

Eliminación de material celular en suspensión en los mostos para mejorar el contenido fenólico y el color de los vinos tintos

Andrea Osete-Alcaraz¹.; Ana Belén Bautista-Ortín¹., Ana Ortega-Regules²; Encarna Gómez-Plaza^{*1}

1. Departamento de Tecnología de los Alimentos, Nutrición y Bromatología. Facultad de Veterinaria, Universidad de Murcia, Campus de Espinardo, 30100 Murcia, España.

2. Universidad de las Américas Puebla, Departamento de Ingeniería Química, Alimentos y Ambiental, Sta. Catarina Mártir, 72810 San Andrés Cholula, Puebla, México

*Autor de contacto: encarnag@um.es, Tel. +34868887323, Fax +34868884147

Agradecimientos: Este trabajo ha sido posible gracias a la ayuda económica del Ministerio de Economía y Competitividad, Proyecto AGL2015-65974-R y la UE a través de los fondos FEDER

Resumen

Algunos estudios han demostrado que la velocidad de transferencia de los compuestos fenólicos de uva a mosto puede estar limitada, entre otras razones, por las interacciones de las paredes celulares con los compuestos fenólicos. Una de las hipótesis más aceptadas es que, después de estrujar las uvas para obtener el mosto destinado a la fermentación, parte de los taninos y antocianos extraídos se pueden unir a las paredes celulares de la pulpa y del hollejo de la uva, presentes en grandes cantidades en el mosto, de tal forma que no formarán parte de la concentración final compuestos fenólicos del vino resultante. Para probar esta hipótesis en una vinificación real, se comparó una vinificación control de vino tinto con una vinificación de vino tinto modificada, en la que se incluyó una etapa de desfangado, similar a la que es común en los vinos blancos y rosados. Se midieron las características cromáticas y el contenido de taninos de los vinos, y los resultados mostraron que el vino obtenido con el método modificado contenía una cantidad significativamente mayor de compuestos fenólicos (un aumento del 23% en la concentración de antocianos y un aumento del 43% en la concentración de taninos), además de suponer una mejora de sus características cromáticas.

1. Introducción

Los antocianos y los taninos están entre los compuestos fenólicos más importantes de la uva y el vino, siendo responsables del color y otras propiedades sensoriales. Muchos estudios han tratado de determinar si es posible estimar la cantidad final de estos compuestos en vino evaluando previamente su concentración en las uvas en el momento de la vendimia, pero los resultados consistentemente han demostrado que es muy difícil encontrar una buena correlación (Adams y Scholz., 2007; Busse-Valverde et al., 2012; Busse-Valverde et al., 2010; Harbertson et al., 2002). De hecho, las concentraciones encontradas en vinos terminados son frecuentemente mucho más bajas de lo esperado. Busse-Valverde et al. (2012) midieron la proporción de taninos extraídos del hollejo y la semilla de uvas de las variedades Monastrell y Syrah en vino. En el caso de los vinos de Monastrell, el porcentaje de transferencia fue de 12,1% a 29,7% en los hollejos y 4,8% a 12,7% en las semillas dependiendo de la duración de la maceración, entre 5 y 20 días. En el caso de las uvas Syrah, se observó una transferencia mucho mayor, los porcentajes fueron 51,7%–76% en los hollejos y 4,2%–10,1% en las semillas, lo que indica que la variedad también puede desempeñar un papel importante en la transferencia. Bindon et al. (2010a) calculó a lo largo de la fermentación alcohólica que solo el 25% del total de taninos de uva se transfirió al vino.

Existen varias causas que pueden estar detrás de esta baja transferencia de compuestos fenólicos. En primer lugar, las dificultades de extracción de los compuestos de la uva al mosto ya que estos compuestos se encuentran en el interior de las células del hollejo por lo que la pared celular debe desintegrarse para poder extraerlos. La composición de la pared celular y sus propiedades físico-mecánicas pueden explicar la baja tasa de transferencia y algunas de las diferencias observadas entre variedades. Ortega-Regules et al. (2006) estudiaron la composición de las paredes celulares del hollejo a partir de cuatro variedades diferentes de uva (*Vitis vinifera* L., cv. Cabernet Sauvignon, Merlot, Syrah y Monastrell) e intentaron correlacionar las diferencias encontradas en la composición de la pared celular entre las distintas variedades con las diferencias en la capacidad de extracción de antocianos, comprobando que las

diferencias podrían estar asociadas con diferencias en el contenido de pectina y celulosa de las paredes celulares de la piel de uva. Rio-Segade et al. (2011) también observaron que los parámetros de textura de la piel de uva podían estar relacionados con la capacidad de extracción de antocianos y que las bayas con hollejos más finos se caracterizaron por una mayor liberación de pigmentos coloreados.

Sin embargo, otros resultados han demostrado que también pueden darse diferencias de color en vinos elaborados con uvas que presentaron una capacidad de extracción de antocianos similar (Ortega-Regules et al. 2008), por lo tanto, otros factores también pueden jugar un importante papel al respecto.

Estos otros factores podrían incluir las interacciones entre los compuestos fenólicos y los componentes de las paredes celulares. Estas interacciones existen y se han descrito en los estudios de Bindon et al. (2010a, 2010b) para taninos, y en los estudios de Bautista-Ortín et al. (2014, 2016) para taninos y antocianos. Tras el estrujado de la uva y la generación de mosto para la fermentación alcohólica, la unión de compuestos fenólicos a los componentes de las paredes celulares puede reducir su concentración en el mosto, ya que estos compuestos fenólicos del hollejo y las semillas pueden unirse a los polisacáridos de las paredes celulares del hollejo y la pulpa (presentes en alta concentración durante la maceración) y finalmente precipitar durante las siguientes etapas de la vinificación. Además, las proteínas que las componen también pueden participar en este efecto, como lo demuestran Springer et al. (2016a, 2016b). De esta forma, estos compuestos fenólicos no pasaran a formar parte de la composición fenólica final del vino. Estas interacciones han sido estudiadas en soluciones modelo (Bindon et al. 2010a, 2010b, Bautista-Ortín et al. 2014, 2016) o en estudios de extracción e interacción de los taninos de uva en condiciones similares al vino (Bindon et al. 2017) pero la importancia del papel de las paredes celulares en una vinificación real no ha sido evaluada.

Una forma de probar estos supuestos en una vinificación real podría ser comparar una vinificación control de vino tinto con una vinificación de vino tinto modificada, en la que un paso de desfangado, similar al que se realiza comúnmente en los vinos blancos y rosados, esté incluido.

2. Material y métodos

2.1. Uva

Uvas de la *Vitisvinifera* L. Monastrell fueron cosechadas de un viñedo comercial en Jumilla (Murcia, España). Para las vinificaciones, las uvas fueron cuidadosamente seleccionadas a mano y fueron transportadas a la bodega en cajas de 20 kg. Las dos vinificaciones diferentes se realizaron por triplicado en tanques de acero inoxidable de 50 l.

2.2. Vinificaciones

El diseño experimental de este estudio consistió en una vinificación de vino tinto modificada, en la que se incluyó una etapa de desfangado, similar a la utilizada comúnmente para los vinos blancos y rosados (Figura 1). Las uvas se estrujaron y se añadió metabisulfito sódico (8 g de SO_2 / 100 kg de uvas). La acidez total se corrigió con ácido tartárico hasta un valor final de 5,5 g / L. Luego se prensó suavemente el mosto (2 bar como presión máxima) en una prensa de membrana de 75 L y al mosto prensado se agregó una enzima pectolítica (4 $\mu\text{L/L}$ de una preparación líquida cuyas actividades enzimáticas principales son poligalacturonasa y pectín-liasa, Enozym Lux, Agrovin, España). El mosto se dejó sedimentar durante 24 horas a baja temperatura (10°C-12°C), mientras que el orujo prensado se mantuvo a 5°C. Después de 24 horas, el mosto clarificado se trasegó y el remanente en el fondo de los tanques fue separado del material precipitado mediante centrifugación. Los sedimentos fueron descartados.

Tras esta etapa, el orujo prensado se añadió nuevamente al mosto clarificado. Se agregaron levaduras seleccionadas (LevulineGALA, Oenofrane, Francia, 10 g de levadura seca / 100 kg de uvas) y se permitió que la vinificación continuara como una vinificación normal del vino tinto, con un tiempo de maceración fermentativa de siete días. A lo largo del período de contacto de los orujos con el mosto durante la maceración alcohólica, el

sombrero fue removido dos veces al día. En el séptimo día, se prensó el vino y, una vez finalizada la fermentación alcohólica, los vinos se embotellaron y analizaron después de tres meses. Además, se realizó un control que fue una elaboración tradicional de vino tinto.

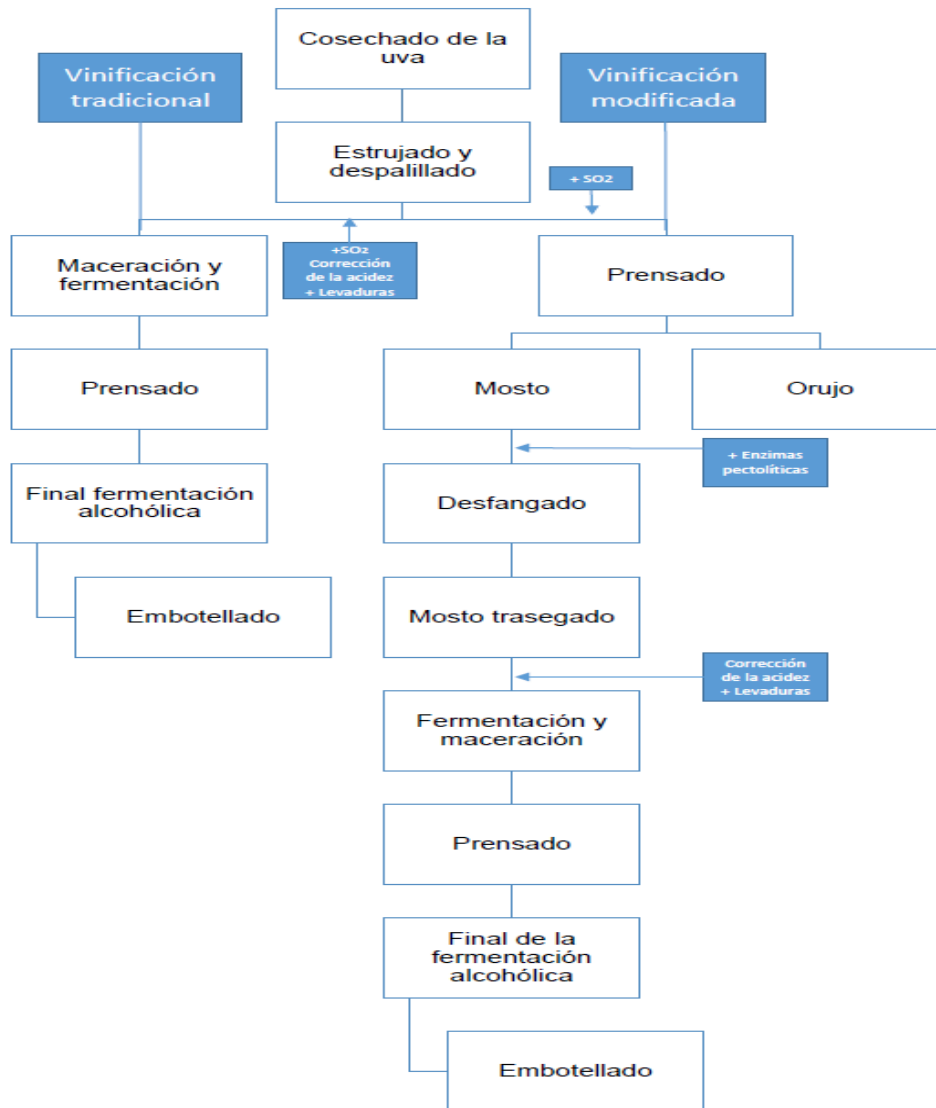


Figura 1. Esquema de las elaboraciones planteadas en el ensayo

2.3. Análisis de los parámetros cromáticos

La intensidad del color (IC) se calculó como la suma de las absorbancias a 620 nm, 520 nm y 420 nm y el tono como A_{420} / A_{520} . Los antocianos totales y poliméricos se determinaron mediante el método descrito por Ho et al. (2001), el índice de polifenoles totales (IPT) midiendo la absorbancia a 280 nm de una muestra de vino diluida 1:100 y los taninos totales por el método de metilcelulosa (Smith, 2005).

2.4. Análisis de proantocianidinas mediante la reacción de la fluoroglucinolisis por HPLC

Además de la determinación por el método de la metilcelulosa, la concentración y la composición de los taninos del vino fueron determinados en función de su reacción con el reactivo fluoroglucinol y el posterior análisis por HPLC, utilizando la metodología propuesta por Busse-Valverde et al. (2012).

2.5. Análisis estadístico

Las diferencias significativas entre los vinos para cada variable se evaluaron mediante análisis de varianza (ANOVA) utilizando StatgraphicsCenturion.

3. Resultados y discusión

Estudios previos realizados con soluciones modelo han demostrado que posiblemente las interacciones de los compuestos fenólicos y las paredes celulares en suspensión y su posterior precipitación son la causa principal del bajo porcentaje de transferencia de compuestos fenólicos de la uva al vino. De hecho, por la existencia de esta interacción, se ha propuesto el uso de paredes celulares de uva como agentes de clarificación y afinado (Bautista-Ortín et al. 2015, Guerrero et al. 2013, Jiménez-Martínez et al. 2017). Sin embargo, ningún trabajo experimental ha descrito el papel real de estas paredes celulares en la retención de compuestos fenólicos durante un proceso de vinificación. Dado

que las paredes celulares de la pulpa parecen tener una alta capacidad de adsorción (Bindon et al. 2010b) y el mosto, justo después del estrujado, está formado principalmente por tejidos de la pulpa, decidimos probar si la eliminación de este material vegetal antes de que comience la maceración fermentativa resultaría en un vino con un mayor contenido de compuestos fenólicos, por lo que se introdujo un paso de desfangado previo en el proceso de vinificación. Los resultados de los vinos terminados se muestran en las **Gráficas 1, 2 y 3**.

Los resultados mostraron claramente las diferentes características cromáticas de los dos vinos, la intensidad del color en el vino obtenido de la vinificación modificada aumentó un 20%, de 5,7 a 7,2; en comparación con el vino de control, y el contenido total de compuestos fenólicos aumentó en un 25%, desde 23,4 a 30,9 (**Gráfica 1**). El contenido de antocianos totales aumentó de 255,8 a 332,5 mg/L y el contenido de antocianos poliméricos también aumentó. La concentración de taninos, determinada por el método de la metil-celulosa, aumentó de 374,8 a 657,2 mg/L, lo que representa un aumento del 43% (**Gráfico 2**). Aunque las interacciones se han atribuido principalmente a los polisacáridos de la pared celular, el papel de las proteínas también debe considerarse, ya que Springer et al. (2016b) encontraron que las adiciones de taninos condensados purificados en los vinos tintos pueden resultar en la formación de un precipitado insoluble con alto contenido de nitrógeno, donde se identificaron varias clases de proteínas relacionadas con la patogénesis. Estos autores sugirieron que la eliminación preferencial de la proteína de la uva también podría ser un enfoque viable para aumentar los taninos del vino (Springer et al. 2016a).

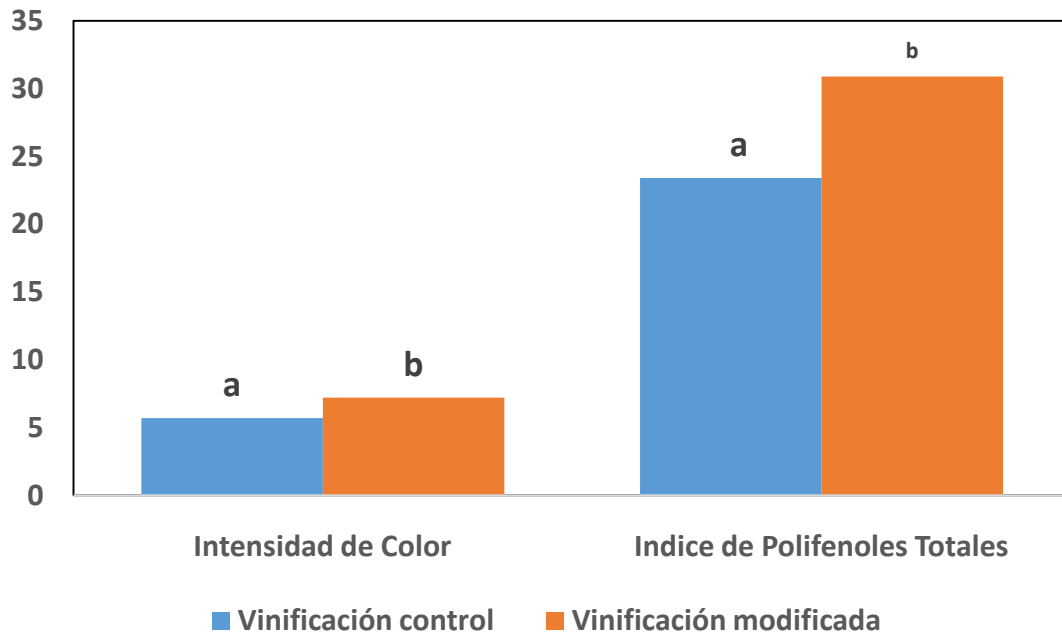


Gráfico 1. Comparación de la vinificación control con la vinificación modificada de los parámetros: Intensidad de color e Índice de polifenoles totales.

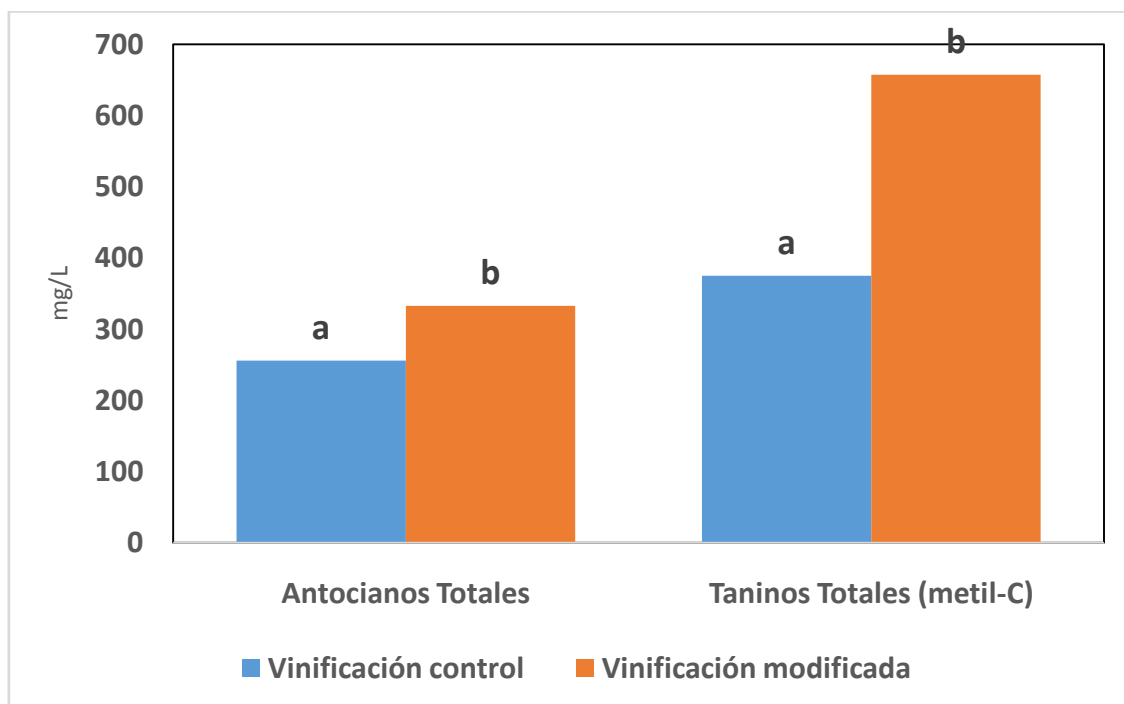


Gráfico 2. Comparación de la vinificación control con la vinificación modificada de los parámetros: Antocianos Totales y Taninos Totales medidos por el método de la metil-celulosa.

Cuando los taninos se determinaron por fluoroglucionólisis, la concentración observada fue menor que cuando se determinaron con el método de la metilcelulosa, ya que con este método solo se determinan los taninos que pueden polimerizarse con el reactivo de fluoroglucinol aunque la ventaja de este método es que proporciona, además, información estructural sobre los taninos. El vino elaborado con el método modificado presentó un incremento de taninos despolimerizables del 35% respecto al control. El grado medio de polimerización solo aumentó ligeramente lo que podría indicar que las paredes celulares suspendidas no eliminaron preferentemente los taninos derivados del hollejo o las semillas. De hecho, cuando el porcentaje de taninos de hollejo y semilla se calculó de acuerdo con el método de Peyrot des Gachons y Kennedy (2003), no se observaron diferencias estadísticamente significativas en el porcentaje de taninos de hollejo (56,3% para la vinificación control y 51,5% para la vinificación modificada); como tampoco las hubo para el porcentaje de taninos procedente de semilla de uva (43,7% para vinificación control y 48,5% para la vinificación modificada). Estos hallazgos no coincidieron con los de Bindon et al. (2017), quienes encontraron que el material de la pulpa se unía a los taninos de semillas de manera más selectiva que a los taninos del hollejo (aunque trabajaron con uvas Cabernet Sauvignon y no se puede descartar un efecto varietal). También encontraron que el grado de polimerización medio de los taninos se veía afectado mínimamente por la presencia de la pulpa, ya que la eliminación de los taninos por mesocarpio puede crear un gradiente de concentración que aumenta la extracción de los taninos de uva.

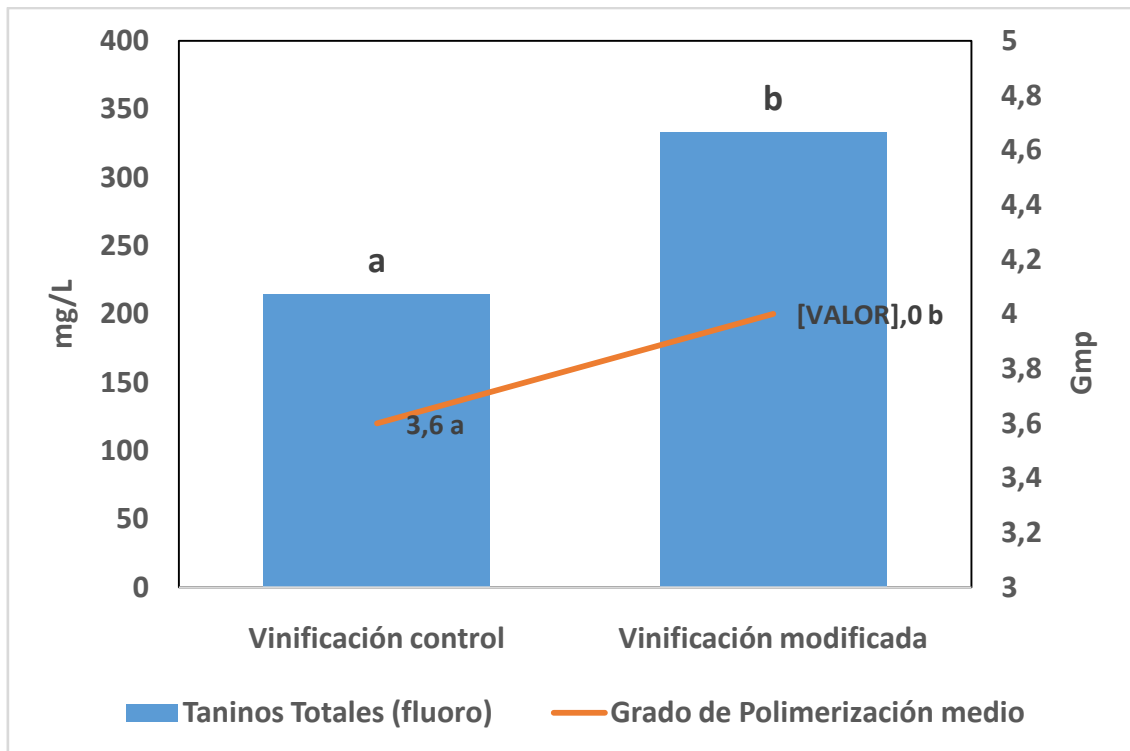


Gráfico 3. Comparación de la vinificación control con la vinificación modificada de los parámetros: Taninos totales y Grado de polimerización medio medidos por el método de la fluoroglucinólisis.

Para completar el estudio del perfil fenólico de estos vinos los compuestos fenólicos también se analizaron por cromatografía de exclusión de tamaño (Gráfico 4). Los resultados muestran que la distribución de masa molecular fue la misma para ambos vinos, no cambió debido al proceso de desfangado al que uno de los vinos fue sometido, el único efecto evidente es el incremento del área de la curva, lo cual es el resultado esperado para el vino elaborado con la vinificación modificada ya que su contenido fenólico es mayor.

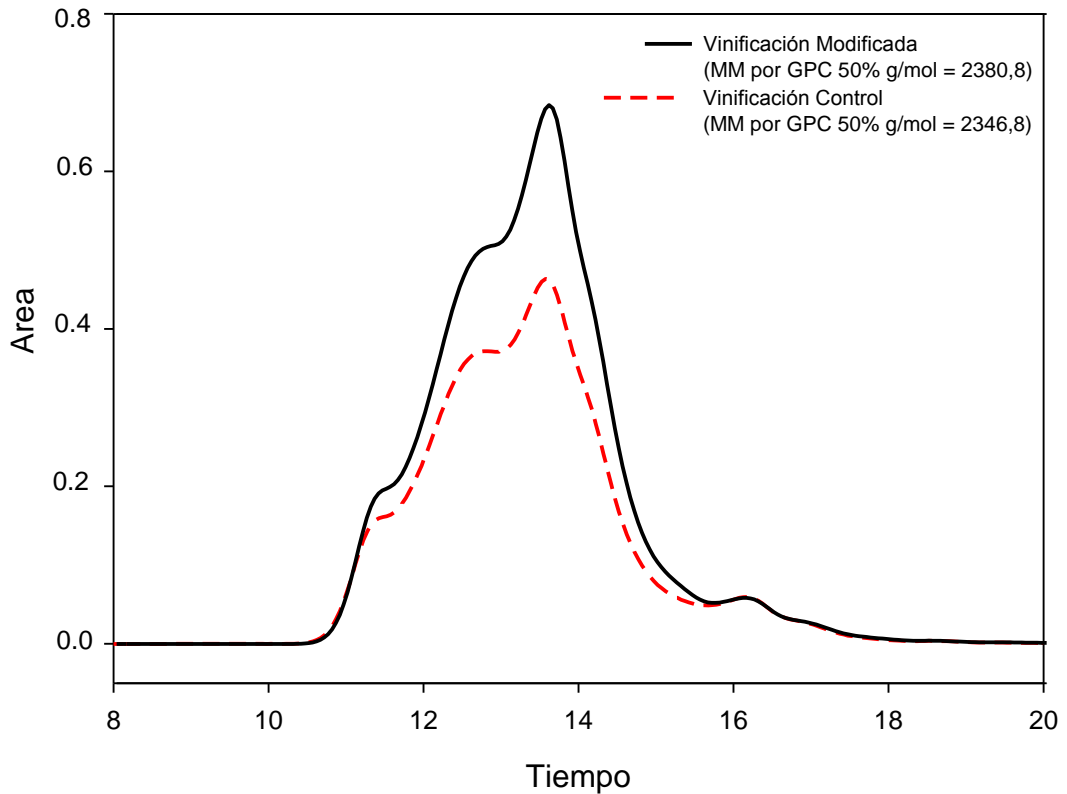


Gráfico 4. Análisis de la distribución de la masa molecular de los taninos medida por Cromatografía de Exclusión por Tamaño (GPC). Comparación de la Vinificación control y la vinificación modificada.

4. Conclusiones

Los resultados de este estudio demuestran que una modificación en una vinificación tradicional del vino tinto para incluir la eliminación del material suspendido del mosto dio lugar a un aumento en la concentración final de compuestos fenólicos en el vino, confirmando el papel de este material vegetal (formado fundamentalmente por las paredes celulares de la pulpa y en menor medida del hollejo) en la retención y la eliminación de compuestos fenólicos durante la vinificación. Dado que el grado medio de polimerización de los taninos de vino no cambió ni tampoco la proporción de taninos del hollejo o semilla, se puede confirmar que no hay preferencia de las paredes celulares suspendidas para los taninos de hollejo o semillas. La extracción efectiva de compuestos fenólicos de las uvas durante la maceración fermentativa se podrá

ver favorecida, por lo tanto, si el enólogo es capaz de limitar o gestionar estas asociaciones.

5. Bibliografía

- Adams D O and Scholz R. 2007. Tannins: the problem of extraction. 1-5. Blair, R.J., Williams, P.J. and Pretorius, I.S. eds. Proceedings of the 13th Australian wine industry technical conference; 28 July-2 August 2007; Adelaide, SA, Australia (Australian 196 Wine Industry Technical Conference: Urrbrae, SA, Australia) pp. 160-164.
- Bautista-Ortín A B, Cano-Lechuga M, Ruiz-García Y, and Gómez-Plaza E. 2014. Interactions between grape skin cell wall material and commercial enological tannins. Practical implications. *Food Chem* 152:558-565.
- Bautista-Ortín A B, Martínez-Hernández A, Ruiz-García Y, Gil-Muñoz R, and Gómez-Plaza E. 2016. Anthocyanins influence tannin-cell wall interactions. *Food Chem* 206:239-248.
- Bautista-Ortín A B, Ruiz-García Y, Marín F, Molero N, Apolinar-Valiente R, and Gómez-Plaza E. 2015. Remarkable proanthocyanidin adsorption properties of Monastrell pomace cell wall material highlight its potential use as an alternative fining agent in red wine production. *J Agric Food Chem* 63:620-633.
- Bindon K, Kassara S, and Smith P. 2017. Towards a model of grape tannin extraction under wine-like conditions: the role of suspended mesocarp material and anthocyanin concentration. *Aust J Grape Wine Res* 23:22-32.
- Bindon K, Smith P, Holt H, and Kennedy J. 2010a. Interaction between grape-derived proanthocyanidins and cell wall material. 2. Implications for vinification. *J Agric Food Chem* 58:10736-10746.
- Bindon K, Smith P, and Kennedy J. 2010b. Interaction between grape-derived proanthocyanidins and cell wall material. 1. Effect on proanthocyanidin composition and molecular mass. *J Agric Food Chem* 58:2520-2528.
- Busse-Valverde N, Bautista-Ortín A B, Gómez-Plaza E, Fernández-Fernández J I, and Gil-Muñoz R. 2012. Influence of skin maceration time on the proanthocyanidin content of red wines. *EurFood Res Technol* 235:1117-1123.
- Busse-Valverde N, Gómez-Plaza E, López-Roca J M, Gil-Muñoz R, Fernández-Fernández J I, and Bautista-Ortín A B. 2010. Effect of different enological practices on skin and seed proanthocyanidins in three varietal wines. *J Agric Food Chem* 58:11333-11339.

- Guerrero R, Smith P, and Bindon K. 2013. Application of insoluble fibers in the fining of wine phenolics. *J Agric Food Chem* 61:4424-4432.
- Harbertson J F, Kennedy J A, and Adams D O. 2002. Tannin in skins and seeds of Cabernet sauvignon, Syrah and Pinot noir berries during ripening. *Am J Enol Vitic* 53:54-59.
- Ho P, Da Conceição M, Silva M, and Hogg T A. 2001. Changes in the colour and phenolic composition during the early stages of maturation of port in wood, stainless steel and glass. *J SciFoodAgric* 81:1269-1280.
- Jiménez-Martínez M D, Gómez-Plaza E, Molero N, and Bautista-Ortin A B. 2017. Fining of Red Wines with Pomace Cell Wall Material: Effect on Wine Phenolic Composition. *Food Biopr Technol* 10:1531-1539.
- Ortega-Regules A, Romero-Cascales I, Ros-García J M, Bautista-Ortin A B, Lopez Roca J M, Fernández-Fernández J I, and Gómez-Plaza E. 2008. Anthocyanins and tannins in four grape varieties (*Vitis vinifera* L.). Evolution of their content and extractability. *J Int Sci Vigne Vin* 42:1-10.
- Ortega-Regules A, Romero-Cascales I, Ros-García J M, López-Roca J M, and Gómez-Plaza E. 2006. A first approach toward the relationship between grape skin cell-wall composition and anthocyanin extractability. *Anal Chim Acta* 563:26-32.
- Peyrot des Gachons C and Kennedy J A. 2003. Direct Method for Determining Seed and Skin Proanthocyanidin Extraction into Red Wine. *J Agric Food Chem* 51:5877-5881.
- Rio Segade S, Giacosa S, Gerbi V, Rolle L. 2011. Berry skin thickness as main texture parameter to predict anthocyanin extractability in winegrapes. *LWT Food Sci. Technol.* 44:392-398.
- Smith P. 2005. Precipitation of tannin with methyl cellulose allows tannin quantification in grape and wine samples. *AWRI Technical Review* 158:3-7.
- Springer L, Chen L, Stahlecker A, Cousins P, and Sacks G. 2016a. Relationship of soluble grape derived proteins to condensed tannin extractability during red wine fermentation. *J Agric Food Chem* 64:8191-8199.
- Springer L, Sherwood R, and Sacks G. 2016b. Pathogenesis-related proteins limit the retention of condensed tannin additions to red wines. *J AgricFoodChem* 64:1309-1317.