ethanol in distilled water. A control sample was also prepared in parallel. Absorbance measurements (470 nm) were made at  $t = 0$  and after incubation at 50  $^{\circ}\text{C}$  for 60 min. Antioxidant activity was expressed as the percent of inhibition with respect to the control sample and calculated as follows:

$$\% \text{inhibition} = (\Delta A_{\text{control}} - \Delta A_{\text{sample}}) / \Delta A_{\text{control}} \times 100$$

where

$$\Delta A_{\text{control}} = A_{\text{control}(t=0)} - A_{\text{control}(t=60)}$$

$$\Delta A_{\text{sample}} = A_{\text{sample}(t=0)} - A_{\text{sample}(t=60)}$$

Antioxidant activity was estimated from the slopes of the linear portions of the regression curves obtained by plotting the percent of inhibition against the must volume. The highest slope corresponded the highest antioxidant activity.

**Statistical Procedures.** The results for all samples were subjected to triplicate simple regression analysis and variance analyses (ANOVA) by using the Statgraphics Computer Package v. 5.0 from Statistical Graphics Corp.

**Table 1. Concentrations (mg/L) of Phenolic Compounds (Means and Standard Deviations) of Musts Obtained During Grape Drying and Homogeneous Groups**

	Merlot			Tempranillo			
	0 h	24 h	48 h	0 h	24 h	48 h	72 h
Phenolic Acids							
gallic acid	1.27 ± 0.026 a	2.03 ± 0.180 b	3.82 ± 0.081 c	1.06 ± 0.006 a	1.98 ± 0.015 b	4.88 ± 0.630 c	13.53 ± 0.115 d
protocatechuic acid	1.91 ± 0.101 a	2.15 ± 0.428 a	2.02 ± 0.251 a	1.32 ± 0.099 b	0.546 ± 0.103 a	2.67 ± 0.604 c	3.36 ± 0.175 d
<i>p</i> -OH-benzoic acid	0.630 ± 0.077 a	1.09 ± 0.161 b	1.25 ± 0.090 b	nd	nd	nd	nd
vanillic acid	nd	2.05 ± 0.050	3.03 ± 0.224	nd	nd	0.91 ± 0.114 a	0.87 ± 0.065 a
syringic acid	1.04 ± 0.118 a	0.940 ± 0.107 a	1.37 ± 0.129 b	nd	nd	0.44 ± 0.040 a	0.37 ± 0.033 a
<i>o</i> -coumaric acid	0.070 ± 0.010 a	0.100 ± 0.009 a	0.070 ± 0.011 a	nd	nd	0.22 ± 0.022 a	0.38 ± 0.050 b
<i>p</i> -coumaric acid	0.540 ± 0.013 a	0.580 ± 0.022 a	0.590 ± 0.019 a	nd	0.56 ± 0.014	0.58 ± 0.018 a	0.58 ± 0.010 a
total	5.46 ± 0.111 a	8.95 ± 0.367 b	12.1 ± 0.591 c	2.44 ± 0.158 a	3.08 ± 0.132 b	9.70 ± 0.233 c	19.1 ± 0.350 d
Esters							
<i>c</i> -caftaric acid	0.630 ± 0.079 a	0.810 ± 0.046 b	0.850 ± 0.040 b	0.620 ± 0.013 a	0.62 ± 0.004 a	0.71 ± 0.054 b	0.96 ± 0.025 c
<i>t</i> -caftaric acid	1.18 ± 0.036 b	1.04 ± 0.101 ab	0.910 ± 0.141 a	1.57 ± 0.107 c	0.85 ± 0.005 a	1.60 ± 0.050 c	1.14 ± 0.010 b
<i>c</i> -coutaric acid	0.580 ± 0.024 a	0.620 ± 0.013 b	0.630 ± 0.025 b	1.23 ± 0.015 c	1.08 ± 0.010 b	1.03 ± 0.064 b	0.87 ± 0.035 a
<i>t</i> -coutaric acid	0.530 ± 0.004 a	0.630 ± 0.028 b	0.810 ± 0.065 c	0.880 ± 0.012 c	0.86 ± 0.004 c	0.71 ± 0.017 a	0.77 ± 0.013 b
<i>c</i> -feftaric acid	0.490 ± 0.019 c	0.310 ± 0.009 b	0.220 ± 0.040 a	1.27 ± 0.067 b	1.00 ± 0.014 a	1.23 ± 0.025 b	0.99 ± 0.082 a
<i>t</i> -feftaric acid	0.090 ± 0.022 a	0.110 ± 0.017 b	0.130 ± 0.041 c	0.060 ± 0.016 a	0.17 ± 0.025 b	0.21 ± 0.013 c	0.25 ± 0.016 d
total	3.49 ± 0.081 a	3.51 ± 0.023 a	3.56 ± 0.176 a	5.64 ± 0.197 c	4.57 ± 0.026 a	5.49 ± 0.101 c	4.98 ± 0.062 b
Flavans							
(+)-catechin	5.71 ± 0.067 a	11.3 ± 0.096 b	10.5 ± 0.092 b	3.99 ± 0.537 a	10.69 ± 1.13 b	15.10 ± 1.42 c	13.26 ± 0.635 c
(-)-epicatechin	14.3 ± 0.306 a	38.2 ± 1.25 c	57.2 ± 0.577 c	44.9 ± 1.50 a	43.63 ± 0.423 a	81.47 ± 0.451 b	75.23 ± 2.95 c
procyanidin B1	3.00 ± 0.096 a	10.7 ± 1.31 b	5.38 ± 0.465 b	21.1 ± 0.378 a	35.15 ± 0.071 b	37.40 ± 1.56 b	19.97 ± 0.635 a
procyanidin B2 + B4	4.69 ± 0.121 b	6.55 ± 0.102 a	4.19 ± 0.357 a	7.84 ± 0.555 a	9.76 ± 0.784 b	11.47 ± 0.252 c	11.83 ± 1.07 c
epigallocatechin gallate	0.440 ± 0.051 c	0.140 ± 0.050 b	0.330 ± 0.004 b	0.270 ± 0.052 a	0.55 ± 0.041 b	0.398 ± 0.050 ab	0.391 ± 0.015 ab
epicatechin gallate	0.640 ± 0.034 a	1.78 ± 0.311 a	0.850 ± 0.060 a	0.150 ± 0.005 a	0.64 ± 0.037 a	1.91 ± 0.085 b	2.93 ± 0.042 b
total	28.8 ± 0.926 a	68.8 ± 2.21 b	78.4 ± 1.86 c	77.7 ± 3.01 a	96.3 ± 8.24 b	144 ± 4.97 d	123 ± 1.62 c
Flavonols							
quercetin-3-glucoside	1.82 ± 0.012 a	2.43 ± 0.021 b	4.32 ± 0.121 c	0.55 ± 0.005 a	2.49 ± 0.040 b	4.32 ± 0.129 d	3.05 ± 0.036 c
kaempferol-3-rutinoside	0.15 ± 0.016 a	0.36 ± 0.006 c	0.33 ± 0.013 b	0.22 ± 0.003 a	0.67 ± 0.082 c	0.99 ± 0.016 d	0.38 ± 0.009 b
kaempferol-3-glucoside	0.30 ± 0.015 a	0.67 ± 0.004 b	0.82 ± 0.014 c	0.43 ± 0.003 a	3.06 ± 0.235 c	2.15 ± 0.062 b	1.98 ± 0.071 b
myricetin	0.02 ± 0.002 a	0.10 ± 0.002 b	0.16 ± 0.007 c	0.01 ± 0.002 a	0.07 ± 0.011 c	0.14 ± 0.007 d	0.04 ± 0.006 b
isorhamnetin-3-glucoside	0.58 ± 0.009 a	2.37 ± 0.012 b	4.95 ± 0.197 c	0.16 ± 0.004 a	1.53 ± 0.047 c	1.35 ± 0.051 b	1.34 ± 0.006 b
quercetin	nd	nd	0.78 ± 0.135 a	nd	0.23 ± 0.013 a	0.39 ± 0.015 b	0.65 ± 0.025 c
kaempferol	nd	0.14 ± 0.004 a	0.29 ± 0.013 b	nd	0.17 ± 0.003 a	0.24 ± 0.004 b	0.38 ± 0.011 c
isorhamnetin	nd	nd	0.22 ± 0.021 a	nd	nd	0.02 ± 0.003 a	0.06 ± 0.002 b
total	3.83 ± 0.032 a	8.67 ± 0.055 b	14.2 ± 0.481 c	1.72 ± 0.014 a	10.7 ± 0.252 b	14.2 ± 0.403 c	10.5 ± 0.182 b
Anthocyanin-3-glucosides							
delphinidin-3-glucoside	3.11 ± 0.091 a	7.49 ± 0.272 c	5.92 ± 0.181 b	2.15 ± 0.006 a	16.3 ± 0.651 d	11.3 ± 0.404 c	7.58 ± 0.123 b
cyanidin-3-glucoside	4.06 ± 0.150 a	6.97 ± 0.182 c	6.11 ± 0.150 b	3.17 ± 0.057 a	7.28 ± 0.169 d	6.68 ± 0.229 c	5.34 ± 0.074 b
petunidin-3-glucoside	3.86 ± 0.802 a	12.4 ± 1.803 c	9.64 ± 2.27 b	2.52 ± 0.010 a	25.2 ± 0.709 d	19.0 ± 0.862 c	11.4 ± 0.100 b
peonidin-3-glucoside	12.9 ± 0.395 a	44.1 ± 0.874 c	31.20 ± 1.14 b	5.22 ± 0.113 a	16.5 ± 0.115 c	17.4 ± 1.34 c	11.1 ± 0.153 b
malvidin-3-glucoside	23.5 ± 1.106 a	116 ± 4.271 c	99.7 ± 5.40 b	19.5 ± 0.551 a	149 ± 5.682 d	127 ± 8.303 c	77.5 ± 0.551 b
total	47.2 ± 2.26 a	188 ± 6.71 c	153 ± 8.38 b	32.6 ± 0.708 a	214 ± 7.17 d	182 ± 11.1 c	113 ± 0.797 b
Anthocyanin-3-acetylglucosides							
delphinidin-3-acetylglucoside	2.23 ± 0.006 a	4.96 ± 0.457 b	4.42 ± 0.112 b	2.07 ± 0.017 a	4.98 ± 0.229 b	5.37 ± 0.209 c	5.02 ± 0.006 b
cyanidin-3-acetylglucoside	2.10 ± 0.012 a	4.64 ± 0.010 b	4.55 ± 0.100 b	2.06 ± 0.006 a	4.22 ± 0.029 bc	4.25 ± 0.089 c	4.15 ± 0.031 b
petunidin-3-acetylglucoside	2.49 ± 0.020 a	5.99 ± 0.099 c	5.34 ± 0.115 b	2.09 ± 0.012 a	5.49 ± 0.036 d	5.02 ± 0.021 c	4.54 ± 0.049 b
peonidin-3-acetylglucoside	4.25 ± 0.130 a	11.0 ± 0.200 c	8.72 ± 0.376 b	2.18 ± 0.000 a	7.16 ± 0.160 d	6.46 ± 0.155 c	5.23 ± 0.173 b
malvidin-3-acetylglucoside	7.86 ± 0.280 a	34 ± 0.379 c	26.9 ± 0.929 b	3.06 ± 0.023 a	13.5 ± 0.416 d	11.5 ± 0.404 c	8.61 ± 0.202 b
total	18.9 ± 0.445 a	60.6 ± 1.08 c	50.0 ± 1.53 b	11.5 ± 0.041 a	35.3 ± 0.797 d	32.6 ± 0.445 c	27.5 ± 0.382 b

Table 1. Continued

	Merlot			Tempranillo			
	0 h	24 h	48 h	0 h	24 h	48 h	72 h
Anthocyanin-3-coumaroylglucosides							
cyanidin-3-coumaroylglucoside	2.10 ± 0.017 a	4.56 ± 0.040 c	4.42 ± 0.025 b	2.08 ± 0.006 a	4.61 ± 0.172 b	4.52 ± 0.173 b	4.37 ± 0.090 b
petunidin-3-coumaroylglucoside	2.12 ± 0.026 a	4.53 ± 0.051 b	4.47 ± 0.035 b	2.10 ± 0.015 a	7.45 ± 0.051 d	6.39 ± 0.136 c	5.28 ± 0.017 b
peonidin-3-coumaroylglucoside	2.35 ± 0.015 a	4.80 ± 0.159 b	4.78 ± 0.045 b	2.15 ± 0.015 a	5.15 ± 0.040 d	5.01 ± 0.096 c	4.55 ± 0.044 b
malvidin-3-coumaroylglucoside	2.67 ± 0.038 a	6.97 ± 0.163 c	6.68 ± 0.051 b	2.68 ± 0.038 a	18.0 ± 0.289 d	14.8 ± 0.737 c	10.3 ± 0.000 b
total	9.24 ± 0.085 a	20.9 ± 0.236 c	20.4 ± 0.068 b	9.02 ± 0.035 a	35.2 ± 0.162 d	30.7 ± 1.14 c	24.5 ± 0.073 b
Anthocyanin-3-caffeoylglucosides							
malvidin-3-caffeoylglucoside	2.17 ± 0.000 a	6.13 ± 0.042 b	6.14 ± 0.051 b	2.21 ± 0.006 a	7.67 ± 0.116 c	8.35 ± 0.251 d	6.93 ± 0.044 b
total	2.17 ± 0.000 a	6.13 ± 0.042 b	6.14 ± 0.051 b	2.21 ± 0.006 a	7.67 ± 0.116 c	8.35 ± 0.251 d	6.93 ± 0.044 b
Polymers							
polymers	5.46 ± 0.763 a	162 ± 5.76 b	255 ± 5.35 c	89.2 ± 3.60 a	298 ± 11.5 b	280 ± 10.0 b	432 ± 26.1 c
total phenolic compounds	125 ± 1.70 a	527 ± 9.27 b	592 ± 5.21 c	232 ± 7.47 a	705 ± 15.3 b	707 ± 7.19 b	761 ± 28.5 c

## RESULTS AND DISCUSSION

**Grape Drying.** Figure 1 shows the drying curves for the two grape varieties as obtained by plotting their moisture contents as a function of time in hours. As can be seen, the initial moisture content differed between the two varieties. Thus, it was 2.76 kg water/kg dry matter for Merlot grapes and 4.47 kg water/kg dry matter for Tempranillo grapes. The respective sugar contents were 205.7 and 193.1 g/L. As a result, the grape drying time needed to obtain the target sugar concentration in the musts differed between Merlot and Tempranillo (48 h for a content of 334.2 g/L in the former and 72 h for 323.2 g/L in the latter).

The moisture content of the grapes decreased gradually during drying, but more markedly in the Tempranillo grapes since the process was stopped at a very similar moisture level (1.37 kg water/kg dry solid for Merlot grapes and 1.41 kg water/kg dry solid for Tempranillo grapes). A linear fit of the data provided a drying rate of  $-0.029$  ( $R^2 = 97.5\%$ ) for Merlot and  $-0.043$  ( $R^2 = 94.8\%$ ) for Tempranillo. The resulting increase in sugar content was similar for both types of grapes (1.62 times for Merlot and 1.67 times for Tempranillo). These values were used as references for the losses through water evaporation in all compounds, which were assumed to undergo no reaction.

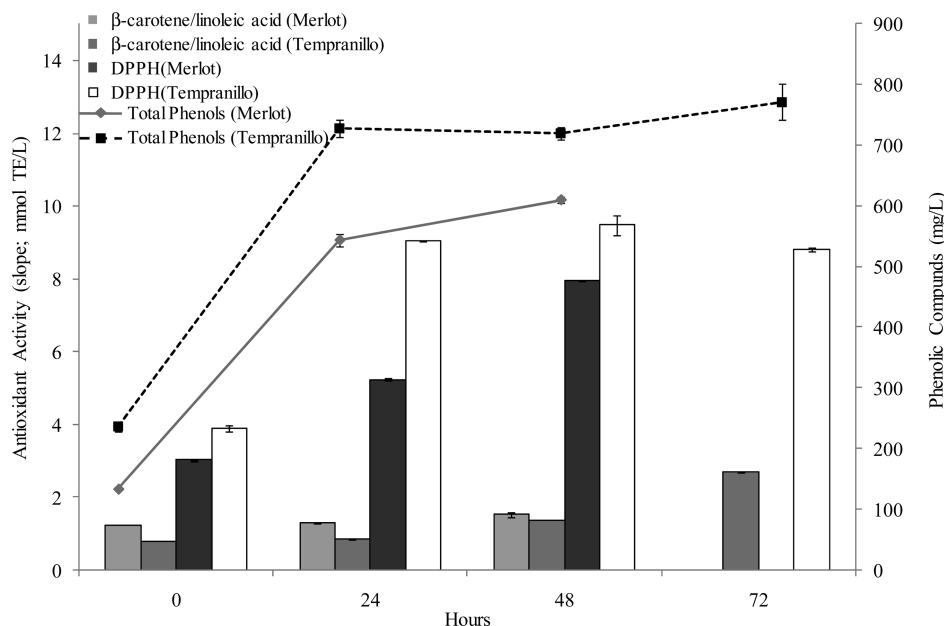
**Phenolic Compounds.** Table 1 shows the variation of the contents in phenol compounds (means and standard deviations), expressed in milligrams-per-liter, of musts obtained from grapes dried in the chamber. As can be seen, the initial phenol profile differed between the two grape varieties. Thus, the Merlot must exhibited higher contents in phenolic acids, flavonols, glycosylated anthocyanins and catechin, whereas the Tempranillo must had greater concentrations of hydroxycinnamic esters and flavan-3-ols with the exception of (+)-catechin. It is worthy to note the fact that the polymer fraction was much more important in Tempranillo (89.2 mg/L) than in Merlot (5.46 mg/L). On the other hand, the concentrations of coumaroylglucosides and caffeoylglucosides of anthocyanins were similar for both varieties. Overall, anthocyanins were the major compounds for both types of grapes, and flavonols and phenolic acids were present in lower

proportions than flavans, which is consistent with previous results for other red grape varieties.<sup>25</sup>

Since the drying process caused the grapes to lose substantial amounts of water, all grape components should have gradually increased in concentration. However, the net outcome for some phenolic contents is a balance between concentration gains and losses. Some phenols can take part in different types of reactions including nonenzymatic browning and/or autooxidation, and enzymatic oxidation reactions involving polyphenol oxidases or peroxidases, all of which reduce their concentrations. In addition, it is known that some flavan-3-ol high molecular weight derivatives can be hydrolyzed to phenolic compounds of lower molecular weights, increasing the contents in the latter.<sup>18</sup> Finally, in addition the musts were enriched with phenolic compounds from the grape skins, because the drying process altered the grape skins and facilitated the extraction of phenols by the effect of strong pressing of the raisins to obtain the musts.

The total concentrations of phenolic acids increased to a greater extent (2.21 times for Merlot and 7.82 times for Tempranillo) than did those of reducing sugars (1.62 times for Merlot and 1.67 times for Tempranillo), used as references for moisture losses, in both grape varieties. The increase was mainly due to gallic acid, the concentration of which rose 3.0 and 12.7 times in Merlot and Tempranillo, respectively.

All hydroxycinnamic esters except that of *t*-coumaric acid exhibited a decrease or no change in their concentrations in the drying process of the Merlot grapes. Such concentrations, however, never reached the levels expected due to water losses. Therefore, the esters, which are highly suitable substrates for polyphenol oxidases, must have undergone degradation reactions. Tempranillo grapes behaved similarly in this respect, where all esters remained unchanged, except for *c*-caftaric and *t*-feftaric acids, which exhibited a slight increase in concentration. In fact, the first step in the enzymatic oxidation process is the oxidation of *t*-caftaric acid to the corresponding quinone in the presence of polyphenol oxidase (PPO) as a catalyst. This acid, however, can be regenerated by the oxidation of reductants such as ascorbic acid or sulfite present in the medium.<sup>26</sup>



**Figure 2.** Changes in the total phenolic compounds contents and their antioxidant activity measured by DPPH and linoleic acid/ $\beta$ -carotene assay during the drying of the two grape varieties.

The amounts of flavan-3-ol compounds increased 2.73 times during the drying process in Merlot grapes. However, all the compounds in this fraction except for (–)-epicatechin exhibited a decrease in concentration after 24 h. Drying also increased the contents in these compounds of the Tempranillo must, by a factor of 1.66. Nevertheless, this increase lasted only 48 h, after which the concentrations in flavan-3-ol derivatives started to decrease. In addition to the above-described concentration effect of water evaporation from the grapes, these results may be explained by the hydrolysis of some high molecular weight flavan-3-ol derivatives producing smaller compounds.<sup>27</sup> The effect may also have been the result of additional reactions reducing the concentrations of these compounds, which are known to be good substrates for polyphenol oxidases or peroxidases,<sup>28</sup> although less reactive than hydroxycinnamic acids, which would have been the first to be degraded. In any case, flavans can react with *o*-quinones previously formed from hydroxycinnamic acids.<sup>29</sup> In addition, these compounds can polymerize together with some anthocyanins to give colored pigments and take part in other processes such as nonenzymatic browning and/or autoxidation reactions. Thus, Karadeniz et al.<sup>8</sup> found flavan-3-ol derivatives to be completely degraded during the raisining of grapes at increased temperatures. In this study the grapes were not dehydrated completely and the degradation was incomplete. In fact, the net effect was an increase in concentration in these compounds.

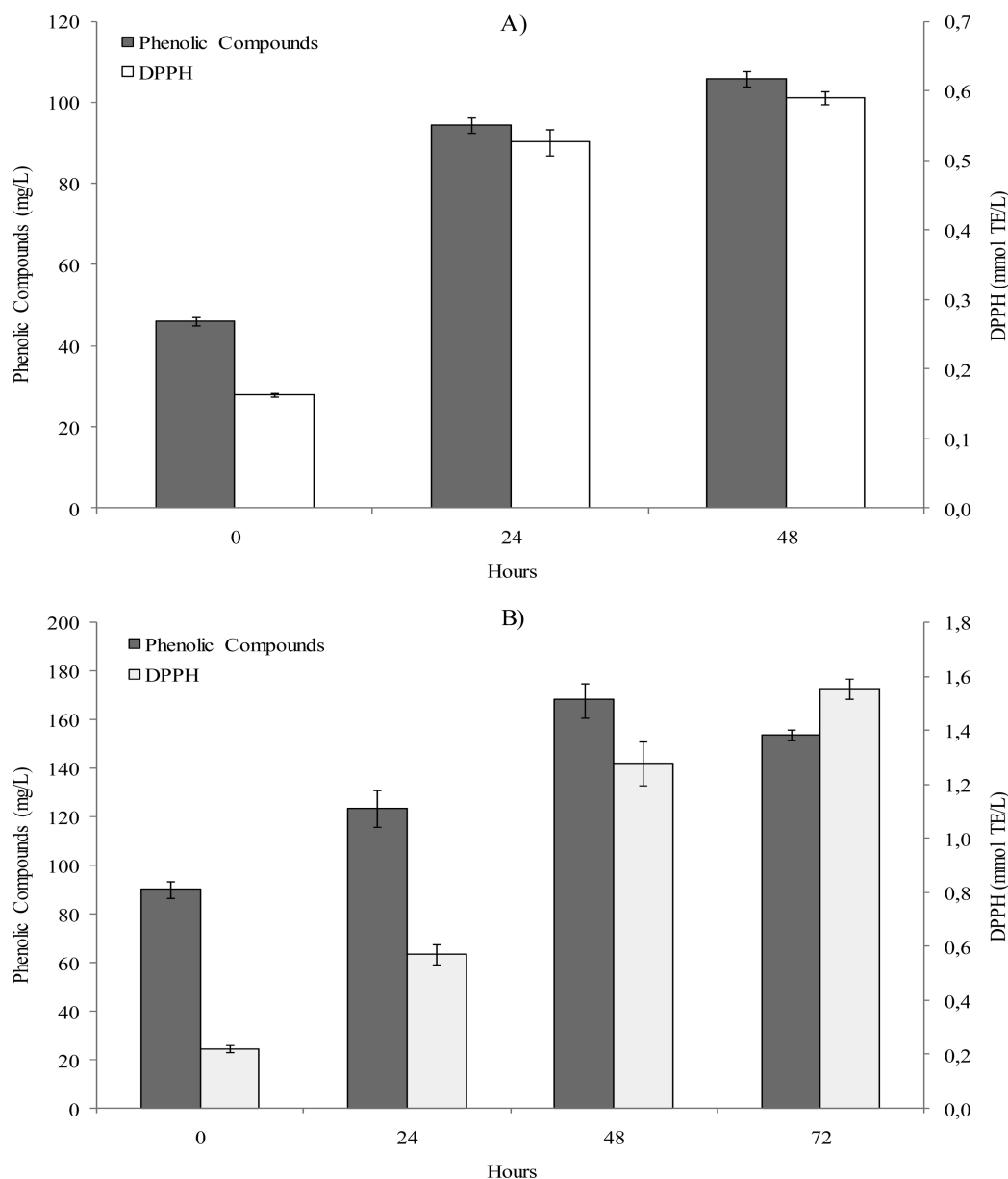
Flavonols increased in concentration during the drying of Merlot grapes; the increase, however, exceeded the level expected due to the water evaporation, which suggests that some compounds may have been extracted from the grape skins during drying and subsequent pressing of the grapes. In fact, flavonols occur naturally in this grape fraction. Tempranillo must have also exhibited an increase in flavonols throughout the grape drying process; most of the compounds, however, exhibited a decrease at the end of the process, which suggests that they must have undergone some degradation in parallel to their extraction.

All compounds in the anthocyanin fraction exhibited an increase in concentration at an early stage of drying in both grape varieties

and then a decrease at the end of the process; in any case, the final concentrations exceeded the starting levels in both types of grapes. The increase was much greater than expected because of water evaporation alone, so it must be additionally ascribed to the extraction of anthocyanins from the grape skins during the drying process. It was observed that the pulp color in both varieties increased with drying, and even more so after pressing. Following marked extraction at the beginning in both types of grapes, the anthocyanin contents exhibited a decrease possibly due to copigmentation reactions between themselves (self-association) or with other molecules including alkaloids, aminoacids, nucleotides, carbohydrates and phenol compounds (intermolecular copigmentation).<sup>30</sup> In addition, these compounds can take part in various reactions such as the copolymerization of anthocyanins with quinone–phenol condensation products, which prevent their oxidation.<sup>31</sup> Anthocyanins, flavans and flavonols are poor substrates for PPO. However they can be rapidly altered by enzymatically produced quinones via coupled oxidation reactions or condensation between phenols and quinones.<sup>29</sup>

Phenolic polymers exhibited a marked increase during drying of both types of grapes, but much more markedly in Merlot must (from 5.46 to 254.77 mg/L, i.e. 46.7 times) than in Tempranillo must (from 89.2 to 431.9 mg/L, 4.82 times). These results suggest that phenol compounds (particularly anthocyanins) gradually become polymeric pigments during drying at 40 °C.

**Antioxidant Activity.** Figure 2 shows the variation of antioxidant activity as measured with the DPPH assay and the coupled oxidation reaction between linoleic acid and  $\beta$ -carotene (slope of the linear portion of the curve) during drying of the two grape varieties. The figure also shows the variation of the total contents in phenolic compounds as the combined concentration of all phenols identified. These assays measure the ability of antioxidants present in the must to scavenge free radicals via an electron-transfer (DPPH assay) or proton-transfer mechanism (linoleic acid/ $\beta$ -carotene reaction), i.e. the former measures hydrophilic antioxidants and the latter lipophilic antioxidants.<sup>32</sup> The DPPH values of antioxidant activity in must from the initial



**Figure 3.** Antioxidant activity measured with the DPPH assays and combined concentration of the phenol compounds of fraction 1 from Merlot (A) and Tempranillo (B) grapes.

grapes were 3.02 mmol TE/L for Merlot and 3.90 mmol TE/L for Tempranillo, which were similar to others previously reported<sup>16</sup> for young and slightly aged red wines (3 and 5 mmol TE/L, respectively). The final values for the must from raisins (7.94 mmol TE/L for Merlot and 8.80 mmol TE/L for Tempranillo) were closer to those for older wines, which exhibit an antioxidant activity of 7–8 mmol TE/L.<sup>13</sup> Also, the must from the initial grapes exhibited a higher lipophilic antioxidant activity in the Merlot variety (1.21) than in the Tempranillo variety (0.80), the latter being that containing the higher concentrations of phenols.

Antioxidant activity as measured with the two assays increased throughout the drying process in both grape varieties. Hydrophilic antioxidant activity was invariably higher in the Tempranillo variety and lipophilic activity in the Merlot variety. The increase should have resulted from that in phenolic compounds during the drying process (from 125 to 592 mg/L in Merlot and 232 to 761 mg/L in Tempranillo as measured by HPLC). The

total polyphenol value has been widely used to correlate antioxidant activity in red musts and wines.<sup>1,4,14</sup>

A linear regression analysis of the total phenol contents and antioxidant activity values provided by the two assays revealed a significant correlation between the former and the DPPH values ( $R^2 = 0.8961$ ,  $p < 0.001$ ). This suggests that the increase in phenol contents during the grape drying raised their hydrophilic antioxidant activity. However, the correlation between the activity as linoleic acid/ $\beta$ -carotene reaction and the phenolic content was not significant, indicating that increased lipophilic antioxidant activity is not due to only the variation of phenolic compounds during the drying of Merlot and Tempranillo.

For all the above, it was more interesting to find a relationship between the hydrophilic antioxidant activity and the different fractions of phenolic compounds and only when making determinations *in vivo* based on a lipophilic balance such as that of  $\beta$ -carotene will be more interesting.<sup>16</sup> Also, the International

**Table 2. A Simple Regression Analysis To Describe the Relationship between the Content in Phenolic Compounds and Hydrophilic Antioxidant Activity in the Two Grape Varieties**

	correlation coefficient ( <i>r</i> )	
	Merlot	Tempranillo
DPPH in Fraction 1		
Phenolic Acids		
gallic acid	0.8785	0.8680
protocatechuic acid	ns <sup>a</sup>	ns
<i>p</i> -OH-benzoic acid	0.9202	ns
vanillic acid	0.9597	0.9445
syringic acid	ns	0.8723
<i>o</i> -coumaric acid	ns	0.9482
<i>p</i> -coumaric acid	ns	ns
total	0.9461	0.9252
Esters		
<i>c</i> -caftaric acid	ns	0.8389
<i>t</i> -caftaric acid	ns	ns
<i>c</i> -coutaric acid	ns	−0.9174
<i>t</i> -coutaric acid	ns	−0.8444
<i>c</i> -feytaric acid	−0.9752	ns
<i>t</i> -feytaric acid	0.9081	0.9242
total	ns	ns
Flavans		
(+)-catechin	0.8752	0.8604
(−)-epicatechin	0.9632	0.9127
procyanidin B1	ns	ns
procyanidin B2 + B4	0.8681	0.9147
epigallocatechin gallate	ns	ns
epicatechin gallate	0.8091	0.8935
total	0.9674	0.8712
DPPH in Fraction 2		
Flavonols		
quercetin-3-glucoside	0.8823	ns
kaempferol-3-rutinoside	0.9247	ns
kaempferol-3-glucoside	0.9840	ns
myricetin	0.9647	ns
isorhamnetin-3-glucoside	0.9034	ns
quercetin	0.8723	0.9511
kaempferol	0.9395	0.9287
isorhamnetin	ns	0.9376
total	0.9215	ns
DPPH in Fraction 3		
Anthocyanin-3-glucoside		
delphinidin-3-glucoside	ns	ns
cyanidin-3-glucoside	ns	ns
petunidin-3-glucoside	ns	ns
peonidin-3-glucoside	ns	ns
malvidin-3-glucoside	ns	ns
total	ns	ns
Anthocyanin-3-acetylglucoside		
delphinidin-3-acetylglucoside	ns	0.9410
cyanidin-3-acetylglucoside	ns	0.9088

**Table 2. Continued**

	correlation coefficient ( <i>r</i> )	
	Merlot	Tempranillo
petunidin-3-acetylglucoside	ns	ns
peonidin-3-acetylglucoside	ns	ns
malvidin-3-acetylglucoside	ns	ns
total	ns	ns
Anthocyanin-3-coumaroylglucoside		
cyanidin-3-coumaroylglucoside	ns	0.8740
petunidin-3-coumaroylglucoside	ns	ns
peonidin-3-coumaroylglucoside	ns	0.8534
malvidin-3-coumaroylglucoside	ns	ns
total	ns	ns
Anthocyanin-3-caffeoylglucoside		
malvidin-3-caffeoylglucoside	ns	ns
total	ns	ns
Polymers		
polymers	0.9705	0.8573

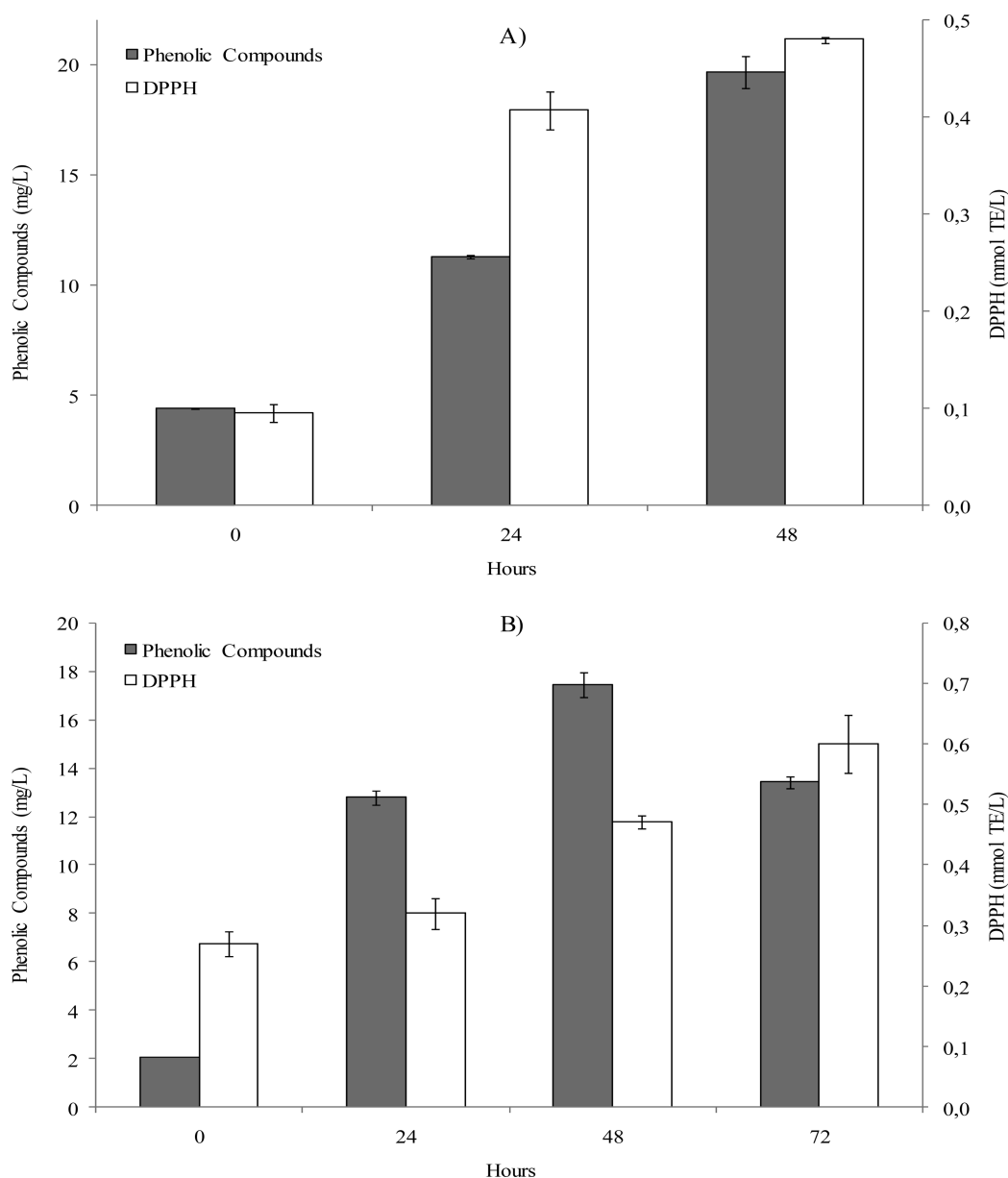
<sup>a</sup> Not statistically significant at the 99.9% confidence level.

Organization of Vine and Wine endorses the DPPH assay as a fast, reliable tool for assessing antioxidant activity in grapes and wine.<sup>33</sup> Based on the foregoing, we measured hydrophilic antioxidant activity (DPPH) in three different phenol fractions obtained by fractionation. Fraction 1 contained the combination of phenolic acids, esters and flavans; fraction 2 contained flavonols, and fraction 3 anthocyanins and polymers. As shown by some authors, not all fractions are identically correlated since not all phenol compounds possess the same antioxidant activity.<sup>10,11,16</sup>

Figure 3 shows the antioxidant activity of fraction 1 from Merlot and Tempranillo grapes as measured with the DPPH assays, as well as the combined concentration of the phenolic compounds present in this fraction. As can be seen, an increase in contents in the phenolic compounds of this fraction (from 37.7 to 94.1 mg/L in Merlot and 85.8 to 147 mg/L in Tempranillo) resulted in an increase in hydrophilic antioxidant activity (from 0.16 to 0.59 mmol TE/L in Merlot and 0.22 to 1.56 mmol TE/L in Tempranillo). In addition, the increased concentration of phenols in Tempranillo must have caused an increased antioxidant activity in these musts. A simple regression analysis (Table 2) revealed the absence of significant correlations with hydroxycinnamic esters and a significance of 99.9% ( $p < 0.001$ ) for the phenolic acid ( $r = 0.9461$  in Merlot and  $r = 0.9252$  in Tempranillo) and flavans ( $r = 0.9674$  in Merlot and  $r = 0.8712$  in Tempranillo) fractions.

Specifically, regression against the different compounds revealed that gallic and vanillic were the phenolic acids exhibiting the highest significance in the two grape varieties. Except that of *t*-feytaric acid, none of the hydroxycinnamic esters exhibited correlation between its concentration and antioxidant activity in the two grape varieties; by contrast, all flavans except epigallocatechin gallate and procyanidin B1 exhibited such correlation. Tabart et al.<sup>14</sup> found hydrophilic antioxidant activity in grape skins to be correlated with the total flavan contents.

Figure 4 shows the hydrophilic antioxidant activity of fraction 2, and the combined concentration of its components (flavonols). As can be seen, an increase in contents in the phenolic compounds of this fraction in Merlot (from 3.83 to 14.2 mg/L) resulted in a gradual increase in antioxidant activity (from



**Figure 4.** Antioxidant activity measured with the DPPH assays and combined concentration of the phenol compounds of fraction 2 from Merlot (A) and Tempranillo (B) grapes.

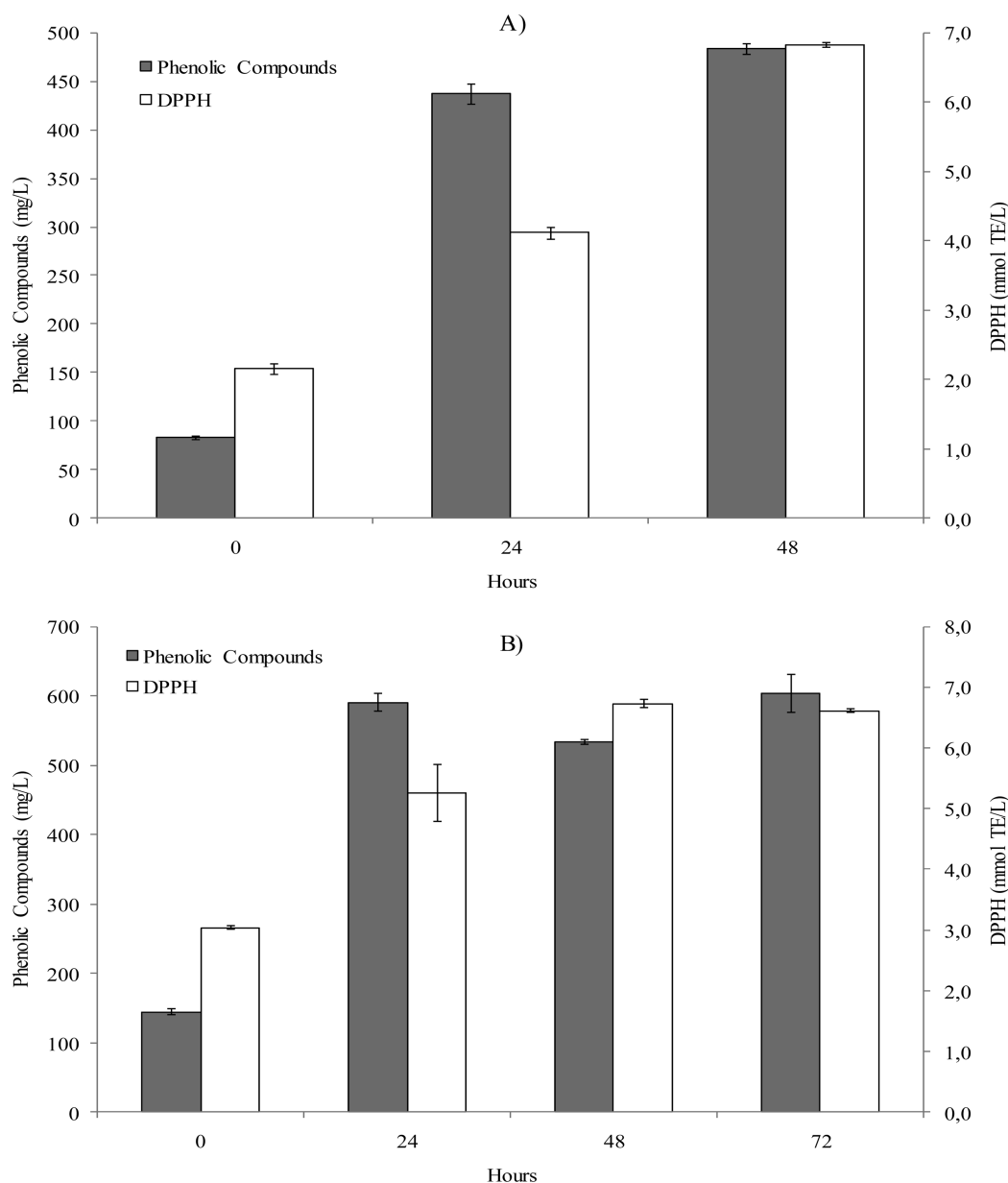
0.10 to 0.48 mmol TE/L). The increase was significant at the 99.9% level ( $r = 0.9215$ ). On the other hand, the variation of the contents in flavonols in Tempranillo (a rise over the first 48 h and a subsequent fall) was accompanied by no gradual increase in antioxidant activity, which changed from 0.2 to 0.6 mmol TE/L. This suggests that changes in some flavonols in this variety were not significant. This was confirmed by correlating the activity of fraction 2 with the concentration of each compound in it (Table 2). In fact, while all flavonols except isorhamnetin were significantly correlated in Merlot, only aglucones were in Tempranillo. Brenna et al.<sup>34</sup> found a good correlation between antioxidant activity and the quercetin and myricetin contents of red wines. On the other hand, Fernandez-Pachon et al.<sup>35</sup> concluded that this phenol fraction plays no prominent role in antioxidant activity.

Figure 5 shows the variation of the hydrophilic antioxidant activity of the anthocyan and polymer fraction, as well as their

combined concentrations. Note that this fraction accounted for more than 50% of the total antioxidant activity in both grape varieties. This suggests that anthocyan and phenol polymers contribute greatly to this property. Katalinic et al.<sup>1</sup> previously found a significant correlation between hydrophilic antioxidant activity as measured with the DPPH assay and the total anthocyan contents of red grapes, and so did in red grape skins.<sup>14</sup>

During drying, the concentration of the compounds in fraction 3 increased from 83.2 to 484 in the Merlot variety and 144 to 604 mg/L in the Tempranillo variety. This increase caused an increase in the antioxidant activity from 2.15 to 6.83 mmol TE/L in the former and 3.04 to 6.62 mmol TE/L in the latter. The results of a regression analysis (Table 2) revealed that phenolic polymers were the only compounds significantly correlated with the antioxidant activity in Merlot. In Tempranillo so were the acyl derivatives of delphinidin and cyanidin, coumaroyl derivatives of cyanidin and peonidin, and the polymers identified





**Figure 5.** Antioxidant activity measured with the DPPH assays and combined concentration of the phenol compounds of fraction 3 from Merlot (A) and Tempranillo (B) grapes.

by HPLC. Alen-Ruiz et al.<sup>16</sup> only found acyl derivatives to exhibit the correlation with antioxidant activity in three month old red wines.

In summary, Merlot and Tempranillo red grapes dried under controlled temperature and moisture conditions in a chamber with a view to the production of sweet wines exhibit a typical phenolic profile where anthocyanins prevail, and flavonols and phenolic acids are present in lower proportions than flavans. Drying in the chamber raised the concentrations of all phenol compounds except the esters, which increased by the effect of water evaporation, extraction from grape skins or a chemical reaction of hydrolysis and/or biosynthesis. Drying also increased hydrophilic and lipophilic antioxidant activities, which are based on electron- and proton-transfer reactions, respectively. Hydrophilic activity was more closely related to the increase in phenol compounds than was lipophilic activity.

Specifically, the hydrophilic activity was seemingly due to a great extent to polymers in addition to phenolic acids, flavans and individual flavonols and anthocyanins. Therefore, chamber drying, which is economical and reduces the risk of fungal synthesis of ochratoxin A, boosts the antioxidant activity of grapes.

## AUTHOR INFORMATION

### Corresponding Author

\*Tel: +34 957 218 612. Fax: +34 957 212 146. E-mail: qe1megaj@uco.es.

## REFERENCES

- (1) Katalinic, V.; Mozina, S. S.; Skroza, D.; Generalic, I.; Abramovic, H.; Milos, M.; Ljubenkovic, I.; Piskernik, S.; Pezo, I.; Terpinac, P.; Boban,

M. Polyphenolic profile, antioxidant properties and antimicrobial activity of grape skin extracts of 14 *Vitis vinifera* varieties grown in Dalmatia (Croatia). *Food Chem.* **2010**, *119*, 715–723.

(2) Rodriguez Montealegre, R.; Romero Peces, R.; Chacon Vozmediano, J. L.; Martinez Gascuña, J.; Garcia Romero, E. Phenolic compounds in skins and seeds of ten grape *Vitis vinifera* varieties grown in a warm climate. *J. Food Compos. Anal.* **2006**, *19*, 687–693.

(3) Kammerer, D.; Claus, A.; Carle, R.; Scheiber, A. Polyphenol screening of pomace red and white grape varieties (*Vitis vinifera*) by HPLC-DAD-MS/MS. *J. Agric. Food Chem.* **2004**, *52*, 4360–4376.

(4) Frankel, E. N.; Waterhouse, A. L.; Teissedre, P. L. Principal phenolic phytochemicals in selected California wines and their antioxidant activity in inhibiting oxidation of human low-density lipoproteins. *J. Agric. Food Chem.* **1995**, *43*, 890–894.

(5) Castillo, J.; Benavente-García, O.; Lorente, J.; Alcaraz, M.; Redondo, A.; Ortuño, A.; Del Rio, J. A. Antioxidant activity and radioprotective Effects against chromosomal damage induced in vivo by x-rays of flavan-3-ols (procyanidins) from grape seeds (*Vitis vinifera*): comparative study versus other phenolic and organic compounds. *J. Agric. Food Chem.* **2000**, *48*, 1738–1745.

(6) Yamakoshi, J.; Saito, M.; Kataoka, S.; Tokutake, S. Procyanidin-rich extract from grape seeds prevents cataract formation in hereditary cataractous (ICR/f) rats. *J. Agric. Food Chem.* **2002**, *50*, 4983–4988.

(7) Poudel, P. R.; Tamura, H.; Kataoka, I.; Mochioka, R. Phenolic compounds and antioxidant activities of skin and seeds of five wild grapes and two hybrids native to Japan. *J. Food Compos. Anal.* **2008**, *21*, 622–625.

(8) Karadeniz, F.; Durst, R. W.; Wrolstad, R. E. Polyphenolic composition of raisin. *J. Agric. Food Chem.* **2000**, *48*, 5343–5350.

(9) Serratos, M. P.; Lopez-Toledano, A.; Merida, J.; Medina, M. Changes in color and phenolic compounds during the raisining of grape cv. Pedro Ximenez. *J. Agric. Food Chem.* **2008**, *56*, 2810–2816.

(10) Zhao, B.; Hall, C. A., III. Composition and antioxidant activity of raisin extracts obtained from various solvents. *Food Chem.* **2008**, *108*, 511–518.

(11) Breksa, A. P.; Takeoka, G. R.; Hidalgo, M. B.; Vilches, A.; Vasse, J. Ramming, D.W. Antioxidant activity and phenolic content of raisin grape (*Vitis vinifera* L.) cultivars and selections. *Food Chem.* **2010**, *121*, 740–745.

(12) Puskas, V.; Jovic, S.; Antov, M.; Tumbas, V. Antioxidant activity of red wine with the increased share of phenolic compounds from solid parts of grape. *Chem. Ind. Chem. Eng. Q.* **2010**, *16*, 65–71.

(13) Tabart, J.; Kevers, C.; Pincemail, J.; Defraigne, J.-O.; Dommès, J. Comparative antioxidant capacities of phenolic compounds measured by various test. *Food Chem.* **2009**, *113*, 1226–1233.

(14) Xu, C.; Zhang, Y.; Cao, L.; Lu, J. Phenolic compounds and antioxidant properties of different grape cultivars grown in China. *Food Chem.* **2010**, *119*, 1557–1565.

(15) Azevedo, J.; Fernandes, I.; Faria, A.; Oliveira, J.; Fernandes, A.; de Freitas, V.; Mateus, N. Antioxidant properties of anthocyanidins, anthocyanidin-3-glucosides and respective portisins. *Food Chem.* **2010**, *119*, 518–523.

(16) Alen-Ruiz, F.; Garcia-Falcon, M. S.; Perez-Lamela, M. C.; Martinez-Carballo, E.; Simal-Gandara, J. Influence of major polyphenols on antioxidant activity in Mencia and Brancellaored wines. *Food Chem.* **2009**, *113*, 53–60.

(17) Giovanelli, C. Evaluation of the antioxidant activity of red wines in relationship to their phenolic content. *Ital. J. Food Sci.* **2005**, *17*, 381–393.

(18) Serratos, M. P.; Lopez-Toledano, A.; Merida, J.; Medina, M. Drying of Pedro Ximenez grapes in chamber at controlled temperature and with dipping pretreatments. Changes in the color fraction. *J. Agric. Food Chem.* **2008**, *56*, 10739–10746.

(19) Morales, F. J.; Jimenez-Perez, S. Free radical scavenging capacity of Maillard reaction products as related to colour and fluorescence. *Food Chem.* **2001**, *72*, 119–125.

(20) Radler, F. The prevention of browning during drying by the cold dipping treatment of sultana grapes. *J. Sci. Food Agric.* **1964**, *15*, 684–689.

(21) Rivero-Perez, M. D.; Perez-Magariño, S.; Gonzalez-San Jose, M. L. Role of melanoidins in sweet wines. *Anal. Chim. Acta* **2002**, *458*, 169–175.

(22) Mazza, G.; Maniati, E. (1993) *Anthocyanins in fruits, vegetables and grains*; CRC Press: London.

(23) Gao, L.; Girard, B.; Mazza, G.; Reynolds, A. G. Changes in anthocyanins and colour characteristics of pinot noir wines during different vinification processes. *J. Agric. Food Chem.* **1977**, *45*, 2003–2008.

(24) Singleton, V. L.; Timberlake, C. F.; Lea, A. G. H. The phenolic cinnamates of white grapes and wine. *J. Sci. Food Agric.* **1978**, *29*, 403–410.

(25) Gonzalez-Manzano, S.; Dueñas, M.; Rivas-Gonzalo, J. C.; Escribano-Bailon, M. T.; Santos-Buelga, C. Studies on the copigmentation between anthocyanins and flavan-3-ols and their influence in the colour expression of red wine. *Food Chem.* **2009**, *114*, 649–656.

(26) Rigaud, J.; Cheynier, V.; Souquet, J. H.; Moutounet, M. Influence of must composition on phenolic oxidation kinetics. *J. Sci. Food Agric.* **1991**, *57*, 55–63.

(27) Dallas, C.; Hipolito-Reis, P.; Ricardo-Da-Silva, J. M.; Laureano, O. Influence of acetaldehyde, pH, and temperature on transformation of procyanidins in model wine solutions. *Am. J. Enol. Vitic.* **2003**, *54*, 119–124.

(28) Macheix, J. J.; Sapis, J. C.; Fleuriot, A. Phenolic compounds and polyphenoloxidase in relation to browning in grapes and wines. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **1991**, *30*, 441–486.

(29) Sarni-Manchado, P.; Cheynier, V.; Moutounet, M. Reactions of polyphenoloxidase generated caftaric acid o-quinone with malvidin 3-O-glucoside. *Phytochemistry* **1997**, *45*, 1365–1369.

(30) Asen, S.; Stewart, R. N.; Norris, K. H. Co-pigmentation of anthocyanins in plant tissues and its effects on color. *Phytochemistry* **1972**, *11*, 1139–1144.

(31) Cheynier, V.; Souquet, J. M.; Kontek, A.; Moutounet, M. Anthocyanin degradation in oxidising grape must. *J. Sci. Food Agric.* **1994**, *66*, 283–288.

(32) Fernandez-Pachon, M. S.; Villano, D.; Troncoso, A. M.; Garcia-Parrilla, M. C. Determination of the phenolic composition of sherry and table white wines by liquid chromatography and their relation with antioxidant activity. *Anal. Chim. Acta* **2006**, *563*, 101–108.

(33) Gollücke, A. P. B.; Catharino, R. R.; de Souza, J. C.; Eberlin, M. N.; Queiroz Tavares, D. Evolution of major phenolic components and radical scavenging activity of grape juices through concentration process and storage. *Food Chem.* **2009**, *112*, 868–873.

(34) Brenna, O. V.; Pagliarini, E. Multivariate analysis of antioxidant power and polyphenolic composition in red wines. *J. Agric. Food Chem.* **2001**, *49*, 4841–4844.

(35) Fernandez-Pachon, M. S.; Villano, D.; Garcia-Parrilla, M. C.; Troncoso, A. M. Antioxidant activity of wines and relation with their polyphenolic composition. *Anal. Chim. Acta* **2004**, *513*, 113–118.



## Colour and phenolic compounds in sweet red wines from Merlot and Tempranillo grapes chamber-dried under controlled conditions

Ana Marquez, Maria P. Serratos, Azahara Lopez-Toledano, Julieta Merida\*

Department of Agricultural Chemistry, Faculty of Sciences, University of Cordoba, Edificio Marie Curie, Campus de Rabanales, E-14014 Cordoba, Spain

### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received 6 April 2011

Received in revised form 21 June 2011

Accepted 5 July 2011

Available online 12 July 2011

#### Keywords:

Red grapes

Red wines

Chamber-drying

Phenolic compounds

### ABSTRACT

Chamber drying under controlled temperature and humidity conditions of the red grape varieties Merlot and Tempranillo grown in Andalusia (Spain), and the fortification and maceration of the musts in the presence of skin from both types of grapes, to obtain sweet red wines, has been studied. Changes in colour and in monomeric and polymeric phenols during the vinification process were examined. Chamber drying increased the sugar content to about 31.4 °Brix within 48 h in Merlot grapes and 72 h in Tempranillo grapes. This drying process also causes skin rupture, facilitating the access of phenolic compounds to the pulp. The resulting musts exhibited slight browning and increased red hues, due to a high concentration of anthocyanins; maceration in the presence of grape skins for 24 h provided the best results. The end-product contained highly acceptable tannin, colour and phenolic compounds for marketing as a high quality sweet red wine, in comparison with other commercial sweet red wines.

© 2011 Elsevier Ltd. All rights reserved.

### 1. Introduction

The Montilla–Moriles designation of origin (DO) in Andalusia (Spain) has traditionally produced nationally and internationally appreciated sweet wines from sun-dried Pedro Ximenez white grapes (Serratos, Lopez-Toledano, Merida, & Medina, 2008a). Although Pedro Ximenez sweet wines are currently marketed at several DOs in Andalusia, they are largely produced from grapes grown in the Montilla–Moriles region, on account of its special climatic conditions, which include high temperatures and a very low relative humidity in August.

Grape drying times in southern Spain typically range from 5 to 10 days, but can be somewhat longer depending on the particular climatic conditions. Sun-dried grapes are vulnerable to damage by insect attacks, occasional rain and fungal toxins, such as ochratoxin A (Serratos, Lopez-Toledano, Medina, & Merida, 2008b; Serratos, Lopez-Toledano, Millan, Medina, & Merida, 2010). This has promoted the development of alternative methods of fruits drying under controlled temperature and humidity conditions; such methods produce raisins of a similar quality to those obtained by sun-drying but in less time (Serratos et al., 2008b). These fruits include cherries, figs, apricots or even raisins (Doymaz, 2006) for the production of sweet wines (Ruiz Bejarano, Rodriguez Doder, & Barroso, 2010).

Colour changes in grapes during the sun-drying process are a result of enzymatic and non-enzymatic browning reactions (Karadeniz, Durst, & Wrolstad, 2000) that include the formation

of pigments under the action of polyphenol oxidase (PPO) enzymes on their phenolic substrates (particularly hydroxycinnamic acids). In healthy grapes, PPOs are found separated from polyphenols; however, physical damage of grape tissues by the effect of changes during the drying process can bring the enzymes into contact with their substrates and trigger browning reactions (Cheyner & Moutounet, 1992). In addition, browning can be the result of the Maillard reaction, a non-enzymatic process yielding coloured products known as “melanoidins” from free carbonyl and amino groups (Kim & Lee, 2008). The presence of amino acids and mono-saccharides in grapes, and the high concentrations of the latter compounds resulting from the drying of berries, facilitate the development of the Maillard reaction during their sun-drying. Also, the formation of melanoidins, which cause considerable browning in the resulting wine, is especially favourable above 50 °C (Rivero-Perez, Perez-Magariño, & Gonzalez-SanJose, 2002), a temperature level which can easily be surpassed under the typical climatic conditions of the Montilla–Moriles region.

Anthocyanins play a central role in the colour of red wines, where they can confer hues ranging from orange to purple. The purplish red colour of young red wines is due to anthocyanins (3-monoglucosides and acetyl, *p*-coumaroyl and caffeoyl derivatives of delphinidin, cyanidin, petunidin, peonidin and malvidin) initially present in *Vitis vinifera* grapes (Pomar, Novo, & Masa, 2005). The production of red wines includes the maceration of the must in the presence of grape skins in order to maximise the extraction of anthocyanins and confer an appropriate colour to the wine. Maximum anthocyanin levels are observed during the first few days of maceration, after which no more extraction is

\* Corresponding author. Tel.: +34 957 218 612; fax: +34 957 212 146.

E-mail address: [jmerida@uco.es](mailto:jmerida@uco.es) (J. Merida).

usually observed, despite the fact that 30–40% of anthocyanins remain in the crushed skins. The optimum maceration time has been studied (Gomez-Plaza, Gil-Muñoz, Lopez-Roca, Martinez-Cutillas, & Fernandez-Fernandez, 2001; Romero-Cascales, Fernandez-Fernandez, Lopez-Roca, & Gomez-Plaza, 2005). However, the drying process damages grape skins and causes irreversible changes in their cellular structure (Margaris & Ghiaus, 2007) that facilitates the extraction of anthocyanins and most other phenolic compounds, reducing the maceration time.

The aim of this work was to study the colour and phenolic compounds of sweet red wines from Merlot and Tempranillo grapes, grown in the Montilla–Moriles D.O. (southern Spain). The grapes were dried in a chamber under controlled conditions of temperature and humidity, and the sweet musts were alcoholised. This work seeks to obtain a new product, aimed at a target market similar to that for Pedro Ximenez sweet white wines, with a view to increasing the demand for Andalusian red wines.

## 2. Material and methods

### 2.1. Commercial wines

Samples of commercial sweet red wines (W1 and W2) obtained from two different winemakers in the Montilla–Moriles D.O. were subjected to triplicate analyses. The wines were obtained from grapes (Syrah and Tempranillo for W1 and Merlot for W2) that were subjected to a traditional sun-drying process in order to raisin the berries and were fortified to 15% by the addition of wine alcohol. These samples have been chosen for being the only commercial red wines made from a sun-drying process.

### 2.2. Sample preparation

The grapes used were *Vitis vinifera* L. cv. Merlot and Tempranillo berries from the 2009 harvest in the Montilla–Moriles DO. Thirty kilograms of berries were uniformly distributed on trays at a density of 11 kg/m<sup>2</sup> for the Merlot variety and 19 kg/m<sup>2</sup> for the Tempranillo variety, and dried off-vine in a Frisol Climatronic chamber at a constant temperature of 40 °C and an initial relative humidity of 20%. The temperature used coincided with the average ambient level in the central hours of the day during the sun-drying season in the study area. The drying process was finished when the reducing sugar content reached approximately 31.4 °Brix.

Once dried, the grapes (19.5 and 13.5 kg of Merlot and Tempranillo, respectively) were crushed on a vertical press similar to industrial models, using a maximum pressure of 300 bar. The resulting musts (5 L) were fortified to 15% (v/v) ethanol with 0.9 L of wine alcohol and macerated with their skins (9.7 and 7.5 kg of Merlot and Tempranillo, respectively) at 25 °C for 96 h, with sample withdrawal for analysis at 24-h intervals. After maceration, the grapes were pressed a second time and skin residues removed from the must. The resulting must/wine was centrifuged at 3000 rpm, filtered and analysed in triplicate as described below.

The samples for analyses included the must from the initial grapes (IG) and dried grapes (DG), as well as wine obtained after 0, 24, 48, 72 and 96 h of maceration in the presence of grape skins (M0, M24, M48, M72 and M96).

### 2.3. Analytical determinations

Reducing sugars were measured using an Atago Master refractometer (Master Baume 2594, Atago, Japan).

Dry matter was determined by placing a known amount of each grape variety in a stove and measuring the weight loss until a constant weight was observed.

### 2.4. Spectrophotometric measurements

Spectrophotometric measurements were made on a PerkinElmer (Waltham, MA) Lambda 25 spectrophotometer, using quartz cells of 1-mm light path. Samples were previously passed through Millipore (Billerica, MA) HA filters of 0.45- $\mu$ m pore size and all measurements were corrected for a path length of 1 cm. Wine coloured anthocyanins (WCA) were determined by diluting 1 mL of sample ten times with 1 M HCl and measuring its absorbance at 520 nm after 45 min at 25 °C; the must/wine was adjusted to pH < 1 – where all anthocyanins were in the form of flavylium, a coloured ion – prior to measurement (Blouin, 1992). Polymeric pigment colour (PPC) was obtained as the absorbance at 520 nm of 5 mL of sample previously supplied with 15 mg of NaHSO<sub>3</sub> and allowed to stand at 25 °C for 45 min. Anthocyanin monomers were immediately decolourised by addition of excess NaHSO<sub>3</sub>, so the residual colour was due to the polymeric forms of the pigments (Somers & Evans, 1977). The browning index was measured as absorbance at 420 nm. The total tannin index was determined by measurement of the absorbance at 550 nm in a cell of 1-cm light path after acid hydrolysis of the samples. The measured absorbance was multiplied by a factor of 19.33, in order to calculate the total tannin concentration, in g/L (Glories, 1988).

### 2.5. Extraction of phenolic compounds

The extraction and fractionation of phenolic compounds were carried out using established methods (Jaworski & Lee, 1987; Oszmianski, Ramos, & Bourzeix, 1988) with some modifications (Serratos et al., 2008a).

For the identification of anthocyanins, a volume of 2 mL of must/wine was passed through a Sep-Pak C18 cartridge packed with 900 mg of material (Long Body Sep-Pak Plus, Waters Corporation, Milford, MA) that was previously activated with 5 mL of methanol and washed with aqueous 0.01% (v/v) HCl. The cartridge was successively washed with 10 mL of 0.01% aqueous HCl and 5 mL of ethyl acetate, and the anthocyanins were recovered with 5 mL of methanol acidified to pH 2 with HCl. Anthocyanin samples (fraction 1) were concentrated on a vacuum centrifuge thermostated at 35 °C and passed through a filter of 0.45- $\mu$ m pore size for injection into a P4000 HPLC instrument from Spectra-Physics (San Jose, CA).

Other phenolic compounds were extracted with a combination of two cartridges to ensure effective separation. Thus, a volume of 15 mL of must/wine was adjusted to pH 7 with 0.1 M NaOH and passed through Sep-Pak C18 cartridges previously activated with 5 mL of methanol and washed with distilled water, which was adjusted to pH 7 with NaOH. The cartridges were eluted with 10 mL of water at pH 7. This volume, in addition to the volume obtained as a result of sample run-through prior to elution, was used to determine hydroxybenzoic acids and hydroxycinnamic esters (fraction 2). After preconditioning of the cartridge with 5 mL of water at pH 2, flavan-3-ols (fraction 3) were eluted with 40 mL of 16% acetonitrile in water at pH 2. Flavonols (fraction 4) were eluted with 5 mL of ethyl acetate, evaporated to dryness and redissolved in methanol. Finally, polymeric compounds (fraction 5) were eluted with 10 mL of methanol. All collected fractions were concentrated on a vacuum centrifuge thermostated at 35 °C and passed through a filter of 0.45- $\mu$ m pore size for injection into the Spectra-Physics P400 HPLC instrument.

### 2.6. Identification and HPLC analysis

Phenolic compounds were identified by comparing their retention times with those for standards, recording UV spectra on a

Spectra-Physics UV6000LP diode array spectrophotometer and calculating the UV absorbance ratios for samples and standards simultaneously co-injected one at a time. Identifications were confirmed by HPLC–ESI–MS on an AQA quadrupole mass spectrometer from Thermo. The instrument was operated in both the negative and positive ion modes. The ion spray voltage was  $-4$  kV and the orifice voltage  $-60$  V. Mass data were acquired in scan mode (by scanning the  $m/z$  range 150–1066 at 1.2 intervals per second) and multiple ion mode (by using mass ranges around specific  $m/z$  values). Commercial standards were purchased in 95–99% purity from Sigma–Aldrich Chemical Co. (Madrid, Spain) and Extrasynthèse (Genay, France). Each compound was quantified by comparison with a calibration curve obtained from the corresponding standard, except for caftaric, coumaric and fertaric acid, which were quantified as caffeic, *p*-coumaric and ferulic acid, respectively; procyanidins were quantified as (+)-catechin; quercetin 3-glucuronide, laricitrin 3-glucoside, syringetin 3-glucoside, isorhamnetin 3-glucoside and isorhamnetin were quantified as quercetin 3-glucoside; kaempferol 3-glucoside and kaempferol 3-glucuronide were quantified as kaempferol; and polymeric compounds and anthocyanins were quantified as malvidin 3-glucoside.

Analyses were carried out on a LiChrospher 100 RP-18 column (250 mm long  $\times$  4.6 mm i.d., 5  $\mu$ m particle size), using 10% aqueous formic acid in HPLC-grade water (solvent **A**) and 10% formic acid, 45% acetonitrile and 45% HPLC-grade water (solvent **B**), as a mobile phase, at a flow rate of 1 mL/min. A total of five fractions were collected as follows:

Fraction 1 was obtained by gradient elution from 15% to 30% **B** in 17 min, gradient elution up to 73% **B** in 28 min, gradient elution up to 100% **B** in 3 min and isocratic elution for 3 min. The absorbance at 520 nm was used to quantify the following anthocyanins: 3-monoglucoside derivatives of delphinidin (Dp-3-glc), cyanidin (Cy-3-glc), petunidin (Pt-3-glc), peonidin (Pn-3-glc) and malvidin (Mv-3-glc); 3-acetylglucoside derivatives of delphinidin (Dp-3-acetglc), cyanidin (Cy-3-acetglc), petunidin (Pt-3-acetglc), peonidin (Pn-3-acetglc) and malvidin (Mv-3-acetglc); 3-coumaroylglucoside derivatives of cyanidin (Cy-3-coumglc), petunidin (Pt-3-coumglc), peonidin (Pn-3-coumglc) and malvidin (Mv-3-coumglc); and 3-caffeoylglucoside of malvidin (Mv-3-caffglc).

Fraction 2 was collected by gradient elution from 5% to 10% **B** in 35 min, gradient elution up to 20% **B** in 10 min, gradient elution up to 30% **B** in 10 min, gradient elution up to 100% **B** in 10 min and isocratic elution for 5 min. The absorbance at 280 nm was used to quantify hydroxybenzoic acids (gallic, protocatechuic, vanillic and syringic) and that at 315 nm esters of hydroxycinnamic acids (*ci*-caftaric, *trans*-caftaric, *cis*-coumaric, *trans*-coumaric, *cis*-fertaric and *trans*-fertaric acids).

Fraction 3 was collected by gradient elution from 5% to 10% **B** in 25 min, gradient elution up to 20% **B** in 10 min, gradient elution up to 30% **B** in 10 min, gradient elution up to 100% **B** in 15 min, and isocratic elution for 10 min. The absorbance at 280 nm was used to quantify flavan-3-ol derivatives ((+)-catechin, (–)-epicatechin and procyanidins B1, B2 and B4).

Fraction 4 was obtained by gradient elution from 5% to 30% **B** in 5 min, gradient elution up to 40% **B** in 14 min, gradient elution up to 80% **B** in 1 min and isocratic elution for 5 min. The absorbance at 360 nm was used to quantify flavonols, namely 3-glucuronide and 3-glucoside derivatives of quercetin and kaempferol, 3-glucoside derivatives of laricitrin, isorhamnetin and syringetin, and myricetin, kaempferol and isorhamnetin.

Fraction 5 was collected by gradient elution from 5% to 10% **B** in 5 min, gradient elution up to 20% **B** in 10 min, gradient elution up to 30% **B** in 10 min, gradient elution up to 10% **B** in 15 min and isocratic elution for 10 min. The absorbance at 280 nm was used to quantify polymeric compounds and that at 520 nm coloured anthocyanin polymers.

## 2.7. Statistical procedures

The results for all samples were subjected to simple regression analysis and analysis of variance (ANOVA) in triplicate, using the Statgraphics Computer Package Ver. 5.0 from Statistical Graphics Corp.

## 3. Results and discussion

Grapes were dried in a chamber at a controlled temperature and relative humidity, in order to raise their reducing sugar initial contents (206 g/L in Merlot and 193 g/L in Tempranillo). The time needed to reach a similar sugar content differed between the two grape varieties (48 h for a sugar content of 335 g/L in Merlot and 72 h for one of 323 g/L in Tempranillo). Due to the differences in the initial water content of the two grape varieties (73.4 and 81.7% in fresh Merlot and Tempranillo grapes, respectively), the raising times of these grapes were different. Drying caused the loss of water by evaporation and raised the concentrations of all compounds 1.59 times in Merlot grapes and 2.27 times in Tempranillo grapes as a result. The reducing sugars of commercial wines were 393 g/L for W1 and 329 g/L for W2.

Grape drying causes the production of pigments responsible for the brown colour of musts and wines (Karadeniz et al., 2000). Fig. 1 shows the variation of the absorbance at 420 nm in musts and wines from dried grapes and the results of an ANOVA at a significance level of 99.9%. As can be seen, drying raised  $A_{420}$  to 3.24 au for Merlot and 3.45 au for Tempranillo, i.e., it increased must browning by factors (final value/initial value) of 5.6 and 3.8, respectively. This increase is much greater than that observed by Serratos et al. (2008a) in chamber-drying assays at a controlled temperature of 40 °C on Pedro Ximenez white grapes with a higher final sugar content (1.3 times). Since our drying temperature never exceeded 50 °C, the Maillard reaction would have occurred to a much lesser extent than enzymatic browning reactions. Polyphenol oxidases (PPOs) oxidise certain phenolic compounds (hydroxycinnamic acids mainly) to brown compounds known as “melanins” via complex chemical reactions (Chazarra, Garcia-Carmona, & Cabanes, 2001). Since the concentrations of phenols and, specifically, hydroxycinnamic acids, are usually higher in red grapes, browning during the drying process was stronger than in Pedro Ximenez

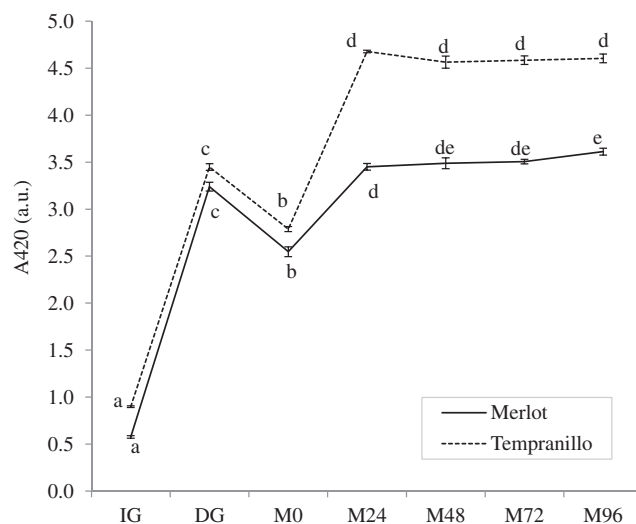


Fig. 1. Changes in the absorbance at 420 nm (au) in musts and wines from Merlot and Tempranillo dried grapes (means, standard deviations and homogeneous groups). IG, initial grapes; DG, dried grapes; M0, M24, M48, M72 and M96, wines obtained after 0, 24, 48, 72 and 96 h of maceration.

white grapes. Also, drying caused structural changes in skins, through the evaporation of water from the berries; such changes diminished their resilience and favoured their cell rupture, this facilitated the contact of PPOs with their substrates.

The absorbance at 420 nm measured at the start of maceration (M0) was reduced by the diluting effect of fortification (Fig. 1), but increased 1.4 and 1.7 times in the must/wine from Merlot and Tempranillo, respectively, after 24 h of maceration (M24). This was a result of the massive extraction of brown compounds from grape skins, which contained PPOs and most of their phenolic substrates. Beyond that point, the browning did not increase significantly throughout the maceration process in Merlot wines and only after 96 h in Tempranillo wines. Comparatively, the values of these two sweet red wines Merlot and Tempranillo were lower than the commercial sweet red wines ( $9.06 \pm 0.036$  and  $5.827 \pm 0.015$  au for W1 and W2, respectively). So, chamber drying produced less browning than sun drying, which is more desirable in the elaboration of red wines.

The initial musts exhibited very similar values in wine-coloured anthocyanins (WCA) measured at 520 nm, with 3.05 au and 3.22 au for Merlot and Tempranillo musts (Fig. 2). This variable increased markedly with the grape drying time, especially in Merlot musts (12.2 au). The increase in this absorbance at 520 nm can be ascribed to the damage in skin cells during grape drying and the resulting diffusion of red pigments from skin to pulp in the berries. The addition of ethanol prior to maceration diluted all compounds – red pigments included. Over the first 24 h of maceration, red pigments were massively extracted and  $A_{520}$  increased markedly (to 12.8 au in Merlot wine and 11.3 au in Tempranillo wine) as a result. The Merlot wine showed no further pigment extraction, but rather a slight decrease in  $A_{520}$ , possibly due to the polymerisation of anthocyanins with other compounds, such as tannins, and the re-adsorption of coloured compounds by solid portions of the berries. Values much lower than those obtained from wines from Merlot and Tempranillo varieties were found in samples of commercial sweet red wines ( $2.11 \pm 0.169$ ,  $3.13 \pm 0.253$  au for W1 and W2, respectively). These values would indicate that the chamber drying process produced red wines with a greater concentration of red pigments than sun drying.

Fig. 3 shows the variation of polymeric pigment colour (PPC) during the drying process and subsequent maceration of the wines

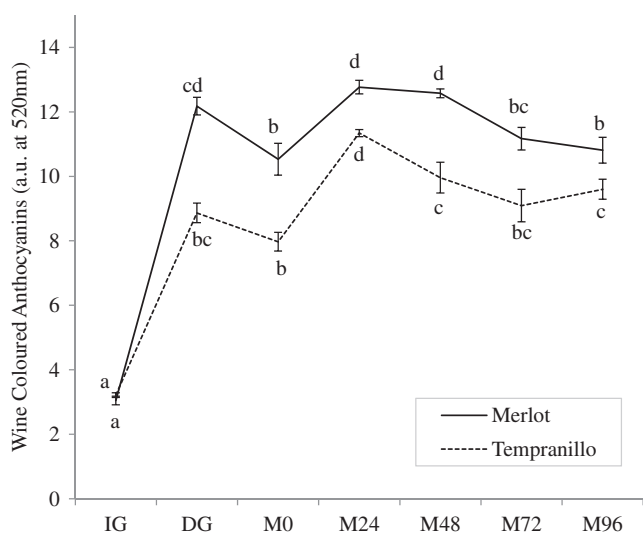


Fig. 2. Changes in the wine coloured anthocyanins (au at 520 nm) in musts and wines from Merlot and Tempranillo dried grapes (means, standard deviations and homogeneous groups). IG, initial grapes; DG, dried grapes; M0, M24, M48, M72 and M96, wines obtained after 0, 24, 48, 72 and 96 h of maceration.

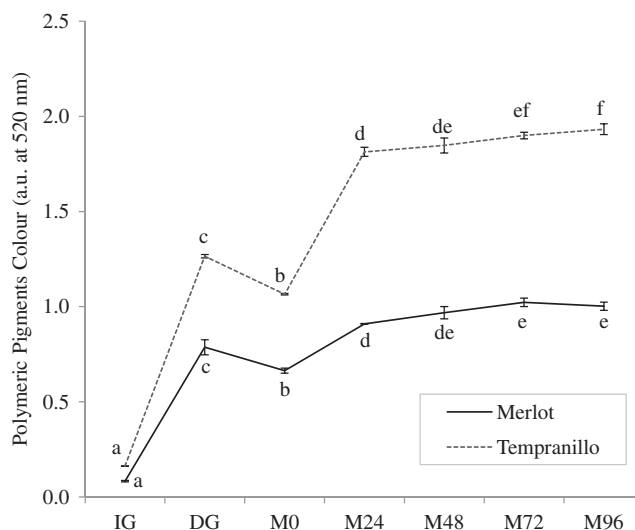
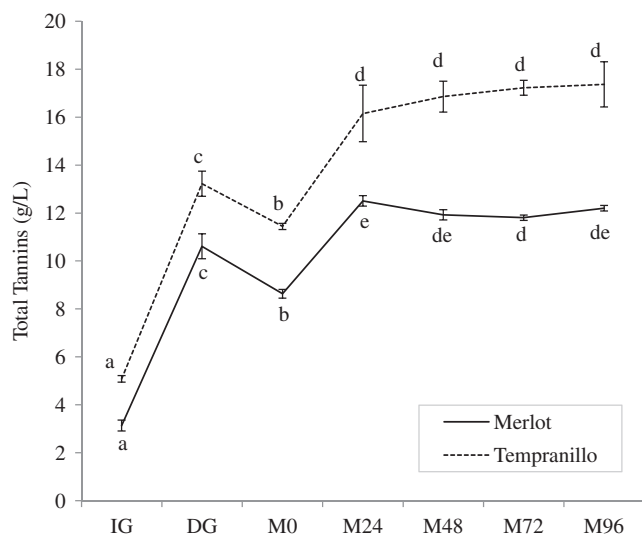


Fig. 3. Changes in the polymeric pigment colour (au at 520 nm) in musts and wines from Merlot and Tempranillo dried grapes (means, standard deviations and homogeneous groups). IG, initial grapes; DG, dried grapes; M0, M24, M48, M72 and M96, wines obtained after 0, 24, 48, 72 and 96 h of maceration.

with grape skins of both varieties. As can be seen, the initial musts from fresh Merlot and Tempranillo grapes exhibited PPC values less than 0.2 au, which suggests the presence of very small amounts of red polymers. However, drying raised the red colour significantly (to 0.787 au in Merlot must and 1.27 au in Tempranillo must). On one hand, this increase was due to the concentration as a result of the loss of water by evaporation and also due to the production of polymers from anthocyanin monomers during drying of the grapes. PPC increased markedly after 24 h of maceration, especially in Tempranillo wine, due to prolonged synthesis of polymers and their extraction from grape skins to the wine. The existence of anthocyanin oligomers in the grape skin extract has been evidenced (Vidal, Meudec, & Cheynier, 2004). The increase was more moderate at the end of the process, and the final value amounted to 1.00 au in Merlot wine and 1.93 au in Tempranillo wine. The values of the commercial sweet red wines ( $2.73 \pm 0.018$  au for W1 and  $2.18 \pm 0.046$  au for W2) showed that the wines obtained from sun-dried grapes had a higher content in polymeric pigments than those obtained from chamber-dried grapes.

Tannins are highly astringent and bitter compounds encompassing a series of phenolic compounds, including condensed tannins (viz variably complex polymers of flavan-3-ol) and hydrolysable tannins (ellagitannins and gallotannins, mainly). Fig. 4 shows the variation of the total amount of tannins during chamber drying and maceration in both varieties. Initially, Merlot grapes contained less tannins than Tempranillo grapes (3.14 and 5.08 g/L, respectively). Drying raised their contents to much higher levels than expected from water evaporation alone (to 10.6 g/L for Merlot and 13.2 g/L for Tempranillo). As a result, grape drying increased the tannin content of Tempranillo, as a result of their synthesis and/or extraction. Tannins in grape seeds are slowly dissolved during maceration as the cuticle is dissolved in ethanol; by contrast, tannins in grape skins were extracted more rapidly by the effect of their ready dissolution in the aqueous phase (Guadalupe & Ayes-taran, 2008). The addition of wine alcohol prior to maceration caused the tannin concentration to rise significantly within the first 24 h of maceration in the musts from both grape varieties, after which tannins remained at virtually constant levels. Amrani and Glories (1995) previously found tannin extraction from red grape skins to peak within the first 24 h of maceration. Our



**Fig. 4.** Changes in the total tannins (g/L) in musts and wines from Merlot and Tempranillo dried grapes (means, standard deviations and homogeneous groups). IG, initial grapes; DG, dried grapes; M0, M24, M48, M72 and M96, wines obtained after 0, 24, 48, 72 and 96 h of maceration.

Tempranillo wines exhibited higher total tannin concentrations than our Merlot wines throughout the maceration process. Both wines were similar in tannin contents, compared to the commercial sweet red wines ( $22.2 \pm 0.280$  g/L for W1 and  $15.2 \pm 0.434$  g/L for W2).

As can be seen, 3-monoglucoside derivatives in initial grapes prevailed in both grape varieties and accounted for 61.0% of all monomeric anthocyanins in Merlot and 58.9% in Tempranillo (Fig. 5). Malvidin 3-glucoside was the major compound in both grape varieties, at 23.5 mg/L in Merlot must and 19.5 mg/L in Tempranillo must (Table 1). Both varieties exhibited high percentages of 3-acetylglucosides in relation to total anthocyanins (24.3% in Merlot and 20.7% in Tempranillo); the percentage of malvidin 3-acetylglucoside exceeds 10% in Merlot according to several authors (García-Beneytez, Revilla, & Cabello, 2002). However, the high content of these derivatives in the Tempranillo variety differs from values reported by Ortega-Meder, Rivas-Gonzalo, Vicente, and Santos-Buelga (1994), which never exceeded 10%. Also, both varieties contain more 3-acetylglucosides than 3-*p*-coumaroylglucosides according to several authors (Dimitrowska, Bocevska, Dimitrowski, & Murkovic, 2011; Romero-Cascales et al., 2005), unlike in other varieties (Cejudo-Bastante, Hermosin-Gutierrez, & Perez-Coello, 2011). However, the five acetyl derivatives exhibited higher or similar (cyanidin) concentrations than their *p*-coumaroyl counterparts in Merlot, and those of cyanidin and petunidin exhibited lower concentrations than the *p*-coumaroyl derivatives in Tempranillo, although they all contained the same order of magnitude. Guadalupe and Ayestaran (2008) previously found Tempranillo grapes to contain high proportions of *p*-coumaroyl derivatives relative to acetyl derivatives. Although the distribution of anthocyanins is specific to each strain, it may change slightly as a function of other factors, such as climate and soil (Roggero, Coen, & Ragonnet, 1986).

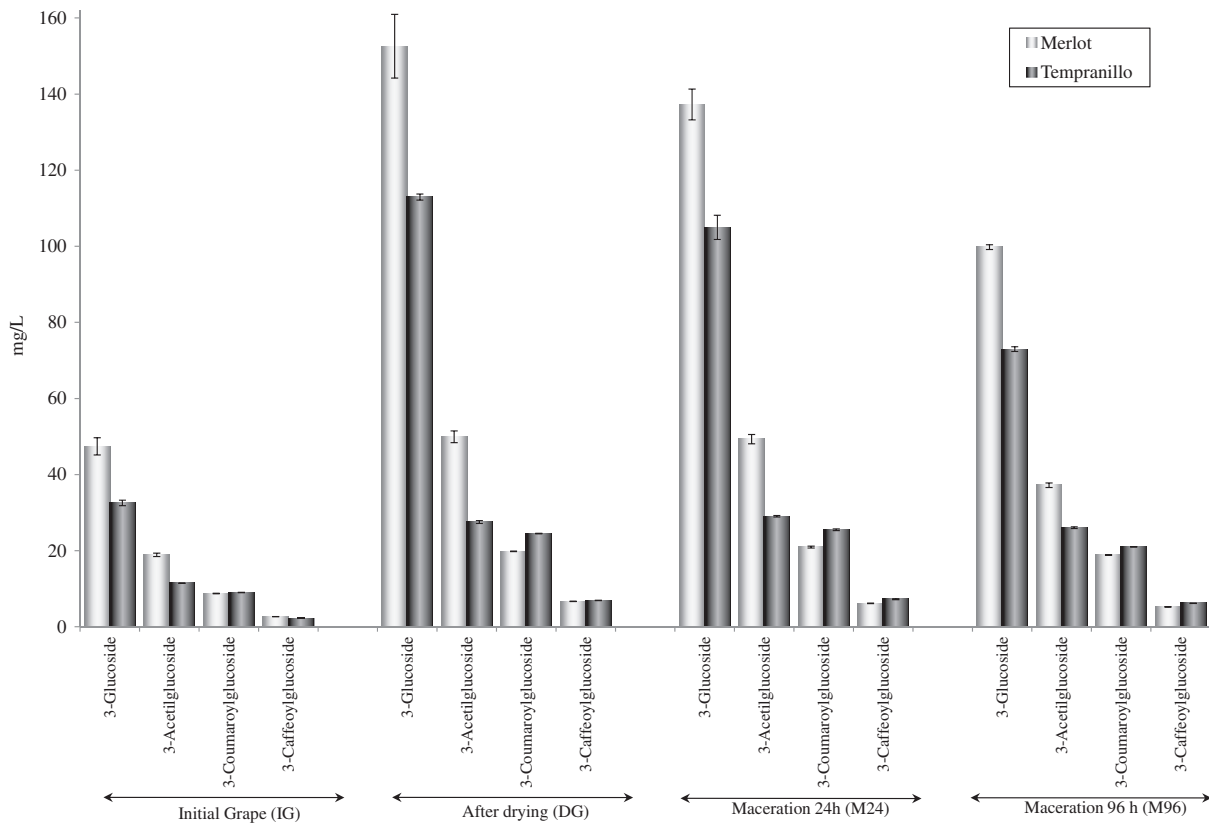
The contents in 3-glucoside derivatives increased from 47.4 to 153 mg/L (i.e., 3.21 times) in Merlot, and from 32.6 to 113 mg/L (i.e., 3.46 times) in Tempranillo, during chamber-drying of the grapes at a controlled temperature (Fig. 5). This suggests that anthocyanin concentrations rose not only due to the effect of water evaporation (1.59 times for Merlot and 2.27 for Tempranillo), but also due to their extraction from grape skins. Since the increase due to water evaporation was much less marked in Merlot, the extraction of anthocyanin from grape skins must have been much

stronger in this variety. Therefore, chamber-drying must causes the epidermal layers in the grapes to break up, which releases the anthocyanins into the pulp. Anthocyanins in non-teinturier grape varieties are only present in skin vacuoles (Amrani & Glories, 1995).

Maceration increased the concentrations of all monomeric anthocyanins during the first 24 h; this was followed by a decrease in concentrations at the end of the maceration process, except for delphinidin 3-acetylglucoside in Merlot wine, which continued to increase up to 48 h (Table 1). The maceration time has a significant influence on the extraction of anthocyanins from skins in red grapes (Budic-Leto, Lovrić, Kljusuric, Pezo, & Vrhovsek, 2006; Canals, Llaudy, Valls, Canals, & Zamora, 2005). Thus, complete extraction of these compounds takes several days (Romero-Cascales et al., 2005), after which no further extraction is usually observed (Gomez-Plaza et al., 2001). However, our vinification process was preceded by the raising of the grapes, which caused a fraction of anthocyanins to be extracted from skin to pulp. Also, the presence of ethanol in the medium from the start of maceration facilitated the extraction of anthocyanins (Canals et al., 2005) and other compounds (Gonzalez-Manzano, Rivas-Gonzalo, & Santos-Buelga, 2004). The increase and subsequent decrease in anthocyanin concentrations can be ascribed to an adsorption–desorption balance between such concentrations in grape skins and wine; once such a balance is reached, the extraction of anthocyanins from grape skins stops (Boulton, 2001). Based on our results, 24 h of maceration was sufficient to maximise the extraction of anthocyanins from both grape varieties. At that point in time, Merlot wine contained greater amounts of these compounds than Tempranillo wine (214 vs. 167 mg/L), mostly as 3-glucoside derivatives (representing 64.2% in Merlot wine and 62.3% in Tempranillo wines of the total amount of anthocyanins) and followed by 3-acetylglucoside derivatives (23.1% in Merlot and 15.3% in Tempranillo).

Table 2 shows the mean concentrations and standard deviations for the phenolic compounds studied, as well as the homogeneous groups (ANOVA at 99.9%), during the grape-drying and maceration processes. Fig. 6 shows the contents in hydroxybenzoic acids, esters, flavan-3-ol derivatives and flavonols in the initial grapes, after drying and during maceration. As can be seen, the contents in hydroxybenzoic acids in Merlot must obtained from fresh grapes exceeded those in Tempranillo must. Such contents increased substantially during the drying process due to the effect of water evaporation and also, possibly, by the extraction from solid portions of the grapes. Although hydroxybenzoic acids prevail in skin and pulp in red grapes (Revilla & Gonzalez-SanJose, 2003), some authors have found gallic acid to be extracted from *Vitis vinifera* grape seeds through hydrolysis of tannin galloyl esters (Zou, Kilmartin, Inglis, & Frost, 2002). As noted earlier, phenolic compounds started to be extracted during the grape-drying process. Extraction continued during the first 24 and 48 h of maceration in Tempranillo and Merlot, respectively. Beyond that point, the contents of hydroxybenzoic acids exhibited no significant changes in Merlot wines or even decreased in Tempranillo wines. The presence of ethanol in the medium during maceration may have resulted in esterification of these acids during the fermentation process (Monagas, Bartolome, & Gomez-Cordoves, 2005). This decrease in the contents of hydroxybenzoic acids observed at a late stage of maceration of the Tempranillo wines may have occurred throughout the process, but might have been offset by a strong extraction from solid portions of the grapes.

Esters of the hydroxycinnamic acids were present in both *cis* and *trans* forms in the initial grapes, even though the latter are known to be the natural forms and the former a result of UV irradiation (Karadeniz et al., 2000; Rodriguez Montealegre, Romero Peces, ChaconVozmediano, MartinezGascueña, & Garcia Romero,



**Fig. 5.** Concentrations (mg/L) of 3-monoglucoside, 3-acetylglucoside, 3-*p*-coumaroylglucoside and 3-caffeoylglucoside derivatives of anthocyanins in musts and wines from Merlot and Tempranillo dried grapes (means and standard deviations).

**Table 1**

Anthocyanin contents (mg/L) in musts and wines from Merlot (Me) and Tempranillo (Tm) dried grapes (means, standard deviations and homogenous groups).

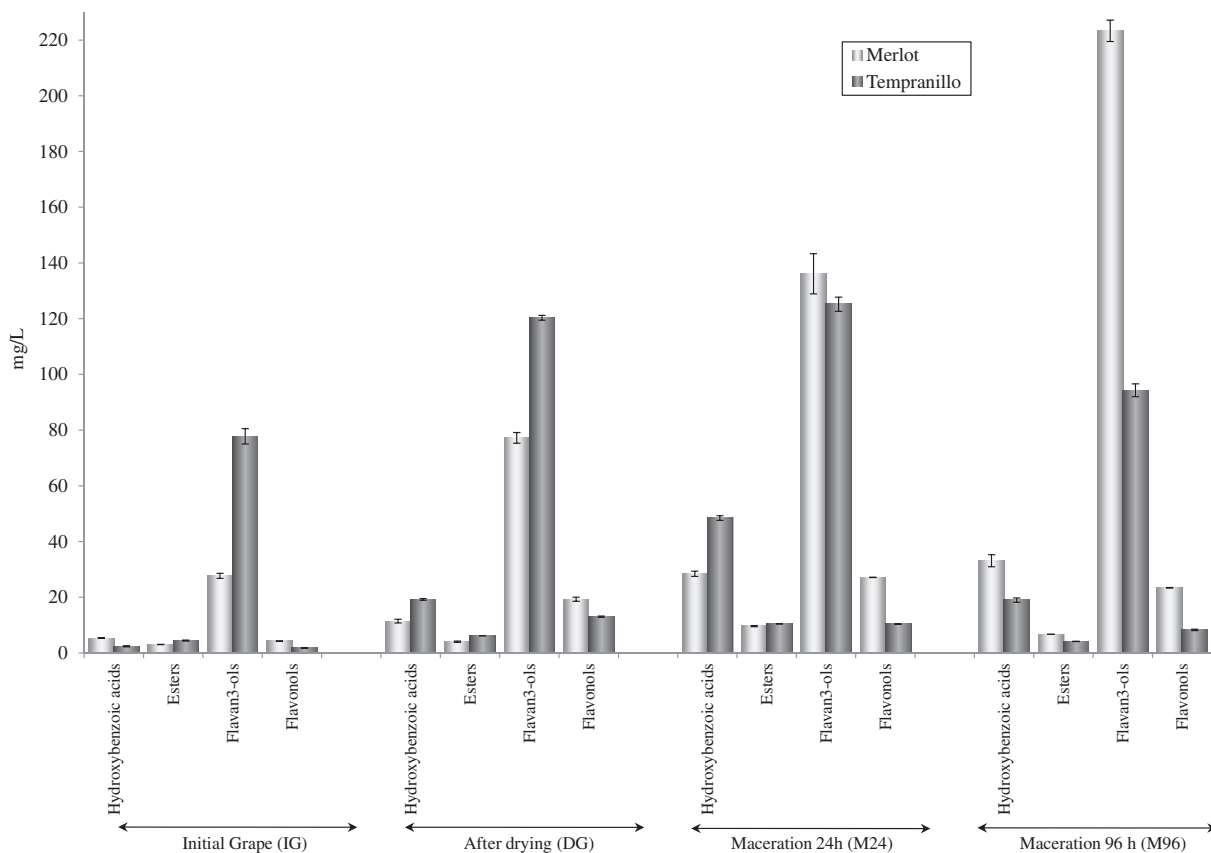
		Drying		Maceration											
		Initial (IG)	Final (DG)	0 h (M0)	24 h (M24)	48 h (M48)	72 h (M72)	96 h (M96)							
Dp-3-glc	Me	3.11 ± 0.091	a	5.92 ± 0.181	d	4.75 ± 0.032	bc	5.01 ± 0.053	c	4.72 ± 0.031	bc	4.62 ± 0.115	b	4.74 ± 0.015	bc
	Tm	2.15 ± 0.006	a	7.58 ± 0.123	f	5.01 ± 0.117	b	6.67 ± 0.091	e	5.76 ± 0.070	d	5.41 ± 0.133	c	5.29 ± 0.017	bc
Cy-3-glc	Me	4.06 ± 0.150	a	6.11 ± 0.150	e	5.19 ± 0.047	b	5.84 ± 0.055	de	5.63 ± 0.045	cd	5.56 ± 0.067	cd	5.33 ± 0.015	bc
	Tm	3.17 ± 0.057	a	5.33 ± 0.073	c	4.52 ± 0.006	b	5.70 ± 0.159	d	5.20 ± 0.163	c	5.10 ± 0.050	c	5.04 ± 0.072	c
Pt-3-glc	Me	3.86 ± 0.115	a	9.64 ± 0.399	d	6.79 ± 0.030	b	8.02 ± 0.174	c	7.23 ± 0.075	b	6.84 ± 0.074	b	6.71 ± 0.055	b
	Tm	2.52 ± 0.010	a	11.4 ± 0.100	f	6.78 ± 0.117	b	10.5 ± 0.306	e	8.85 ± 0.310	d	7.98 ± 0.336	c	7.59 ± 0.125	c
Pn-3-glc	Me	12.9 ± 0.802	a	31.2 ± 2.27	d	22.3 ± 0.400	bc	30.4 ± 1.07	d	25.7 ± 0.346	c	24.2 ± 0.306	bc	22.0 ± 0.208	b
	Tm	5.22 ± 0.113	a	11.1 ± 0.153	e	7.28 ± 0.192	b	12.1 ± 0.351	f	10.2 ± 0.212	d	9.70 ± 0.238	cd	9.34 ± 0.090	c
Mv-3-glc	Me	23.5 ± 1.11	a	99.7 ± 5.41	e	61.5 ± 0.624	b	88.0 ± 2.72	d	72.5 ± 0.781	c	68.8 ± 0.404	bc	61.0 ± 0.814	b
	Tm	19.5 ± 0.551	a	77.5 ± 0.551	g	36.0 ± 1.30	b	70.0 ± 2.36	f	57.0 ± 1.06	e	50.4 ± 1.37	d	45.7 ± 0.473	c
Dp-3-acetglc	Me	2.23 ± 0.006	a	4.42 ± 0.112	b	4.75 ± 0.046	bc	5.07 ± 0.155	c	5.51 ± 0.163	d	4.90 ± 0.087	c	5.06 ± 0.170	c
	Tm	2.07 ± 0.017	a	5.02 ± 0.06	b	4.79 ± 0.102	b	6.05 ± 0.315	c	5.71 ± 0.053	d	5.61 ± 0.196	c	5.75 ± 0.123	c
Cy-3-acetglc	Me	2.10 ± 0.012	a	4.55 ± 0.100	d	4.39 ± 0.047	cd	4.49 ± 0.038	cd	4.37 ± 0.057	c	4.35 ± 0.017	c	4.14 ± 0.053	d
	Tm	2.06 ± 0.006	a	4.15 ± 0.031	b	4.15 ± 0.035	b	4.56 ± 0.072	c	4.44 ± 0.015	bc	4.41 ± 0.172	bc	4.39 ± 0.200	bc
Pt-3-acetglc	Me	2.49 ± 0.020	a	5.34 ± 0.115	d	4.91 ± 0.023	cd	5.08 ± 0.020	d	5.04 ± 0.030	cd	4.59 ± 0.329	bc	4.35 ± 0.067	bc
	Tm	2.09 ± 0.012	a	4.53 ± 0.049	cd	4.34 ± 0.006	bc	4.54 ± 0.121	d	4.44 ± 0.070	bcd	4.34 ± 0.021	b	4.37 ± 0.026	bcd
Pn-3-acetglc	Me	4.25 ± 0.130	a	8.72 ± 0.376	d	7.88 ± 0.031	c	8.86 ± 0.208	d	7.79 ± 0.012	c	7.38 ± 0.136	c	6.57 ± 0.225	b
	Tm	2.18 ± 0.000	a	5.23 ± 0.173	de	4.89 ± 0.070	bcd	5.30 ± 0.095	e	5.10 ± 0.170	cde	4.75 ± 0.025	bc	4.70 ± 0.010	b
Mv-3-acetglc	Me	7.86 ± 0.280	a	26.9 ± 0.929	e	22.3 ± 0.001	d	25.8 ± 0.814	e	21.2 ± 0.252	d	19.23 ± 0.231	c	17.1 ± 0.231	b
	Tm	3.06 ± 0.023	a	8.61 ± 0.202	d	7.04 ± 0.121	b	8.60 ± 0.154	d	7.97 ± 0.270	c	7.11 ± 0.042	b	6.84 ± 0.056	b
Cy-3- <i>p</i> -coumglc	Me	2.10 ± 0.017	a	4.42 ± 0.025	b	4.42 ± 0.021	b	4.51 ± 0.038	b	4.36 ± 0.078	b	4.36 ± 0.068	b	4.41 ± 0.038	b
	Tm	2.08 ± 0.006	a	4.37 ± 0.090	b	4.28 ± 0.076	b	4.47 ± 0.157	b	4.32 ± 0.197	b	4.34 ± 0.026	b	4.15 ± 0.030	b
Pt-3- <i>p</i> -coumglc	Me	2.17 ± 0.000	a	6.14 ± 0.051	c	4.31 ± 0.015	bc	4.40 ± 0.010	bc	4.30 ± 0.017	bc	4.26 ± 0.056	b	4.37 ± 0.127	bc
	Tm	2.10 ± 0.015	a	5.28 ± 0.017	d	7.95 ± 0.031	bc	5.25 ± 0.056	cd	5.10 ± 0.244	cd	4.64 ± 0.031	b	4.70 ± 0.031	b
Pn-3- <i>p</i> -coumglc	Me	2.12 ± 0.026	a	4.47 ± 0.035	c	4.71 ± 0.076	c	5.00 ± 0.057	d	4.72 ± 0.032	c	4.63 ± 0.020	bc	4.51 ± 0.047	b
	Tm	2.15 ± 0.015	a	4.55 ± 0.044	bcd	4.40 ± 0.044	b	4.67 ± 0.029	d	4.57 ± 0.087	cd	4.44 ± 0.031	bc	4.41 ± 0.045	bc
Mv-3- <i>p</i> -coumglc	Me	2.35 ± 0.015	a	4.78 ± 0.045	e	6.26 ± 0.086	d	7.02 ± 0.159	f	6.10 ± 0.090	cd	5.95 ± 0.092	c	5.58 ± 0.006	b
	Tm	2.68 ± 0.038	a	10.3 ± 0.000	e	8.64 ± 0.305	c	11.1 ± 0.200	f	9.21 ± 0.079	d	8.35 ± 0.131	c	7.75 ± 0.040	b
Mv-3-caffglc	Me	2.67 ± 0.038	a	6.68 ± 0.051	e	5.80 ± 0.044	d	6.15 ± 0.062	e	5.51 ± 0.040	c	5.41 ± 0.093	bc	5.25 ± 0.051	bc
	Tm	2.21 ± 0.006	a	6.93 ± 0.044	c	6.08 ± 0.080	b	7.25 ± 0.114	d	6.88 ± 0.192	c	6.39 ± 0.038	b	6.19 ± 0.050	b



**Table 2**  
Phenolic compounds contents (mg/L) in musts and wines from Merlot (Me) and Tempranillo (Tm) dried grapes(means, standard deviations and homogenous groups).

			Drying		Maceration												
			Initial (IG)	Final (DG)	0 h (M0)	24 h (M24)	48 h (M48)	72 h (M72)	96 h (M96)								
Hydroxybenzoic acids	Gallic acid	Me	1.27 ± 0.027	a	3.82 ± 0.081	a	4.48 ± 0.168	a	14.9 ± 0.721	b	18.7 ± 2.10	c	21.5 ± 0.252	cd	22.9 ± 1.51	d	
		Tm	1.09 ± 0.102	a	13.5 ± 0.115	ab	12.7 ± 0.153	b	42.4 ± 0.945	e	30.4 ± 1.72	d	29.6 ± 1.77	d	16.2 ± 0.666	c	
	Protocatechuic acid	Me	1.91 ± 0.101	a	2.02 ± 0.251	a	2.59 ± 0.240	a	4.33 ± 0.104	b	7.46 ± 0.629	c	5.00 ± 0.348	b	2.43 ± 0.454	a	
		Tm	1.32 ± 0.099	a	3.36 ± 0.175	b	3.36 ± 0.182	b	2.83 ± 0.430	b	4.11 ± 0.283	b	3.04 ± 0.536	b	0.992 ± 0.154	a	
	Vanillic acid	Me	tr	a	3.03 ± 0.224	b	3.50 ± 0.247	bc	4.53 ± 0.256	d	4.15 ± 0.406	cd	4.18 ± 0.045	c	4.36 ± 0.365	d	
		Tm	tr	a	0.871 ± 0.065	c	1.09 ± 0.050	cd	1.14 ± 0.120	d	1.49 ± 0.130	e	1.25 ± 0.021	de	0.391 ± 0.064	b	
	Syringic acid	Me	2.16 ± 0.124	a	2.52 ± 0.136	a	3.34 ± 0.156	b	4.59 ± 0.061	de	4.15 ± 0.250	cd	4.03 ± 0.061	cd	3.38 ± 0.132	b	
		Tm	tr	a	1.45 ± 0.036	bc	1.56 ± 0.017	c	1.64 ± 0.046	c	2.04 ± 0.115	d	1.93 ± 0.085	d	1.34 ± 0.012	b	
	Esters of hydroxycinnamic acids	<i>cis</i> -Caftaric acid	Me	tr	a	1.39 ± 0.015	c	1.11 ± 0.015	b	4.88 ± 0.056	g	4.04 ± 0.042	f	3.43 ± 0.062	e	3.11 ± 0.007	d
			Tm	0.470 ± 0.002	a	2.18 ± 0.032	cd	1.96 ± 0.010	cd	4.65 ± 0.038	f	3.27 ± 0.167	e	2.39 ± 0.075	d	1.16 ± 0.021	b
<i>trans</i> -Caftaric acid		Me	1.18 ± 0.039	b	0.907 ± 0.141	ab	0.861 ± 0.050	ab	1.000 ± 0.014	b	0.907 ± 0.126	ab	0.981 ± 0.027	ab	0.746 ± 0.050	ab	
		Tm	1.57 ± 0.107	b	1.14 ± 0.010	a	1.75 ± 0.046	bc	1.79 ± 0.032	bc	1.93 ± 0.127	c	1.96 ± 0.078	c	0.096 ± 0.023	a	
<i>cis</i> -Coutaric acid		Me	0.575 ± 0.024	a	0.635 ± 0.025	a	0.742 ± 0.122	ab	1.68 ± 0.012	d	1.48 ± 0.044	d	1.21 ± 0.092	c	0.981 ± 0.138	bc	
		Tm	tr	a	0.872 ± 0.035	bc	0.805 ± 0.012	b	1.60 ± 0.025	d	1.02 ± 0.071	c	0.127	c	0.773 ± 0.048	b	
<i>trans</i> -Coutaric acid		Me	0.712 ± 0.004	a	0.766 ± 0.133	ab	0.790 ± 0.054	ab	0.844 ± 0.019	ab	0.782 ± 0.038	ab	0.808 ± 0.009	ab	1.01 ± 0.123	b	
		Tm	1.23 ± 0.004	e	0.774 ± 0.013	b	0.827 ± 0.005	c	0.814 ± 0.004	bc	0.898 ± 0.027	d	0.944 ± 0.017	d	0.722 ± 0.005	a	
<i>cis</i> -Fertaric acid		Me	0.489 ± 0.019	b	0.221 ± 0.040	a	0.319 ± 0.043	a	0.757 ± 0.088	c	0.711 ± 0.027	c	0.746 ± 0.031	c	0.618 ± 0.046	bc	
		Tm	1.27 ± 0.067	c	0.988 ± 0.082	b	0.964 ± 0.015	b	1.27 ± 0.015	c	1.31 ± 0.082	c	1.07 ± 0.155	bc	0.386 ± 0.016	a	
<i>trans</i> -Fertaric acid		Me	0.073 ± 0.001	a	0.129 ± 0.041	ab	0.221 ± 0.013	bc	0.377 ± 0.044	d	0.346 ± 0.004	d	0.396 ± 0.036	d	0.241 ± 0.025	c	
		Tm	0.057 ± 0.011	a	0.250 ± 0.016	c	0.305 ± 0.005	c	0.436 ± 0.006	d	0.445 ± 0.029	d	0.471 ± 0.031	d	0.129 ± 0.011	b	
Flavan-3-ol derivatives	(+) -Catechin	Me	5.71 ± 0.570	a	10.5 ± 0.465	a	9.92 ± 0.969	a	38.2 ± 3.96	b	46.1 ± 3.42	b	74.6 ± 2.20	d	66.4 ± 2.53	c	
		Tm	3.99 ± 0.537	a	13.3 ± 0.635	b	2.86 ± 0.146	a	17.2 ± 0.500	c	17.8 ± 0.231	c	17.2 ± 0.272	c	13.7 ± 0.871	b	
	(–) -Epicatechin	Me	14.3 ± 0.191	a	57.2 ± 2.11	c	46.7 ± 1.11	b	63.8 ± 1.91	cd	71.6 ± 1.99	de	76.1 ± 3.50	e	89.5 ± 6.22	f	
		Tm	44.9 ± 1.50	a	75.2 ± 2.45	c	46.3 ± 2.32	a	77.3 ± 1.90	c	77.9 ± 2.97	c	78.0 ± 4.03	c	61.9 ± 3.39	b	
	Procyanidins B1 + B3	Me	3.00 ± 0.096	a	5.38 ± 0.465	a	0.683 ± 0.133	a	21.6 ± 0.100	b	30.7 ± 1.91	bc	32.9 ± 1.80	c	44.5 ± 0.778	d	
		Tm	21.1 ± 0.379	cd	20.0 ± 0.551	cd	2.93 ± 0.066	a	23.9 ± 0.693	e	23.4 ± 0.755	de	23.3 ± 1.74	de	12.7 ± 0.458	b	
	Procyanidins B2 + B4	Me	4.69 ± 0.121	a	4.19 ± 0.358	a	2.10 ± 0.495	a	12.4 ± 1.36	b	15.4 ± 0.503	bc	17.9 ± 0.425	c	23.0 ± 2.34	d	
		Tm	7.84 ± 0.555	b	11.8 ± 1.07	c	2.12 ± 0.067	a	6.85 ± 0.866	b	12.7 ± 0.436	c	14.0 ± 1.56	c	5.99 ± 0.046	b	
Flavonols	Quercetin-3-glucur + Quercetin-3-galac	Me	0.963 ± 0.014	a	3.65 ± 0.137	b	3.41 ± 0.127	b	8.79 ± 0.025	d	8.01 ± 0.076	c	8.17 ± 0.096	c	9.12 ± 0.147	d	
		Tm	0.361 ± 0.006	a	2.66 ± 0.023	d	0.226 ± 0.006	a	1.11 ± 0.006	c	1.30 ± 0.006	c	1.11 ± 0.154	c	0.760 ± 0.019	b	
	Quercetin-3-glc	Me	1.82 ± 0.012	a	4.32 ± 0.121	b	4.85 ± 0.150	c	6.14 ± 0.067	d	5.13 ± 0.040	c	4.89 ± 0.278	c	3.96 ± 0.065	b	
		Tm	0.546 ± 0.005	b	3.05 ± 0.036	g	0.085 ± 0.010	a	1.37 ± 0.020	e	1.67 ± 0.030	f	1.17 ± 0.040	d	1.00 ± 0.028	c	
	Laricitrin-3-glc	Me	0.239 ± 0.013	a	0.830 ± 0.032	b	0.984 ± 0.032	c	1.02 ± 0.015	c	0.946 ± 0.011	c	0.849 ± 0.031	b	0.775 ± 0.001	b	
		Tm	0.122 ± 0.002	a	0.889 ± 0.013	f	0.132 ± 0.006	a	0.418 ± 0.006	c	0.466 ± 0.005	d	0.782 ± 0.016	e	0.295 ± 0.018	b	
	Kaempferol-3-glc	Me	0.300 ± 0.015	a	0.817 ± 0.014	cd	0.628 ± 0.020	b	0.881 ± 0.012	d	0.714 ± 0.026	bc	0.661 ± 0.044	b	0.619 ± 0.064	b	
		Tm	0.429 ± 0.003	a	1.98 ± 0.071	e	1.29 ± 0.040	b	2.09 ± 0.020	e	1.87 ± 0.142	de	1.68 ± 0.079	cd	1.44 ± 0.065	bc	
	Myricetin	Me	0.016 ± 0.002	a	0.156 ± 0.007	c	0.151 ± 0.008	c	0.152 ± 0.005	c	0.120 ± 0.002	b	0.119 ± 0.001	b	0.125 ± 0.014	b	
		Tm	0.008 ± 0.002	a	0.044 ± 0.006	c	0.035 ± 0.004	bc	0.069 ± 0.011	d	0.067 ± 0.006	d	0.018 ± 0.001	ab	0.013 ± 0.002	a	
	Isorhamnetin-3-glc + Kaempferol-3-glucur	Me	0.585 ± 0.009	a	4.95 ± 0.197	f	4.35 ± 0.150	de	4.52 ± 0.005	e	4.04 ± 0.053	cd	3.74 ± 0.184	bc	3.46 ± 0.045	b	
		Tm	0.161 ± 0.004	a	1.34 ± 0.006	d	0.850 ± 0.050	b	1.37 ± 0.006	d	1.14 ± 0.006	c	1.16 ± 0.017	c	1.13 ± 0.015	c	
	Syringetin-3-glc	Me	0.345 ± 0.024	a	3.31 ± 0.0131	c	3.03 ± 0.107	bc	3.11 ± 0.021	bc	3.07 ± 0.032	bc	2.98 ± 0.131	b	2.93 ± 0.015	b	
		Tm	0.179 ± 0.004	a	2.01 ± 0.049	d	1.22 ± 0.015	b	2.13 ± 0.021	e	1.78 ± 0.021	c	1.83 ± 0.059	c	1.86 ± 0.035	c	
	Quercetin	Me	tr	a	0.783 ± 0.135	b	1.15 ± 0.055	c	1.66 ± 0.006	d	1.66 ± 0.021	d	1.65 ± 0.020	d	1.63 ± 0.061	d	
		Tm	tr	a	0.646 ± 0.025	bc	0.561 ± 0.011	b	1.14 ± 0.021	d	0.827 ± 0.060	c	1.05 ± 0.136	d	1.08 ± 0.056	d	
	Kaempferol	Me	tr	a	0.290 ± 0.013	b	0.353 ± 0.012	cd	0.426 ± 0.011	e	0.364 ± 0.004	d	0.352 ± 0.003	cd	0.328 ± 0.007	c	
		Tm	tr	a	0.379 ± 0.011	b	0.433 ± 0.007	bc	0.612 ± 0.012	d	0.459 ± 0.009	c	0.485 ± 0.036	c	0.580 ± 0.016	d	
	Isorhamnetin	Me	tr	a	0.222 ± 0.021	b	0.369 ± 0.016	c	0.386 ± 0.034	cd	0.438 ± 0.009	de	0.454 ± 0.012	e	0.462 ± 0.011	e	
		Tm	tr	a	0.060 ± 0.002	bc	0.056 ± 0.002	b	0.121 ± 0.010	d	0.082 ± 0.007	c	0.127 ± 0.012	d	0.137 ± 0.005	d	

glucur, glucuronide; galac, galactoside; glc, glucoside.



**Fig. 6.** Concentrations (mg/L) of hydroxybenzoic acids, esters of hydroxycinnamic acids, flavan-3-ol derivatives and flavonols in musts and wines from Merlot and Tempranillo dried grapes (means and standard deviations).

2006). These compounds were present at low concentrations (Table 2), probably because they were gradually degraded by the effect of enzymatic browning reactions during grape ripening, and also by the effect of harvesting, transport and storage of the grapes. Their concentrations in both grape varieties increased during the grape-drying process (Fig. 6); however, if the concentration factors calculated from water evaporation losses are considered, then these compounds must have been degraded to some extent during the drying process (basically through enzymatic browning reactions). The presence of ethanol during maceration facilitated the extraction of these compounds from grape skins and pulp to the must during the first 24 h in both wines. Then, their concentrations fell throughout the rest of the process and the final wines contained very small amounts of esters, which suggest that they served as substrates for major reactions during maceration. Thus, esters may have been degraded to the free forms of the corresponding acids, as previously found by Monagas et al. (2005) during the ageing of bottled wines. Also, these non-flavonoids may form co-pigments with anthocyanins, which also exhibited a decrease in concentration. Although this process has been widely studied during wine ageing (Revilla & Gonzalez-SanJose, 2003), we cannot rule out a reaction between anthocyanins and esters, since co-pigmentation complexes are very easily formed (Gutierrez, Lorenzo, & Espinosa, 2005).

The concentrations of flavan-3-ol derivatives in musts from fresh grapes of the two varieties were much higher than those of the other phenolic families (Fig. 6); in fact, they accounted for 69% and 90% of all phenolic compounds in Merlot and Tempranillo, respectively. As can be seen from the Table 2, the Tempranillo sample contained much higher (–)-epicatechin and procyanidin levels than the Merlot sample. Only the (–)-epicatechin concentration in-

creased significantly (4 times) during grape-drying in Merlot, however, in Tempranillo all of these compounds increased, except procyanidin B1. Since all compounds should have increased by the effect of water evaporation (1.59 times in Merlot and 2.27 in Tempranillo), some flavan-3-ols may have taken part in various types of reactions, including non-enzymatic browning, autooxidation and, especially, oxidation, by enzymes such as polyphenol oxidases or peroxidases (Macheix, Sapis, & Fleuriet, 1991), which would have reduced their concentrations. Some flavan-3-ol derivatives of a high molecular weight are also known to be hydrolysed into phenols of a lower molecular weight in red wines (Dallas, Ricardo-da-Silva, & Laureano, 1995) and model wine solutions under different conditions of pH, temperature and acetaldehyde concentrations (Dallas, Hipolito-Reis, Ricardo-da-Silva, & Laureano, 2003). These reactions may account for the increase in the concentrations of flavan-3-ol monomers. Although these compounds are known to be poor co-pigments (Gutierrez et al., 2005), catechins and proanthocyanidins are the main substrates for condensation with monomeric anthocyanins and their subsequent evolution to polymeric anthocyanins (Budic-Leto et al., 2006). Based on the foregoing, the evolution of the flavan-3-ol derivatives during the grape drying process may have been the result of a balance between reactions that increase their concentration and others that produce losses. Most of the abovementioned reactions, excluding the enzymatic reactions due to the presence of ethanol, can continue to develop during maceration; also, there may be an extraction from solid portions of the grapes, since most flavan-3-ol derivatives are known to occur in grape seeds (Monagas, Gomez-Cordoves, Bartolome, Laureano, & Ricardo-da-Silva, 2003). Thus, flavan-3-ol derivatives concentrations rose from 77.2 to 136 mg/L in Merlot, and changed only slightly (from 120 to 125 mg/L) in Tempranillo,

during the first 24 h of maceration. Further maceration in the presence of grape skins increased such concentrations markedly in Merlot (223 mg/L), but decreased to 94.3 mg/L in Tempranillo, at 96 h.

Flavonols are a flavonoid family ranging from white to yellow in colour depending on their structure and can thus confer brown colour when present at high concentrations in white wines, but in red wines flavonols are masked by anthocyanins (Castillo-Muñoz, Gómez-Alonso, García-Romero, & Hermosín-Gutiérrez, 2007). The initial grapes were found to contain some flavonols, which jointly accounted for 17.2% and 2.1% of all phenolic compounds in must from Merlot and Tempranillo, respectively (Fig. 6). Neither varieties contained any aglycones and the major flavonol in both varieties was quercetin-3-glucoside, although this fact would depend on the grape variety (Hermosín-Gutiérrez, Sánchez-Palomo Lorenzo, & Vicario Espinosa, 2005). Grape drying increased the concentrations of all flavonols, to a greater extent than expected from water evaporation alone. This suggests that, as noted earlier, this stage of the vinification process involves the extraction of these compounds from grape skins, their greatest source, into the must (Cheynier & Rigaud, 1986). Flavonol concentrations decreased slightly, and gradually, in Tempranillo wines from the moment of the addition of alcohol to 24 h of maceration. The reduction can be ascribed to co-pigmentation reactions with anthocyanins – in fact, flavonols are among the most effective co-pigments (Boulton, 2001; Gonzalez-Manzano et al., 2004). However, in Merlot wines the flavonol concentration increased slightly because the skin extraction was higher than the co-pigmentation reactions.

The polymers encompassed substances formed in various types of reactions, including non-enzymatic browning (Maillard, autooxidation reactions) and enzymatic browning, in addition to anthocyanin co-pigmentation reactions. To a lesser extent, these compounds have also been extracted from grape skins. As noted earlier, the grape skins undergo structural changes, due to the effect of water losses during drying, and are more prone to break

up as a result of their reduced resilience. Fig. 7 shows the concentrations (mg/L) of total and coloured polymers in musts and wines studied. The must from fresh Tempranillo grapes exhibited a higher total polymer concentration, but a slightly lower concentration of coloured polymers, than that from Merlot grapes. The total concentration of polymers increased markedly in Merlot must (46.7 times), and less so in Tempranillo must (4.8 times), during chamber drying; the final concentration amounted to 255 mg/L in the former must and 440 mg/L in the latter. The highest concentrations of coloured and colourless polymers during maceration in the presence of grape skin were observed during the first 24 h of contact, after which changes were insubstantial. The concentrations of coloured polymers, as determined from the absorbance at 520 nm, increased during grape drying and maceration in both varieties. It was the formation of these polymers that probably reduced the concentration of monomeric anthocyanins.

In summary, drying grapes in a controlled-temperature chamber as an alternative to sun-drying with a view to the production of sweet red wines was found to substantially shorten the time needed to obtain raisins (3–7 days or even more depending on the particular climatic conditions). Chamber drying has the advantage that it is climate-independent and can be performed anywhere. Also, since it requires no sunlight, it allows the selection of grapes of the ripeness and health status required, particularly as regards avoiding growth of toxin-producing fungi. Chamber drying causes browning but there is a higher increase in the proportion of red-coloured compounds, which results in a favourable balance for the production of red wine. This is not the case of the two currently marketed wines obtained from sun-dried grapes, where the browner hues mask the reddish ones, which is not desirable for consumers. Based on the results of this study, the optimum time of maceration in the presence of grape skin is 24 h, which provides an end-product of a highly acceptable colour, tannin, and phenolic compound composition, for marketing in comparison with other commercial sweet red wines. However, the colour

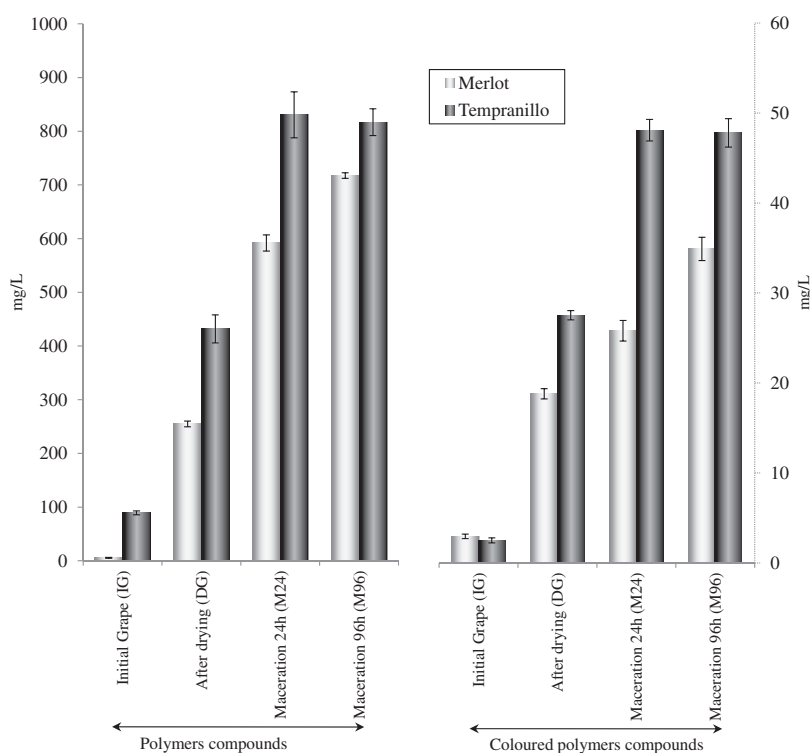


Fig. 7. Concentrations (mg/L) of total and coloured polymers in musts and wines from Merlot and Tempranillo dried grapes (means and standard deviations).

stability of wine obtained from chamber-dried grapes should be studied in greater depth to know the stability of the coloured compounds.

## Acknowledgments

The authors gratefully acknowledge financial support from the Spanish Government, Minister of Education (FPU scholarship of Ana Marquez) for the realization of this work.

## References

- Amrani, K., & Glories, Y. (1995). Tanins et anthocyanes: Localisation dans la baie de raisin et mode d'extraction. *Revue Française d'Œnologie*, 153, 28–31.
- Blouin, J. (1992). *Techniques d'analyses des moûts e des vins*. Ed. Dujardin-Salleron.
- Boulton, R. (2001). The copigmentation of anthocyanins and its role in the color of red wine: A critical review. *American Journal of Enology and Viticulture*, 52(2), 67–87.
- Budic-Leto, I., Lovrić, T., Kljusuric, J. G., Pezo, I., & Vrhovsek, U. (2006). Anthocyanin composition of the red wine Babić affected by maceration treatment. *European Food Research and Technology*, 222(3–4), 397–402.
- Canals, R., Laudry, M. C., Valls, J., Canals, J. M., & Zamora, F. (2005). Influence of ethanol concentration on the extraction of color and phenolic compounds from the skin and seeds of Tempranillo grapes at different stages of ripening. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(10), 4019–4025.
- Castillo-Muñoz, N., Gómez-Alonso, S., García-Romero, E., & Hermosín-Gutiérrez, I. (2007). Flavonol profiles of Vitisvinifera red grapes and their single-cultivar wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 992–1002.
- Cejudo-Bastante, M. J., Hermosin-Gutierrez, I., & Perez-Coello, M. S. (2011). Effect of wine micro-oxygenation treatment and storage period on colour-related phenolics, volatile composition and sensory characteristics. *LTW, Food Science and Technology*, 44, 866–874.
- Chazarra, S., Garcia-Carmona, F., & Cabanes, J. (2001). Hysteresis and positive cooperativity of iceberg lettuce polyphenol oxidase. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 289(3), 769–775.
- Cheyrier, V., & Rigaud, J. (1986). HPLC separation and characterization of flavonoles in the skin of Vitis vinifera var. cinsault. *American Journal of Enology and Viticulture*, 37, 248–252.
- Cheyrier, V., & Moutounet, M. (1992). Oxidative reactions of caffeic acid in model systems containing polyphenol oxidase. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40(11), 2038–2044.
- Dallas, C., Hipolito-Reis, P., Ricardo-da-Silva, J. M., & Laureano, O. (2003). Influence of acetaldehyde, pH, and temperature on transformation of procyanidins in model wine solutions. *American Journal of Enology and Viticulture*, 54(2), 119–124.
- Dallas, C., Ricardo-da-Silva, J. M., & Laureano, O. (1995). Degradation of oligomericprocyanidins and anthocyanins in a TintaRoriz red wine during maturation. *Vitis*, 34(1), 51–56.
- Dimitrowska, M., Bocevska, M., Dimitrowski, D., & Murkovic, M. (2011). Anthocyanins composition of Vranec, Cabernet Sauvignon, Merlot and Pinot Noir grapes as indicator of their varietal differentiation. *European Food Research and Technology*, 232, 591–600.
- Doymaz, I. (2006). Drying kinetics of black grapes treated with different solutions. *Journal of Food Engineering*, 76(2), 212–217.
- García-Beneytez, E., Revilla, E., & Cabello, F. (2002). Anthocyanin pattern of several red grape cultivars and wines made from them. *European Food Research and Technology*, 215(1), 32–37.
- Glories, Y. (1988). *C.R. Activitiès de Recherches Institut d'Œnologie* (Vol. 81, pp 1986–1988).
- Gomez-Plaza, E., Gil-Muñoz, R., Lopez-Roca, J. M., Martinez-Cutillas, A., & Fernandez-Fernandez, J. I. (2001). Phenolic compounds and color stability of red wines: Effect of skin maceration time. *American Journal of Enology and Viticulture*, 52(3), 266–270.
- Gonzalez-Manzano, S., Rivas-Gonzalo, J. C., & Santos-Buelga, C. (2004). Extraction of flavan-3-ols from grape seed and skin into wine using simulated maceration. *Analytica Chimica Acta*, 513(1), 283–289.
- Guadalupe, Z., & Avestaran, B. (2008). Changes in the color components and phenolic content of red wines from Vitisvinifera L. cv. "Tempranillo" during vinification and aging. *European Food Research and Technology*, 228(1), 29–38.
- Gutierrez, I. H., Lorenzo, E. S. P., & Espinosa, A. V. (2005). Phenolic composition and magnitude of copigmentation in young and shortly aged red wines made from the cultivars, Cabernet Sauvignon, Cencibel, and Syrah. *Food Chemistry*, 92(2), 269–283.
- Hermosín-Gutiérrez, I., Sánchez-Palomo Lorenzo, E., & Vicario Espinosa, A. (2005). Phenolic composition and magnitude of copigmentation in young and shortlyagedredwines made from cultivars Cabernet Sauvignon, Cencibel and Syrah. *Food Chemistry*, 92, 269–283.
- Karadeniz, F., Durst, R. W., & Wrolstad, R. E. (2000). Polyphenolic composition of raisin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(11), 5343–5350.
- Kim, J. S., & Lee, Y. S. (2008). Effect of reaction pH on enolization and racemization reactions of glucose and fructose on heating with amino acid enantiomers and formation of melanoidins as result of the Maillard reaction. *Food Chemistry*, 108(2), 582–592.
- Jaworski, A., & Lee, C. Y. (1987). Fractionation and HPLC determination of grape phenolics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 35, 257–259.
- Macheix, J. J., Sapis, J. C., & Fleuriet, A. (1991). Phenolic compounds and polyphenoloxidase in relation to browning in grapes and wines. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 30(4), 441–486.
- Margaris, D. P., & Chiaus, A. G. (2007). Experimental study of hot air dehydration of Sultana grapes. *Journal of Food Engineering*, 79(4), 1115–1121.
- Monagas, M., Bartolome, B., & Gomez-Cordoves, C. (2005). Evolution of polyphenols in red wines from Vitisvinifera L. during aging in the bottle. Non-anthocyanin phenolic compounds. *European Food Research and Technology*, 220(3–4), 331–340.
- Monagas, M., Gomez-Cordoves, C., Bartolome, B., Laureano, O., & Ricardo-da-Silva, J. M. (2003). Monomeric, oligomeric, and polymeric flavan-3-ol composition of wines and grapes from Vitis vinifera L. cv. Graciano, Tempranillo, and Cabernet Sauvignon. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(22), 6475–6481.
- Oszmianski, J., Ramos, T., & Bourzeix, M. (1988). Fractionation of phenolicscompounds in redwines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 39, 259–262.
- Ortega-Meder, M. D., Rivas-Gonzalo, J. C., Vicente, J. L., & Santos-Buelga, C. (1994). Diferenciación de variedades de uvas tintas por su composición antocianica. *Revista Española de Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 34(4), 409–426.
- Pomar, F., Novo, M., & Masa, A. (2005). Varietal differences among the anthocyanin profiles of 50 red table grape cultivars studied by high performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1094(1–2), 34–41.
- Revilla, I., & Gonzalez-SanJose, M. L. (2003). Compositional changes during the storage of red wines treated with pectolytic enzymes: Low molecular-weight phenols and flavan-3-ol derivative levels. *Food Chemistry*, 80(2), 205–214.
- Rivero-Perez, M. D., Perez-Magariño, S., & Gonzalez-SanJose, M. L. (2002). Role of melanoidins in sweetwines. *Analytica Chimica Acta*, 458(1), 169–175.
- Rodriguez Montealegre, R., Romero Peces, R., ChaconVozmediano, J. L., MartinezGascuña, J., & Garcia Romero, E. (2006). Phenolic compounds in skins and seeds of ten grape Vitis vinifera varieties grown in a warm climate. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(6–7), 687–693.
- Roggero, J. P., Coen, S., & Ragonnet, B. (1986). High performance liquid chromatography survey on changes in pigment content in ripening grapes of Syrah. An approach to anthocyanin metabolism. *American Journal of Enology and Viticulture*, 37(1), 77–83.
- Romero-Cascales, I., Fernandez-Fernandez, J. I., Lopez-Roca, J. M., & Gomez-Plaza, E. (2005). The maceration process during winemaking extraction of anthocyanins from grape skins into wine. *European Food Research and Technology*, 221(1–2), 163–167.
- Ruiz Bejarano, M. J., Rodriguez Doderó, M. C., & Barroso, C. G. (2010). Optimizing the process of making sweet wines to minimize the content of ochratoxin A. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(24), 13006–13012.
- Serratos, M. P., Lopez-Toledano, A., Merida, J., & Medina, M. (2008a). Changes in color and phenolic compounds during the raising of grape cv. Pedro Ximenez. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(8), 2810–2816.
- Serratos, M. P., Lopez-Toledano, A., Medina, M., & Merida, J. (2008b). Drying of Pedro Ximenez grapes in chamber at controlled temperature and with dipping pretreatments. Changes in the color fraction. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(22), 10739–10746.
- Serratos, M. P., Lopez-Toledano, A., Millan, C., Medina, M., & Merida, J. (2010). Changes of ochratoxin A in grapes inoculated with *Aspergillus carbonarius* and subjected to chamber-drying under controlled conditions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(22), 11907–11912.
- Somers, T. C., & Evans, M. E. (1977). Wine quality: Correlations with colour density and anthocyanin equilibria in a group of young red wines. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 25, 1369–1379.
- Vidal, S., Meudec, E., & Cheyrier, V. (2004). Mass spectrometric evidence for the existence of oligomeric anthocyanins in grape skins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 7144–7151.
- Zou, H., Kilmartin, P. A., Inglis, M. J., & Frost, A. (2002). Extraction of phenolic compounds during vinification of Pinot Noir wine examined by HPLC and cyclic voltammetry. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 8(3), 163–174.

## Formation of Vitisins and Anthocyanin–Flavanol Adducts during Red Grape Drying

Ana Marquez,<sup>†</sup> Montserrat Dueñas,<sup>‡</sup> María P. Serratosa,<sup>†</sup> and Julieta Merida<sup>\*†</sup>

<sup>†</sup>Department of Agricultural Chemistry, Faculty of Sciences, Edificio Marie Curie, Campus de Rabanales, University of Cordoba, E-14014 Cordoba, Spain

<sup>‡</sup>Polyphenols Research Group, Nutrition and Bromatology Section, Faculty of Pharmacy, Campus Miguel de Unamuno, E37007 Salamanca, Spain

**ABSTRACT:** This study evaluated the formation of anthocyanin-derived compounds during the production of sweet red wines from Merlot and Syrah grapes previously chamber-dried under controlled-temperature conditions. The musts from both grape varieties were found to contain pelargonidin-3-glucoside throughout the vinification process. Besides, HPLC-DAD-MS revealed the presence of pyranoanthocyanins in unfermented musts from the raisins. These compounds are adducts resulting from the cycloaddition of pyruvic acid (type A vitisins) and acetaldehyde (type B vitisins) to anthocyanin molecules. The analyses additionally revealed the presence of products of the condensation via a methylmethine bridge between anthocyanins and (epi)catechin, which requires the presence of acetaldehyde. The absence of pyruvic acid, acetaldehyde, and ethanol in the musts from fresh grapes and their presence in those from dried grapes support the idea that these compounds result from enzymatic transformations because the vinification of the musts involves no alcoholic fermentation. The drying process alters the permeability of grape membranes by the lipoxygenase activation effect (LOX), a switch to an anaerobic metabolism and the resulting triggering of the alcohol dehydrogenase enzyme (ADH). The activation of these and several other enzymes confirmed the occurrence of enzymatic transformations and the formation of vitisin A, acetylvitisin A, and the B vitisins of malvidin-3-glucoside, peonidin-3-glucoside, peonidin-3-acetylglucoside, and malvidin-3-acetylglucoside, as well as the adducts Pn-3-glc-methylmethine(epi)catechin, Mv-3-glc-methylmethine(epi) catechin, and Mv-3-acetylmethylmethine(epi)catechin.

**KEYWORDS:** red raisins, sweet wines, vitisins, anthocyanin adducts

### INTRODUCTION

Off-vine grape sun-drying is a widely used practice for the production of sweet wines.<sup>1,2</sup> A large variety of fruit-drying procedures currently exist, all of which raise the sugar concentration of the fruit by the effect of its dehydration.<sup>3,4</sup> As a rule, the dehydration of the fruit produces a stress situation, which causes substantial alterations in its metabolism.<sup>5</sup> Thus, Bellicontro et al.<sup>6</sup> found that the stress situation took place when the weight loss was 10–15%, causing a change in the metabolism from aerobic to anaerobic. Constantini et al.<sup>7</sup> confirmed the metabolic change and that the formation of ethanol was also accompanied by its oxidation to acetaldehyde. In addition, the dehydration of grapes affects secondary metabolic processes such as the synthesis of volatiles and polyphenols depending on the amount of water loss.<sup>8</sup> This is not so clear for anthocyanins. Thus, Bellicontro et al.<sup>6</sup> found red grapes of the Sangiovese variety dried in a tunnel at 21 °C to exhibit an increase in total anthocyanins relative to slowly dried grapes of the same variety, whereas Moreno et al.<sup>9</sup> found the increase in the anthocyanin content of Pinot noir grapes tunnel-dried at 22 °C to be the exclusive result of water evaporation.

Vinification is known to cause the diffusion of anthocyanins present in grape skin cells to the must.<sup>10,11</sup> Subsequently, these compounds undergo a number of reactions including copigmentation, which involves the bonding of anthocyanins with organic compounds, usually colorless, including some phenolic acids and flavonoids.<sup>12</sup> Also, monomeric anthocyanins

initially present in grapes and musts are involved in oxidation, cycloaddition, and polymerization reactions giving new pigments that increase the color stability of the resulting wine.<sup>13</sup>

The processes by which anthocyanins react with flavanols, whether by direct condensation or via a methylmethine bridge, have been issues for many years.<sup>14</sup> Some pigments derived from the acetaldehyde-mediated condensation between flavanols and malvidin-3-glucoside have been studied by some authors in model solution, and the color increase with a shift toward violet was attributed to the formation of new colored compounds.<sup>15–18</sup> The formation of these pigments in experimental red wines is favored at lower pH values.<sup>19</sup> The presence of these derivatives protects the wine color from the effect of pH changes and bleaching by SO<sub>2</sub>.<sup>18,20,21</sup> Although these compounds have been detected in red wines from diverse grape varieties vinified and aged in various ways,<sup>22–24</sup> they have never been identified during the drying of red grapes.

Other widely studied types of phenolic compounds are pyranoanthocyanins, which are orangish red colored adducts formed in condensation reactions over the anthocyanins, which become stable oligomers by substitution at the C4 position of the anthocyanins.<sup>25</sup> These oligomers, which are not initially present in the grapes, but formed during alcoholic fermentation

**Received:** October 18, 2011

**Revised:** May 29, 2012

**Accepted:** June 18, 2012

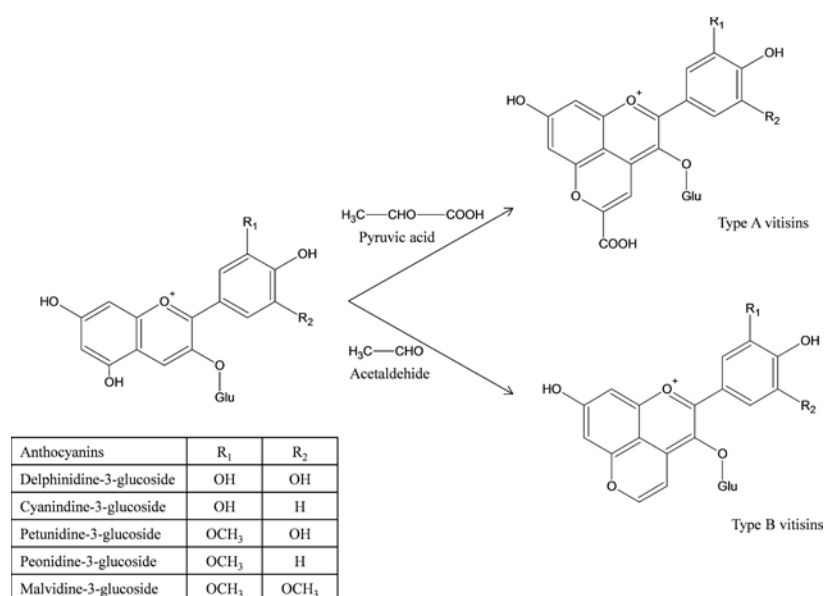


Figure 1. Structures of vitisin A and vitisin B.

and in the following vinification steps, are interesting due to the color stability of the red wines by the effect of their increased resistance to bleaching by sulfur dioxide relative to other anthocyanins.<sup>26,27</sup> Also, they are less prone to hue alterations by the effect of pH changes,<sup>28</sup> so virtually all of these adducts contribute to wine color.

Especially prominent pyranoanthocyanins are type A and B vitisins (Figure 1). Vitisins A are adducts resulting from the cycloaddition of a molecule of pyruvic acid to one of anthocyanin.<sup>28</sup> Vitisins B are adducts resulting from the cycloaddition of a molecule of acetaldehyde to one of anthocyanin.<sup>27</sup> Although both types of vitisins are formed during alcoholic fermentation, they exhibit antagonistic kinetics because acetaldehyde can compete with pyruvic acid for anthocyanin molecules.<sup>29</sup>

Bakker<sup>30</sup> found fortified Porto wines to contain greater amounts of vitisins A than did red table wines. Fortification halts fermentation before sugars are depleted. As a result, the formation of type A vitisins is favored because the pyruvic acid concentration remaining in the wine would have been greater if the process had continued to deplete all of the sugar.<sup>29</sup> In addition, fortified Porto wines also contain greater amounts of type B vitisins than do other wines<sup>26</sup> by the effect of the acetaldehyde needed for their synthesis being externally added via distillates.<sup>30</sup>

The purpose of this work was to examine the formation of condensation adducts between anthocyanins and flavanols via methylmethine bridges and pyranoanthocyanins during the drying of Merlot and Syrah red grapes under controlled temperature and moisture conditions. Also, changes in the concentration of these adducts and remaining anthocyanin compounds during the vinification process have been studied.

## MATERIALS AND METHODS

**Grape Drying.** Merlot and Syrah grapes were harvested in the Montilla-Moriles region (southern Spain) in 2009, with initial concentrations of reducing sugars of 211 and 231 g/L, respectively. An amount of about 30 kg of grapes was uniformly distributed in several trays (11 kg/m<sup>2</sup>) and allowed to dry in a Frisol Climatronic

chamber at an air temperature of 40 °C and a constant relative humidity of ca. 20%. During the drying process, samples were periodically collected, and the weight loss of the grapes was measured. The drying was concluded when the reducing sugar concentration was around 300 g/L.

In the laboratory, the whole bunches of raisins were pressed on a vertical press similar to industrial models. The maximum pressure reached in each pressing cycle was 300 bar, and each raisin batch was pressed in two cycles.

The resulting musts were fortified to 15% (v/v) alcohol wine, holding then maceration with the skins for 48 h at 25 °C. On the basis of previous studies,<sup>31</sup> the maceration time of 48 h was chosen.

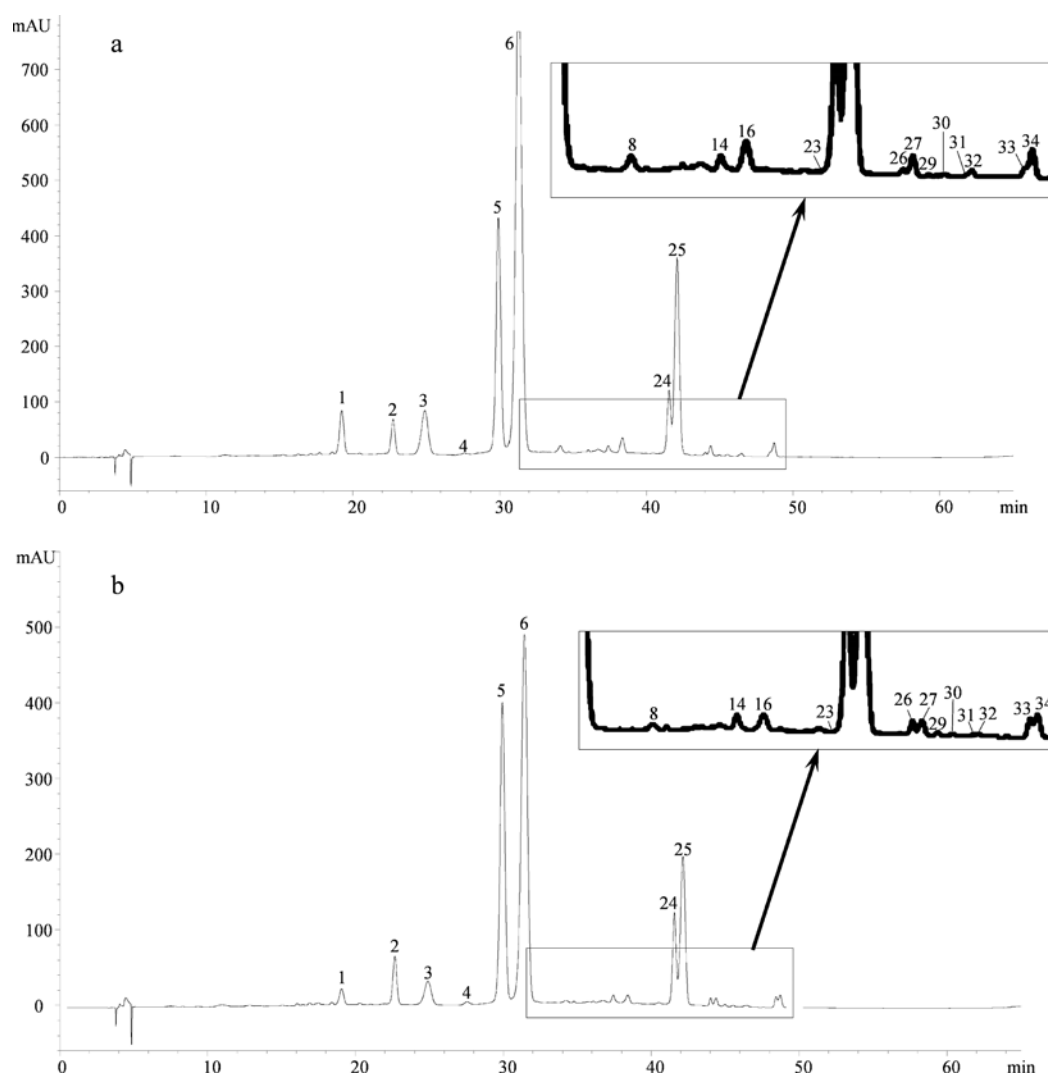
Musts from fresh grapes, musts from the grapes after the drying and wines at the end of the process of maceration were taken. All samples were centrifuged at 3000 rpm and filtered prior to analysis. All measurements were performed in triplicate.

**Reducing Sugars.** The measurement of reducing sugars was performed by refractometry, using a refractometer model Atago Master (Master Baume 2594, Atago, Japan).

**Pyruvic Acid.** Pyruvic acid was determined enzymatically, using a K-PYRUV 03/07 kit from Megazyme (Wicklow, Ireland). The determination is based on the absorbance change at 340 nm caused by the oxidation of NADH to NAD<sup>+</sup> in the presence of the lactate dehydrogenase enzyme as cofactor during the reduction of pyruvic acid to lactic acid.

**Ethanol Content.** This was determined according to the method of Crowell and Ough.<sup>32</sup> To this end, ethanol in the sample was collected by steam and then reacted with acid potassium dichromate. The reaction was spectrophotometrically monitored via the absorbance at 600 nm against a blank on a Perking Elmer Lambda 25 spectrophotometer.

**Extraction of Anthocyanins.** A volume of 2 mL of must/wine was passed through a Sep-Pak C18 cartridge, with 900 mg of filling (Long Body Sep-Pak Plus; Waters Associates, Milford, MA) that was previously activated with 5 mL of methanol and washed with aqueous 0.01% (v/v) HCl. The cartridge was washed successively with 10 mL of 0.01% aqueous HCl and 5 mL of ethyl acetate, and anthocyanins were recovered with 5 mL of methanol, which was acidified to pH 2 with HCl. Anthocyanin samples were evaporated to dryness using a vacuum centrifuge thermostated at 35 °C and then dissolved in aqueous 0.01% (v/v) HCl and 10% methanol acidified to pH 2. Samples were passed through a nylon filter of 0.45 μm pore size for HPLC analysis.



**Figure 2.** HPLC-DAD chromatograms at 520 nm of anthocyanins of the musts from fresh grapes of Merlot (a) and Syrah (b) varieties.

**HPLC-DAD-MS Analyses.** The anthocyanin extracts were analyzed using a Hewlett-Packard 1100 series liquid chromatograph (Agilent Technologies, Waldbronn, Germany). Separation was achieved on an AQUA (Phenomenex, Torrance, CA) reverse phase C18 column (5  $\mu\text{m}$ , 150 mm  $\times$  4.6 mm i.d.) thermostated at 35  $^{\circ}\text{C}$ . The solvents used were (A) 0.1% trifluoroacetic acid in water and (B) 100% HPLC grade acetonitrile. The gradient employed was as follows: isocratic 10% B for 3 min, from 10 to 15% B for 12 min, isocratic 15% B for 5 min, from 15 to 18% B for 5 min, from 18 to 30% B for 20 min, and from 30 to 35% for 5 min, at a flow rate of 0.5 mL  $\text{min}^{-1}$ . Detection was carried out in a diode array detector (DAD), using 520 nm as the preferred wavelength, and in a mass spectrometer (MS) connected to the HPLC system via the DAD cell outlet. MS detection was performed in an API 3200 Qtrap (Applied Biosystems, Darmstadt, Germany) equipped with an ESI source and a triple-quadrupole-ion trap mass analyzer that was controlled by the Analyst 5.1 software. Zero grade air served as the nebulizer gas (40 psi) and turbo gas (600  $^{\circ}\text{C}$ ) for solvent drying (50 psi). Nitrogen served as the curtain (100 psi) and collision gas (high). Both quadrupoles were set at unit resolution. The ion spray voltage was set at 5000 V in the positive mode. Enhanced MS (EMS) method was used. Setting used were as follows: declustering potential (DP), 41 V; entrance potential (EP), 7.5 V; collision energy (CE), 10 V. Enhanced product ion (EPI) mode was further performed to obtain the fragmentation pattern of the

parent ion(s) using the following parameters: DP, 41 V; EP, 7.5 V; CE, 10 V; and collision energy spread (CES), 0 V.

For the quantitative analysis of anthocyanins, a calibration curve was obtained by injection of different concentrations of delphinidin 3-O-glucoside (for delphinidin-based anthocyanins), cyanidin 3-O-glucoside (for cyanidin-based anthocyanins), petunidin 3-O-glucoside (for petunidin-based anthocyanins), peonidin 3-O-glucoside (for peonidin-based anthocyanins), malvidin 3-O-glucoside (for malvidin-based anthocyanins), and pelargonidin 3-O-glucoside standards purchased from Extrasynthèse (Genay, France).

**Gas Chromatography.** For acetaldehyde quantification, an Agilent 6890 series plus gas chromatograph (Agilent Technologies) with electronic pressure control was used. The column, a CPWAX-57 CB model from Chrompack (Middelburg, The Netherlands), was fused silica 60 m  $\times$  0.25 mm and 0.40  $\mu\text{m}$  film thickness. The temperature program was as follows: 50  $^{\circ}\text{C}$  for 15 min and then raised to 190  $^{\circ}\text{C}$  at 4  $^{\circ}\text{C}/\text{min}$  for 35 min. The flow rate of helium (carrier gas) was held at 0.7 mL/min for 16 min and then raised at 0.2 mL/min<sup>2</sup> to 1.1 mL/min for 52 min. A 1:30 split ratio and an injector temperature of 275  $^{\circ}\text{C}$  were used. The flame ionization detector temperature was 300  $^{\circ}\text{C}$ , and the hydrogen and air flow rates were 40 and 400 mL/min, respectively. The chemstation software package (Agilent Technologies) was used. One milliliter of a solution containing 1 g/L 4-methyl-2-pentanol as internal standard was added to 10 mL of sample, and an aliquot of 0.5  $\mu\text{L}$  was injected.

**Statistical Analysis.** All results are given as arithmetic means  $\pm$  standard deviations for triplicate determinations. Significant differences were established by one-way analysis of variance (ANOVA) at the 99.9% confidence level.

## RESULTS AND DISCUSSION

**Identification of Anthocyanins by HPLC-DAD-MS.** The HPLC-DAD-MS technique allowed a total of 20 monomeric anthocyanins to be identified in musts from fresh Merlot and Syrah grapes (Figure 2), and their chromatographic data are shown in Table 1. The first compound group to be eluted was

**Table 1. Anthocyanin Compounds Identified by HPLC-DAD-MS in Merlot and Syrah Musts and Wines**

peak	$t_R$	$M^+$ ( $m/z$ )	$MS^2$ frag	$\lambda_{max}$ (nm)	compound
1	19.10	465	303	524	Dp-3-glc
2	22.65	449	287	516	Cy-3-glc
3	24.81	479	317	526	Pt-3-glc
4	27.46	433	271	506	Pg-3-glc
5	29.91	463	301	518	Pn-3-glc
6	31.37	493	331	528	Mv-3-glc
7	32.25	561	399	490	vitisin A
8	33.90	507	303	528	Dp-3-acetylglc
9	34.23	487	325	486	B-type vitisin Pn-3-glc
10	34.43	603	399	490	A-type vitisin Mv-3-acetylglc
11	35.66	517	355	490	vitisin B
12	36.90	779		530	Pn-3-glc-methylmethine(epi) catechin
13	37.25	809	357	530	Mv-3-glc-methylmethine(epi) catechin
14	37.46	491	287	518	Cy-3-acetylglc
15	37.86	809	357	540	Mv-3-glc-methylmethine(epi) catechin
16	38.42	521	317	528	Pt-3-acetylglc
17	38.60	529	325	494	B-type vitisin Pn-3-acetylglc
18	39.07	779		528	Pn-3-glc-methylmethine(epi) catechin
19	39.07	559	355	494	B-type vitisin Mv-3-acetylglc
20	39.28	809	357	542	Mv-3-glc-methylmethine(epi) catechin
21	40.47	809	357	530	Mv-3-glc-methylmethine(epi) catechin
22	40.50	779		528	Pn-3-glc-methylmethine(epi) catechin
23	41.10	641	317	522	Pt-3-caffeoylglc
24	41.58	505	301	520	Pn-3-acetylglc
25	42.16	535	331	532	Mv-3-acetylglc
26	44.05	625	301	522	Pn-3-caffeoylglc
27	44.41	655	331	534	Mv-3-caffeoylglc
28	44.46	851			Mv-3-acetylglc- methylmethine(epi)catechin
29	44.99	595	287	520	Cy-3-coumaroylglc
30	45.55	625	317	534	Pt-3-coumaroylglc
31	46.20	609	301	526	Pn-3-coumaroylglc <i>cis</i>
32	46.50	639	331	538	Mv-3-coumaroylglc <i>cis</i>
33	48.44	609	301	524	Pn-3-coumaroylglc <i>trans</i>
34	48.71	639	331	538	Mv-3-coumaroylglc <i>trans</i>

that of monoglucoside derivatives, five of which are present in most red grape varieties: delphinidin-3-glucoside (peak 1), cyanidin-3-glucoside (peak 2), petunidin-3-glucoside (peak 3), peonidin-3-glucoside (peak 5), and malvidin-3-glucoside (peak 6). Peak 4 was assigned to pelargonidin-3-glucoside, the structure of which is shown in Figure 3, and its MS analysis

revealed an  $[M^+]$  peak at  $m/z$  433 accompanied by a fragment at  $m/z$  271. This anthocyanin was previously detected in red grapes of the nonviferous varieties Concord, Rubired, and Salvador<sup>34,35</sup> and, recently, in Garnacha Tintorera grapes.<sup>36</sup> The last authors proposed the use of this compound as a chemical indicator to identify red wines made from this grape variety. This hypothesis, however, could be ruled out on the basis that in this work pelargonidin-3-glucoside has been found in the Merlot and Syrah musts.

The other anthocyanin glucosides detected in musts from the two grape varieties (Figure 2) included the acetic esters of delphinidin (peak 8), cyanidin (peak 14), petunidin (peak 16), peonidin (peak 24), and malvidin (peak 25). In addition, the chromatograms revealed the presence of the caffeoylglucosides of petunidin (peak 23), peonidin (peak 26), and malvidin (peak 27). Finally, peaks 29–34 were assigned to the *p*-coumaroylglucosides of cyanidin, petunidin, peonidin, and malvidin. The MS spectra afforded the discrimination of the *cis* and *trans* isomers of the coumaroylglucosides of peonidin (peaks 31 and 33), both with a  $[M^+]$  ion at  $m/z$  301, and malvidin (peaks 32 and 34), with one at  $m/z$  331.

Figure 4 shows the HPLC-DAD chromatograms obtained at 520 nm for the musts from Merlot and Syrah dried grapes. As can be seen, these musts contained all glucosyl, acetylglucosyl, and caffeoylglucosyl anthocyanins previously detected in the musts from fresh grapes in addition to new compounds formed during the grape-drying process. The formation of pyranoanthocyanins had never previously been observed in the absence of fermentation of *Vitis vinifera* grapes because it requires the presence of pyruvic acid (vitisins A) or acetaldehyde (vitisins B). However, the chromatographic features of peak 7 (viz., an  $[M^+]$  ion at  $m/z$  561 and a fragment at  $m/z$  399) and peak 10 (viz., an  $[M^+]$  ion at  $m/z$  603 and a fragment at  $m/z$  399) were consistent with those of vitisin A and acetylvitisin A, respectively, which were first identified by Bakker and Timberlake<sup>27</sup> and results from the reaction of pyruvic acid with malvidin-3-glucoside and malvidin-3-acetylglucoside, respectively. These compounds were present in the musts from Merlot and Syrah grapes (Table 1), which suggests that the grape-drying process somehow causes the formation of pyruvic acid.

The formation of vitisin A and acetylvitisin A was confirmed by quantifying pyruvic acid in musts from fresh and dried grapes. The former musts were found to contain very low concentrations of this acid (below the limit of quantitation of the analytical method used, 3 mg/L), whereas the dried grapes contained  $16.8 \pm 0.791$  and  $22.2 \pm 0.585$  mg/L in Merlot and Syrah grapes, respectively. This increase in the pyruvic acid concentration was due, on the one hand, to grape drying (1.54 times in Merlot and 1.47 times in Syrah) as a result of water evaporation. On the other hand, it could be the result of the subsequent synthesis. According to Chkaiban et al.,<sup>8</sup> the loss of water in grapes during the drying process alters their membrane permeability through the activation of the lipoxygenase enzyme (LOX). This suggests a metabolic switch from aerobic to anaerobic in the berries and the consequent activation of the alcohol dehydrogenase enzyme (ADH). Under these anaerobic conditions, other enzymes capable of degrading sugars and/or malic acid in the grapes to pyruvic acid may have been activated, consistent with the contents in this acid found in the musts from dried grapes.

The musts from dried grapes contained also type B vitisins, formed by cycloaddition of acetaldehyde to anthocyanins.



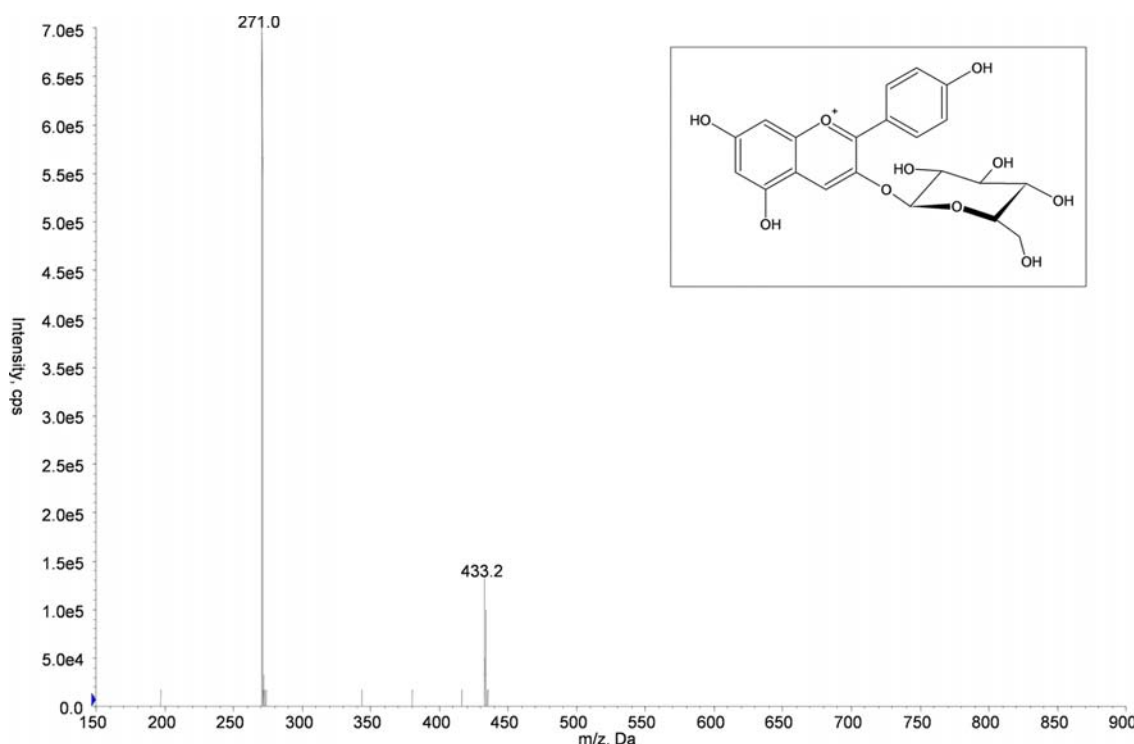


Figure 3. Structure and MS spectrum of pelargonidin-3-glucoside.

Thus, the chromatographic features of peak 11 ( $[M^+]$  at  $m/z$  517, a fragment at  $m/z$  355, and  $\lambda_{\max} = 490$  nm) were consistent with those of vitisin B, a pyranoanthocyanin formed by cycloaddition to malvidin-3-glucoside.<sup>22,24</sup> Similarly, peaks 9, 17, and 19 were assigned to the type B vitisins peonidin-3-glucoside, peonidin-3-acetylglucoside, and malvidin-3-acetylglucoside, respectively.

In addition to pyranoanthocyanins, the HPLC-DAD-MS analysis revealed the presence of condensation products between anthocyanins and (epi)catechin via a methylmethine bridge, which inevitably requires the presence of acetaldehyde. These compounds exhibit a UV-vis absorption peak ( $\lambda_{\max} = 530\text{--}540$  nm) that is a bathochromic shift in the wavelength with respect to the parent monomer, providing a blue-purple tone in an otherwise red solution.<sup>19</sup> The chromatograms revealed the presence of three compounds of formula Pn-3-glc-methylmethine(epi)catechin (peaks 12, 18, and 22), with  $[M^+]$  at  $m/z$  779, and four of formula Mv-3-glc-methylmethine(epi)catechin (peaks 13, 15, 20, and 21), with  $[M^+]$  at  $m/z$  809 and fragmentation ions at  $m/z$  357. The compounds corresponding to peaks 12 and 15 were detected only in the musts from Syrah grapes.

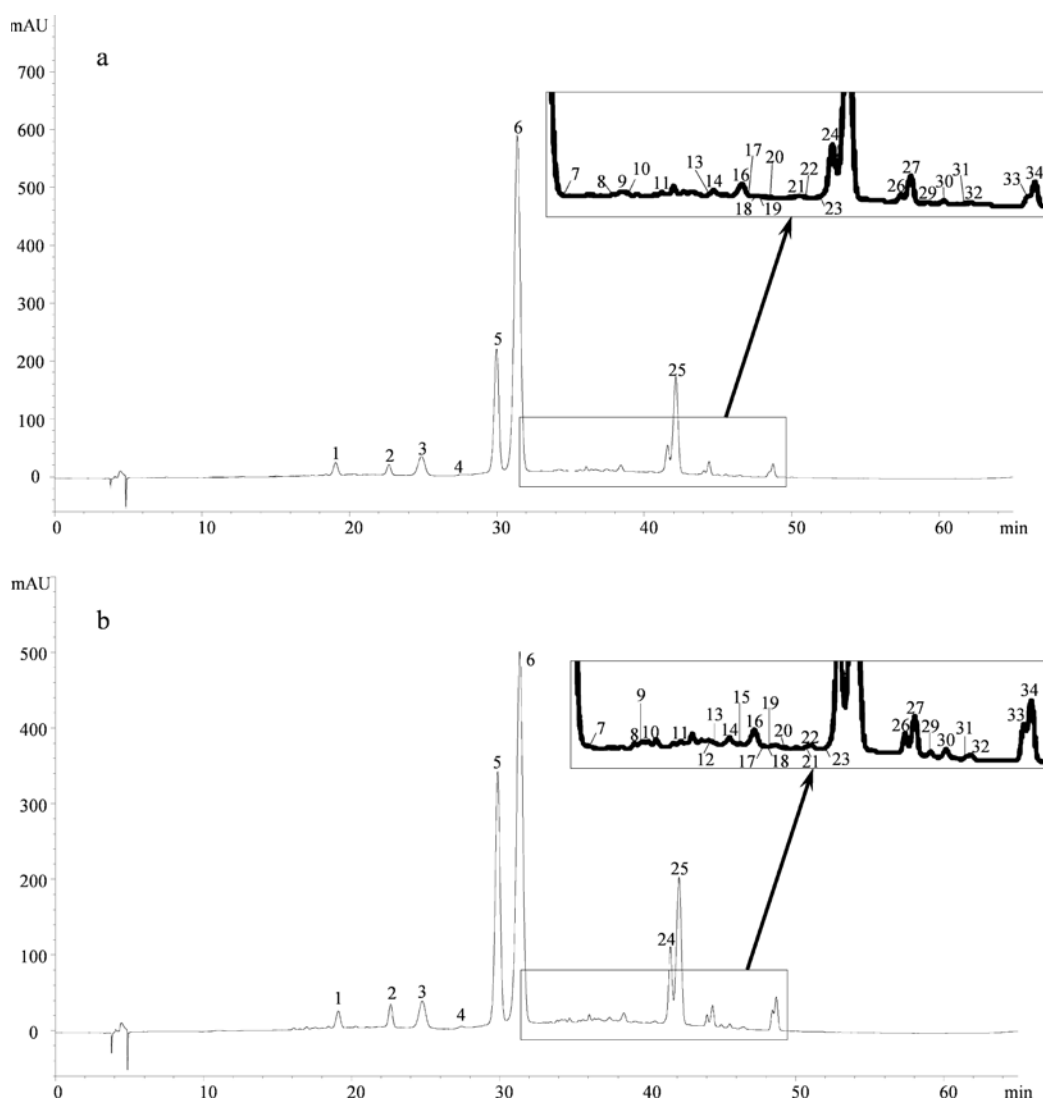
Because the formation of the previous compounds required the presence of acetaldehyde in the musts from dried grapes, the musts were additionally analyzed by GC-FID. The results revealed the absence of this compound in the musts from fresh grapes and its presence at levels of  $132 \pm 10$  and  $113 \pm 6.0$  mg/L in those from dried Merlot and Syrah grapes, respectively. Therefore, the chamber-drying process caused the formation of acetaldehyde in the grapes. Pyruvic acid may have been decarboxylated into acetaldehyde and then may have been converted into ethanol under the action of alcohol dehydrogenase enzyme. This hypothesis was supported by the idea that the ethanol concentration in the musts from fresh grapes was zero,

whereas those in the musts from dried grapes were  $0.959 \pm 0.006$  (v/v) for Merlot and  $0.559 \pm 0.001$  (v/v) for Syrah. As before, these contents suggest that acetaldehyde was converted into ethanol in the presence of alcohol dehydrogenase.

Therefore, the presence of pyruvic acid, acetaldehyde, and ethanol in the musts from dried grapes supports the idea that the above-described enzymatic transformations and hence the formation of pyranoanthocyanins and methylmethine-bonded anthocyanin-flavanol adducts occur during the grape-drying process. These anthocyanin derivatives, which possess a high enological interest, had previously been detected only in the presence of fermentation in *V. vinifera* grapes.

The wines were also analyzed by HPLC-DAD-MS after fortification and maceration with grape skin for 48 h. The chromatograms (Figure 5) confirmed the presence of all previously detected monomeric anthocyanins and vitisins (peaks 7, 9–11, and 19), in addition to a type B vitisin (Pn-3-acetylgluc, with  $[M^+]$  at  $m/z$  529 and a fragmentation ion at  $m/z$  325). With regard to the anthocyanin-methylmethine-flavanol condensation adducts, the chromatograms revealed the presence of the compounds found in the musts from dried grapes (peaks 12, 13, 15, 18, and 20–22) in addition to a new one (peak 28) corresponding to a compound of formula Mv-3-acetylglc-methylmethine(epi)catechin, with  $[M^+]$  at  $m/z$  851, in the wine from Merlot grapes.

**Quantitation of Anthocyanins.** Table 2 lists the concentrations of anthocyanins in the musts from fresh and dried Merlot and Syrah grapes and shows the homogeneous groups established by one-way analysis of variance (ANOVA) at a confidence level of 99.9% ( $p < 0.001$ ). As can be seen, monoglucosides were the most abundant derivatives in all samples (particularly malvidin-3-glucoside), followed by acetylglucoside derivatives. These two anthocyanin families exhibited variable changes in concentration during the grape-

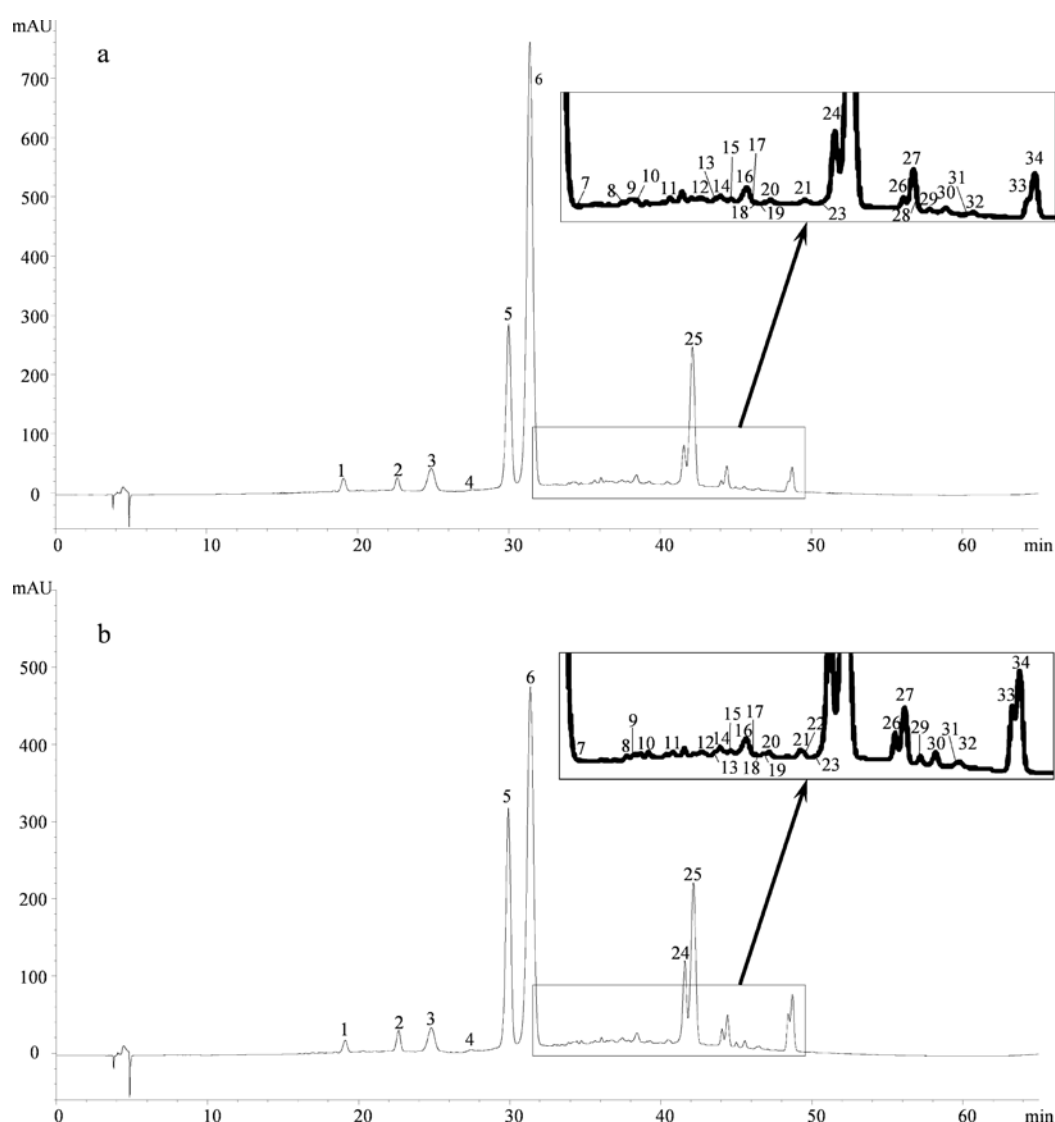


**Figure 4.** HPLC-DAD chromatograms at 520 nm of anthocyanins of the musts from raisins of Merlot (a) and Syrah (b) varieties.

drying process. However, most of the anthocyanin compounds increased not only by the concentration effect due to water losses by evaporation but also by the effect of the disruption of grape skin layers, which facilitated the release of anthocyanins to the pulp and led to strongly colored musts from the dried grapes.<sup>31</sup> The subsequent vinification process reduced the concentration of some compounds; this can be ascribed to the dilution by the effect of the addition of wine alcohol. Also, according to Boulton,<sup>12</sup> anthocyanins cease to be extracted from grape skins at some point in the maceration process, and an adsorption–desorption equilibrium is then reached between anthocyanins in skin and wine. In addition, during the maceration time, the anthocyanins could take part in different reactions such as polymerization, copigmentation, tannin reactions, and formation of adducts. In fact, most monomeric glucosyl and acetylglucosyl derivatives present in the wines were at low concentrations relative to those musts from dried grapes. Also, pelargonidin-3-glucoside was detected in the two grape varieties, albeit at low levels in both the musts (0.598 and 0.818 mg/L) and the final wines (0.875 and 0.947 mg/L) for Merlot and Syrah, respectively.

The concentrations of all caffeoyl- and coumarylglucosides increased by the effect of vinification in both varieties, because these derivatives are less reactive than the above-mentioned compounds. Also, the *cis* isomers of peonidin-3-glucoside and malvidin-3-glucoside were present at lower concentrations than the *trans* isomers. The concentrations of *cis* isomers were detected at trace levels in some samples. In any case, both types of derivatives were at higher levels in the Syrah wines than in the Merlot wines.

In the musts from dried grapes and their corresponding wines, vitisins were found at very low concentrations, vitisin B being the most abundant, and the type B vitisins were registered in higher concentration than type A vitisins. This fact is not in agreement with other authors;<sup>37</sup> due to the traditional winemaking vitisin A is formed more rapidly than vitisin B, due to the concentration of pyruvic acid produced by the yeasts at the beginning of the alcoholic fermentation. In this winemaking there was no alcoholic fermentation, so the yeasts did not produce pyruvic acid; therefore, the production of this acid was much less according to the above-mentioned enzymatic mechanism and, in addition, this pyruvic acid could be



**Figure 5.** HPLC-DAD chromatograms at 520 nm of anthocyanins of the final wines of Merlot (a) and Syrah (b) varieties.

converted gradually into acetaldehyde, according to our hypothesis. On this basis, and considering the concentration of the both reagents (20 mg/L pyruvic acid and 120 mg/L acetaldehyde), the reaction from pyruvic acid to acetaldehyde is more favored than the formation of the adduct anthocyanin–pyruvic acid, so the formation of type B vitisins could be more probable than the formation of type A vitisins. In addition, the formation of both vitisins seems to follow an antagonistic kinetics, because the acetaldehyde could compete with pyruvic acid by the anthocyanin molecule.<sup>38</sup>

In addition, the four type A and B vitisins from malvidin-3-glucoside increased by the effect of the addition of wine alcohol. The type B vitisin from peonidin-3-glucoside in Merlot grapes was the exception. This suggests that these derivatives are produced at a high rate when all reactants needed for its synthesis are present in the medium.

Most of the addition products of anthocyanins to (epi)-catechin formed by methylmethine bonding present in the musts from dried grapes were at trace levels. Thus, the concentration of Mv-3-glc-methylmethine(epi)catechin (peak

20) in the Merlot must was 0.479 mg/mL. In the Syrah must, the concentrations of the two compounds with the same chemical formula (peaks 15 and 21) were 0.466 and 0.474 mg/L, respectively. The subsequent addition of wine alcohol and maceration of the wines caused the formation of additional compounds, all at higher concentrations than their corresponding musts. Thus, three further compounds (peaks 12, 15, and 21) were quantified at levels >1 mg/L in the Merlot wine.

In conclusion, the HPLC-DAD-MS technique allowed confirmation of the presence of pelargonidin-3-glucoside in musts from both fresh and dried grapes of the Merlot and Syrah varieties, as well as in the resulting wines. In addition, the grapes from off-vine raising disrupted their inner skin layers and led to anthocyanins diffusing to the pulp and leading to musts strongly enriched with these compounds. Also, chamber-drying altered the membrane permeability of the grapes through the activation of the lipoxygenase enzyme (LOX) and a change in the metabolism from aerobic to anaerobic and, as result, an activation of alcohol dehydrogenase (ADH). The presence of pyruvic acid, acetaldehyde, and ethanol in the

**Table 2. Concentrations (Milligrams per Liter) of Anthocyanin Compounds (Mean  $\pm$  Standard Deviation) in Merlot and Syrah Musts and Wines and Homogeneous Groups ( $p < 0.001$ )**

peak	compound	Merlot			Syrah		
		fresh grapes	dried grapes	wine	fresh grapes	dried grapes	wine
1	Dp-3-glc	2.79 $\pm$ 0.125 b	1.75 $\pm$ 0.147 a	1.54 $\pm$ 0.202 a	0.697 $\pm$ 0.003 a	1.45 $\pm$ 0.031 c	0.872 $\pm$ 0.016 b
2	Cy-3-glc	1.72 $\pm$ 0.122 b	1.16 $\pm$ 0.052 a	1.33 $\pm$ 0.161 a	1.80 $\pm$ 0.031 c	1.56 $\pm$ 0.003 b	1.30 $\pm$ 0.039 a
3	Pt-3-glc	11.6 $\pm$ 0.581 a	11.4 $\pm$ 0.818 a	10.8 $\pm$ 1.12 a	5.90 $\pm$ 0.033 a	9.34 $\pm$ 0.029 c	7.99 $\pm$ 0.031 b
4	Pg-3-glc	0.598 $\pm$ 0.003 a	1.04 $\pm$ 0.069 b	0.875 $\pm$ 0.096 b	0.818 $\pm$ 0.035 a	0.870 $\pm$ 0.035 a	0.947 $\pm$ 0.092 a
5	Pn-3-glc	17.9 $\pm$ 1.02 a	20.0 $\pm$ 0.207 b	19.3 $\pm$ 0.211 ab	16.8 $\pm$ 0.886 a	22.7 $\pm$ 0.632 b	20.2 $\pm$ 1.61 b
6	Mv-3-glc	58.8 $\pm$ 3.65 a	74.1 $\pm$ 1.97 b	70.8 $\pm$ 2.44 b	30.0 $\pm$ 1.44 a	47.2 $\pm$ 1.71 b	43.1 $\pm$ 3.61 b
7	vitisin A	nd	0.121 $\pm$ 0.006 a	0.185 $\pm$ 0.005 a	nd	0.105 $\pm$ 0.008 a	0.119 $\pm$ 0.009 a
8	Dp-3-acetylglc	0.645 $\pm$ 0.008 c	0.393 $\pm$ 0.001 a	0.486 $\pm$ 0.006 b	tr <sup>a</sup>	0.400 $\pm$ 0.002 b	0.372 $\pm$ 0.001 b
9	B-type vitisin Pn-3-glc	nd	0.750 $\pm$ 0.002 b	0.541 $\pm$ 0.010 a	nd	0.383 $\pm$ 0.002 a	0.397 $\pm$ 0.004 b
10	A-type vitisin Mv-3-acetylglc	nd	0.444 $\pm$ 0.040 a	0.715 $\pm$ 0.143 a	nd	0.527 $\pm$ 0.009 a	0.582 $\pm$ 0.026 b
11	vitisin B	nd	0.837 $\pm$ 0.036 a	1.32 $\pm$ 0.157 b	nd	0.760 $\pm$ 0.051 a	0.852 $\pm$ 0.026 a
12	Pn-3-glc-ethyl(epi)catechin	nd	nd	1.10 $\pm$ 0.032	nd	tr	tr
13	Mv-3-glc-ethyl(epi)catechin	nd	tr a	0.650 $\pm$ 0.041 b	nd	tr <sup>a</sup>	0.600 $\pm$ 0.003 b
14	Cy-3-acetylglc	0.284 $\pm$ 0.070 a	0.983 $\pm$ 0.017 c	0.534 $\pm$ 0.014 b	0.285 $\pm$ 0.015 a	0.666 $\pm$ 0.056 b	0.353 $\pm$ 0.102 a
15	Mv-3-glc-ethyl(epi)catechin	nd	nd	1.01 $\pm$ 0.058	nd	0.466 $\pm$ 0.001 a	0.917 $\pm$ 0.177 b
16	Pt-3-acetylglc	3.74 $\pm$ 0.137 a	6.33 $\pm$ 0.510 b	7.12 $\pm$ 0.403 b	3.12 $\pm$ 0.069 a	5.17 $\pm$ 0.373 b	4.88 $\pm$ 0.019 b
17	B-type vitisin Pn-3-acetylglc	nd	tr a	2.31 $\pm$ 0.088 b	nd	0.200 $\pm$ 0.019 a	0.369 $\pm$ 0.005 b
18	Pn-3-glc-ethyl(epi)catechin	nd	tr	tr	nd	tr	0.402 $\pm$ 0.029
19	B-type vitisin Mv-3-acetylglc	nd	tr a	0.626 $\pm$ 0.044 b	nd	tr	tr
20	Mv-3-glc-ethyl(epi)catechin	nd	0.479 $\pm$ 0.020 b	tr a	nd	tr a	0.828 $\pm$ 0.053 b
21	Mv-3-glc-ethyl(epi)catechin	nd	tr a	1.02 $\pm$ 0.102 b	nd	0.474 $\pm$ 0.058 b	tr a
22	Pn-3-glc-ethyl(epi)catechin	nd	0.500 $\pm$ 0.093	nd	nd	tr	tr
23	Pt-3-caffeoylglc	1.92 $\pm$ 0.185 a	2.86 $\pm$ 0.022 b	2.99 $\pm$ 0.027 b	2.11 $\pm$ 0.181 a	2.95 $\pm$ 0.098 b	3.10 $\pm$ 0.019 b
24	Pn-3-acetylglc	3.44 $\pm$ 0.164 a	3.81 $\pm$ 0.080 a	5.17 $\pm$ 0.152 b	3.65 $\pm$ 0.123 a	5.57 $\pm$ 0.061 b	6.06 $\pm$ 0.493 b
25	Mv-3-acetylglc	15.9 $\pm$ 1.34 a	16.7 $\pm$ 0.348 a	18.2 $\pm$ 0.641 a	8.96 $\pm$ 0.599 b	14.3 $\pm$ 0.653 c	6.91 $\pm$ 0.482 a
26	Pn-3-caffeoylglc	tr a	0.449 $\pm$ 0.002 b	0.845 $\pm$ 0.001 c	tr a	0.851 $\pm$ 0.031 b	1.25 $\pm$ 0.015 c
27	Mv-3-caffeoylglc	0.175 $\pm$ 0.031 a	1.73 $\pm$ 0.020 b	2.45 $\pm$ 0.199 c	0.290 $\pm$ 0.043 a	1.56 $\pm$ 0.052 b	2.45 $\pm$ 0.128 c
28	Mv-3-acetylglc-ethyl(epi)catechin	nd	nd	tr	nd	nd	nd
29	Cy-3-coumaroylglc	tr a	tr a	0.297 $\pm$ 0.045 b	tr a	tr a	0.476 $\pm$ 0.011 b
30	Pt-3-coumaroylglc	1.88 $\pm$ 0.055 a	2.36 $\pm$ 0.029 b	3.40 $\pm$ 0.176 c	1.84 $\pm$ 0.060 a	2.54 $\pm$ 0.170 b	3.58 $\pm$ 0.222 c
31	Pn-3-coumaroylglc <i>cis</i>	tr a	tr a	0.184 $\pm$ 0.035 b	tr	tr	tr
32	Mv-3-coumaroylglc <i>cis</i>	0.054 $\pm$ 0.016 a	0.108 $\pm$ 0.029 a	0.467 $\pm$ 0.007 b	tr a	tr a	0.468 $\pm$ 0.032 b
33	Pn $\bar{3}$ -coumaroylglc <i>trans</i>	0.038 $\pm$ 0.002 a	0.335 $\pm$ 0.063 b	0.619 $\pm$ 0.007 c	0.197 $\pm$ 0.012 a	0.786 $\pm$ 0.037 b	1.64 $\pm$ 0.137 c
34	Mv-3-coumaroylglc <i>trans</i>	0.709 $\pm$ 0.058 a	1.45 $\pm$ 0.034 b	2.22 $\pm$ 0.003 c	0.431 $\pm$ 0.005 a	2.00 $\pm$ 0.103 b	3.31 $\pm$ 0.428 c

musts from dried grapes explains their formation by enzymatic reactions. These compounds were the precursors in the formation of pyranoanthocyanins and methylnethine-bonded anthocyanin–flavanol condensation adducts. These anthocyanin derivatives confer to sweet red wines, which are produced in the absence of alcoholic fermentation, color stability against pH changes and SO<sub>2</sub>. This warrants the conduct of future research with a view to identifying the specific grape-drying conditions maximizing the synthesis of these anthocyanin derivatives.

## AUTHOR INFORMATION

### Corresponding Author

\*Phone: +34 957 218 612. Fax: +34 957 212 146. E-mail: jmerida@uco.es.

### Funding

We gratefully acknowledge financial support from the Spanish government, Minister of Education (FPU scholarship of A.M.) for the realization of this work. M.D. also thanks the Spanish “Ramón y Cajal” Program for a contract.

### Notes

The authors declare no competing financial interest.

## REFERENCES

- (1) Serratos, M. P.; Lopez-Toledano, A.; Merida, J.; Medina, M. Changes in color and phenolic compounds during the raisining of grape cv. Pedro Ximenez. *J. Agric. Food Chem.* **2008**, *56*, 2810–2816.
- (2) Cortes, S.; Salgado, J. M.; Rivas, B.; Torrado, A. M.; Dominguez, J. M. Fermentation kinetics and chemical characterisation of vino tostado, a traditional sweet wine from Galicia (NW Spain). *J. Sci. Food Agric.* **2010**, *90*, 121–131.
- (3) Vega-Mercado, H.; Gongora-Nieto, M. M.; Barbosa-Canovas, G. V. Advances in dehydration of foods. *J. Food Eng.* **2001**, *49*, 271–289.
- (4) Pangavhane, D. R.; Sawhney, R. L.; Sarsavadia, P. N. Design, development and performance testing of a new natural convection solar dryer. *Energy* **2002**, *27*, 579–590.
- (5) Kays, S. J. Stress in harvested products. In *Postharvest Physiology in Perishable Plants Products*; Kays, S. J., Ed.; Exon Press: Athens, GA, 1997; pp 335–408.
- (6) Bellicontro, A.; De Santis, D.; Botondi, R.; Villa, I.; Mencarelli, F. Different postharvest dehydration rates affect quality characteristics and volatile compounds of Malvasia, Trebbiano and Sangiovese grapes for wine production. *J. Sci. Food Agric.* **2004**, *84*, 1791–1800.
- (7) Constantini, V.; Bellincontro, A.; De Santis, D.; Botondi, R.; Mencarelli, F. Metabolic changes of Malvasia grapes for wine production during postharvest drying. *J. Agric. Food Chem.* **2006**, *54*, 3334–3340.

- (8) Chkaiban, L.; Botondi, R.; Bellincontro, A.; De Santis, D.; Kefalas, P.; Mencarelli, F. Influence of postharvest water stress on lipoxygenase and alcohol dehydrogenase activities, and on the composition of some volatile compounds of Gewürztraminer grapes dehydrated under controlled and uncontrolled thermohygro-metric conditions. *Aust. J. Grape Wine Res.* **2007**, *13*, 142–149.
- (9) Moreno, J. J.; Cerpa-Calderon, F.; Cohen, S. D.; Fang, Y.; Qian, M.; Kennedy, J. A. Effect of postharvest dehydration on the composition of Pinot noir grapes (*Vitis vinifera* L.) and wine. *Food Chem.* **2008**, *109*, 755–762.
- (10) Amrani, K.; Glories, Y. Tanins et anthocyanes: localisation dans la baie de raisin et mode d'extraction. *Rev. Fr. Oenol.* **1995**, *153*, 28–31.
- (11) Romero-Cascales, I.; Fernandez-Fernandez, J. I.; Lopez-Roca, J. M.; Gomez-Plaza, E. The maceration process during winemaking extraction of anthocyanins from grape skins into wine. *Eur. Food Res. Technol.* **2005**, *221*, 163–167.
- (12) Boulton, R. The copigmentation of anthocyanins and its role in the color of red wine: a critical review. *Am. J. Enol. Vitic.* **2001**, *52*, 67–87.
- (13) Guadalupe, Z.; Ayestaran, B. Changes in the color components and phenolic content of red wines from *Vitis vinifera* L. cv. "Tempranillo" during vinification and aging. *Eur. Food Res. Technol.* **2008**, *228*, 29–38.
- (14) Timberlake, C. F.; Bridle, P. Interactions between anthocyanins, phenolic compounds and acetaldehyde and their significance in red wines. *Am. J. Enol. Vitic.* **1976**, *27*, 97–105.
- (15) Rivas-Gonzalo, J. C.; Bravo-Haro, S.; Santos-Buelga, C. Detection of compounds formed through the reaction of malvidin-3-monoglucoside and catechin in the presence of acetaldehyde. *J. Agric. Food Chem.* **1995**, *43*, 1444–1449.
- (16) Francia-Aricha, E. M.; Guerra, M. T.; Rivas-Gonzalo, J. C.; Santos-Buelga, C. New anthocyanin pigments formed after condensation with flavanols. *J. Agric. Food Chem.* **1997**, *45*, 2262–2266.
- (17) Dallas, C.; Ricardo-da-Silva, J. M.; Laureano, O. Interactions of oligomeric procyanidins in model wine solutions containing malvidin-3-glucoside and acetaldehyde. *J. Sci. Food Agric.* **1996**, *70*, 493–500.
- (18) Escribano-Bailon, T.; Alvarez-Garcia, M.; Rivas-Gonzalo, J. C.; Heredia, F. J.; Santos-Buelga, C. Color and stability of pigments derived from the acetaldehyde-mediated condensation between malvidin-3-O-glucoside and (+)-catechin. *J. Agric. Food Chem.* **2001**, *49*, 1213–1217.
- (19) Vivar-Quintana, A. M.; Santos-Buelga, C.; Francia-Aricha, E.; Rivas-Gonzalo, J. C. Formation of anthocyanin-derived pigments in experimental red wines. *Food Sci. Technol. Int.* **1999**, *5*, 347–352.
- (20) Bakker, J.; Picinelli, A.; Bridle, P. Model wine solutions: colour and composition changes during ageing. *Vitis* **1993**, *32*, 111–118.
- (21) He, J.; Carvalho, A.; Mateus, N.; Freitas, V. Spectral features and stability of oligomeric pyranoanthocyanins-flavanol pigments isolated from red wines. *J. Agric. Food Chem.* **2010**, *58*, 9249–9258.
- (22) Vivar-Quintana, A. M.; Santos-Buelga, C.; Rivas-Gonzalo, J. C. Anthocyanin-derived pigments and colour of red wines. *Anal. Chim. Acta* **2002**, *458*, 147–155.
- (23) Monagas, M.; Nuñez, V.; Bartolome, B. Anthocyanin-derived pigments in Graciano, Tempranillo, and Cabernet Sauvignon wines produced in Spain. *Am. J. Enol. Vitic.* **2003**, *54*, 163–169.
- (24) Alcalde-Eon, C.; Escribano-Bailon, M. T.; Santos-Buelga, C.; Rivas-Gonzalo, J. Changes in the detailed pigment composition of red wine during maturity and ageing. A comprehensive study. *Anal. Chim. Acta* **2006**, *563*, 238–254.
- (25) Freitas, V.; Mateus, N. Formation of pyranoanthocyanins in red wines: a new and diverse class of anthocyanin derivatives. *Anal. Bioanal. Chem.* **2011**, *401*, 1467–1477.
- (26) Bakker, J.; Bridle, P.; Honda, T.; Kuwano, H.; Saito, N.; Terahara, N.; Timberlake, C. F. Identification of an anthocyanin occurring in some red wines. *Phytochemistry* **1997**, *44*, 1375–1382.
- (27) Bakker, J.; Timberlake, C. F. Isolation, identification, and characterization of new color-stable anthocyanins occurring in some red wines. *J. Agric. Food Chem.* **1997**, *45*, 35–43.
- (28) Fulcrand, H.; Benabdelljalil, C.; Rigaud, J.; Cheynier, V.; Moutounet, M. A new class of wine pigments generated by reaction between pyruvic acid and grape anthocyanins. *Phytochemistry* **1998**, *47*, 1401–1407.
- (29) Romero, C.; Bakker, J. Effect of storage temperature and pyruvate on kinetics of anthocyanin degradation, vitisin A derivative formation, and color characteristics of model solutions. *J. Agric. Food Chem.* **2000**, *48*, 2135–2141.
- (30) Bakker, J. HPLC of anthocyanins in port wines: determination of ageing rates. *Vitis* **1986**, *25*, 203–214.
- (31) Marquez, A.; Serratos, M. P.; Lopez-Toledano, A.; Merida, M. Colour and phenolic compounds in sweet red wines from Merlot and Tempranillo grapes chamber-dried under controlled conditions. *Food Chem.* **2012**, *130*, 111–120.
- (32) Crowell, E. A.; Ough, C. S. A modified procedure for alcohol determination by dichromate oxidation. *Am. J. Enol. Vitic.* **1979**, *30*, 61–63.
- (33) Garcia-Marino, M.; Hernandez-Hierro, J. M.; Rivas-Gonzalo, J. C.; Escribano-Bailon, M. T. Colour and pigment composition of red wines obtained from co-maceration of Tempranillo and Graciano varieties. *Anal. Chim. Acta* **2010**, *660*, 134–142.
- (34) Wang, H.; Race, E. J.; Shrikhande, A. J. Characterization of anthocyanins in grape juices by ion trap liquid chromatography-mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51*, 1839–1844.
- (35) Tian, Q.; Giusti, M. M.; Stoner, G. D.; Shwartz, S. J. Screening for anthocyanins using high-performance liquid chromatography coupled to electrospray ionization tandem mass spectrometry with precursor-ion analysis, product-ion analysis, common-neutral-loss analysis, and selected reaction monitoring. *J. Chromatogr. A* **2005**, *1091*, 72–82.
- (36) Castillo-Muñoz, N.; Fernandez-Gonzalez, M.; Gomez-Alonso, S.; Garcia-Romero, E.; Hermosin-Gutierrez, I. Red-color related phenolic composition of Garnacha Tintorera (*Vitis vinifera* L.) grapes and red wines. *J. Agric. Food Chem.* **2009**, *57*, 7883–7891.
- (37) Morata, A.; Gomez-Cordobes, M. C.; Calderon, F.; Suarez, J. A. Effects of pH, temperature and SO<sub>2</sub> on the formation of pyranoanthocyanins during red wines fermentation with two species of *Saccharomyces*. *Int. J. Food Microbiol.* **2006**, *106*, 123–129.
- (38) Romero, C.; Bakker, J. Effect of acetaldehyde and several acids on the formation of vitisin A in model wine anthocyanin and colour evolution. *Int. J. Food Sci. Technol.* **2000**, *35*, 129–140.