

Estudio plurianual del empleo de técnicas enológicas alternativas en la producción de vinos Tannat de Uruguay

Multi-annual study of the application of alternative winemaking techniques in the production of Tannat wines from Uruguay

Gustavo González-Neves¹, Guzmán Favre¹ y Diego Piccardo¹

¹Facultad de Agronomía, Universidad de la República, Avda. Garzón 780, CP. 12900 Montevideo, Uruguay

Resumen. Este estudio resume los principales resultados de ensayos realizados en Uruguay con la variedad Tannat durante 25 años. Los vinos de este cultivar son emblemáticos del Uruguay. Tienen una gran tipicidad, con un color y composición polifenólica particulares. Se evaluaron distintas técnicas de vinificación, con el objetivo de mejorar la calidad de los vinos y mitigar los efectos del cambio climático. Las opciones evaluadas fueron: (I) empleo de enzimas de maceración, (II) maceración pre-fermentativa en frío, (III) extracción diferida de antocianos, (IV) maceración extendida, (V) extracción diferida de antocianos con maceración extendida, (VI) maceración pre-fermentativa en caliente, (VII) empleo de taninos enológicos. Los testigos de cada ensayo fueron vinos elaborados de manera tradicional (MT). La MPC fue la técnica que tuvo mayor impacto en el color y la composición fenólica de los vinos. Los contenidos de antocianos solamente fueron incrementados por la MPC y ENZ. Los contenidos de taninos poliméricos fueron incrementados muy significativamente por MPC, ME y la MPF. A su vez, los mismos tratamientos incidieron significativamente en los contenidos de taninos monoméricos. Los resultados obtenidos fueron diferentes según la técnica de elaboración, respondiendo a los objetivos procurados en cada caso, pero los efectos fueron distintos en cada año. Esto indica que el efecto de cada técnica está condicionado por el clima y su impacto en la composición de la uva.

Abstract. This study summarizes the main results of trials carried out in Uruguay with the Tannat variety for 25 years. The wines of this cultivar are emblematic of Uruguay. They have a great typicity, with a particular color and polyphenolic composition. Different vinification techniques were evaluated, with the aim of improving the quality of the wines and mitigating the effects of the climate change. The options evaluated were: (I) use of maceration enzymes, (II) cold pre-fermentative maceration, (III) delayed extraction of anthocyanins, (IV) extended maceration, (V) delayed extraction of anthocyanins with extended maceration, (VI) hot pre-fermentative maceration, (VII) use of oenological tannins. The controls of each test were wines made in the traditional way (MT). The MPC was the technique that had the greatest impact on the color and phenolic composition of the wines. Anthocyanin contents were only increased by MPC and ENZ. The polymeric tannin contents were very significantly increased by the MPC and the MPF. In turn, the same treatments had a significant impact on the monomeric tannin contents. The results obtained were different according to the winemaking technique, responding to the proposed aims, but the effects in each year were different. This indicates that the impact of each technique was strongly conditioned by the climate and its effect on the composition of the grapes.

1 Introducción

Este estudio resume los principales resultados de ensayos de vinificación realizados en Uruguay con la variedad Tannat, entre el año 2006 y el 2019.

Tannat (*Vitis vinifera* L.) es originaria del Suroeste de Francia, y se cultiva en Uruguay desde el siglo XIX. En la actualidad se considera la variedad de uva emblemática del país. Está muy bien adaptada a las condiciones medioambientales, siendo la variedad tinta de vid más implantada en Uruguay [1].

Las uvas de esta variedad se caracterizan por su gran riqueza polifenólica, con altos contenidos de componentes relevantes para la calidad de los vinos. En las cosechas de buena maduración los contenidos de

antocianos y taninos en las uvas son muy elevados. Esta composición le confiere un potencial muy interesante para la obtención de vinos de muy buen color, con cuerpo y estructura potentes, aptos para ser consumidos como vinos jóvenes, pero también para el envejecimiento [2-5].

De todos modos, las uvas Tannat presentan características que justifican ajustar la gestión de las vinificaciones para poder aprovechar su gran riqueza antocianica, como la baja extractabilidad de estos compuestos [2, 4, 5].

También es una variedad de uva particularmente sensible al desarrollo de *Botrytis*, por lo que puede

haber problemas de calidad de sus vinos en años de clima adverso [6].

A efectos de mejorar la calidad de los vinos, mitigando los efectos del cambio climático, durante 25 años se ensayaron numerosas técnicas de vinificación alternativas, que consideran particularmente el efecto selectivo de las condiciones de maceración sobre la extracción de componentes de la uva y las reacciones en que estos participan [7-9].

Las técnicas de vinificación ensayadas incluyeron el empleo de enzimas de maceración, maceración prefermentativa en frío y en caliente, maceración extendida, extracción diferida de antocianos y empleo de taninos enológicos.

Las enzimas de maceración son empleadas para degradar los polisacáridos estructurales de las paredes celulares de los hollejos, facilitando la extracción de compuestos fenólicos de la uva. Las enzimas empleadas tienen sobre todo actividad poligalacturonasa, pectinesterasa y pectinliasa, con actividades adicionales celulasa y hemicelulasa [10, 11].

La maceración pre-fermentativa en frío consiste en mantener las uvas trituradas a bajas temperaturas (3–10 °C) por algunos días, haciendo que se facilite la extracción de los compuestos más hidrosolubles, mejorando el aroma y el color de los vinos [12]. El eventual congelamiento del líquido intracelular puede producir la rotura de las paredes celulares de los hollejos, facilitando la liberación de sus componentes [11, 13].

En las maceraciones largas (extendidas) se prolonga el contacto entre las partes sólidas de la uva y el vino en la etapa post-fermentativa, con lo que se promueve la extracción de taninos de las semillas, y se facilitan sus condensaciones con los antocianos [7, 8]. Todos estos compuestos pueden volver a fijarse en los hollejos y las semillas, si el contacto con estos es prolongado [9]. Por otra parte, la duración de la maceración incide directamente en la astringencia de los vinos [14].

La extracción diferida de antocianos es una práctica que procura retardar la difusión de los componentes de los hollejos en el mosto y suministrar menores cantidades de oxígeno en las primeras etapas de la vinificación, de manera de proteger particularmente a los antocianos de los fenómenos de oxidación. A su vez, el retraso en la extracción de estos compuestos busca promover su participación en las reacciones de adición con metabolitos de las levaduras y de condensación con taninos, que generan pigmentos más estables en el tiempo [15, 16].

La maceración pre-fermentativa en caliente o termovinificación es una técnica que emplea el calentamiento de los mostos para inactivar enzimas y potenciar la extracción de polifenoles [17, 18]. Esta técnica es la más recomendada para trabajar con uvas afectadas por *Botrytis* [17-19].

El empleo de taninos enológicos en la vinificación tiene como objetivos la inhibición de la actividad lacasa en frutos afectados por *Botrytis*, la estabilización del color de los vinos tintos, asegurar balance y

complejidad sensorial y participar en las reacciones de crianza del vino [18, 20, 21].

2 Materiales y métodos

La uva fue cosechada en cajones de plástico de 20 kg y en la bodega fue distribuida aleatoriamente. Las vinificaciones fueron hechas con 10 a 70 kg de uva, por duplicado o triplicado por técnica, según los ensayos.

Las uvas se analizaron en la cosecha, determinando sólidos solubles, acidez total, pH y potencial fenólico.

Las uvas fueron procesadas con una descobajadora-moledora Alfa 60 R (Italcom, Italia) y en la mayoría de los ensayos los mostos fueron encubados en recipientes de acero inoxidable de 100 litros. En los últimos años, trabajando con volúmenes de uva menores, se emplearon recipientes de plástico de 10 litros.

En todos los casos se hizo una siembra de levaduras secas activas *Saccharomyces cerevisiae*, agregando de 15 a 20 g/hL, de acuerdo con los preparados comerciales. Se agregaron 5 gramos de anhídrido sulfuroso cada 100 kg de uva y se realizaron dos remontajes por día durante las maceraciones. Las temperaturas de fermentación fueron controladas entre 27 y 30°C.

Los testigos de cada ensayo fueron vinos elaborados de manera tradicional (MT), macerando durante 8 días.

En todos los casos los orujos fueron prensados con una prensa manual de acero inoxidable y se juntaron los jugos de prensa y de gota. Los vinos fueron guardados en recipientes de vidrio de 10 litros hasta el momento de los análisis.

Las opciones evaluadas fueron:

(I) Empleo de enzimas de maceración (ENZ) entre 1995 y 2012. Los vinos ENZ fueron elaborados con preparados enzimáticos comerciales, que fueron agregados enseguida del descobajado y molienda de la uva, en dosis de 2,5 a 3 g/100 kg de uvas, según las recomendaciones comerciales.

(II) La maceración pre-fermentativa en frío (MPF) se hizo entre 2006 y 2014, llevando la temperatura de los mostos a 10°C inmediatamente después de la molienda, con hielo seco o mediante intercambio térmico. La MPF fue realizada durante 5 días. La siembra de levaduras se hizo luego de la maceración en frío, continuando con una maceración tradicional durante 8 días más.

(III) La maceración extendida (ME) (2006-2009) se hizo durante 15 días, incluyendo un período de maceración post-fermentativa.

(IV) La extracción diferida de antocianos (EDA) se evaluó entre 2006 y 2009. En estas vinificaciones no se realizaron remontajes hasta que la densidad del mosto descendió de 1050. La maceración se realizó durante 8 días.

(V) La opción de extracción diferida de antocianos con maceración extendida EDA+ME (2013-2014) fue implementada en base a los resultados obtenidos previamente. En las elaboraciones por EDA+ME se

postergó el inicio de los remontajes hasta que el mosto en fermentación contenía aprox. 5% de etanol, y se mantuvo el encubado en la fase post-fermentativa, con una duración total de 15 días.

(VI) La maceración pre-fermentativa en caliente (MPC) se hizo manteniendo la uva molida a 60 °C durante una hora, con una maceración fermentativa posterior similar a MT. Esta técnica fue evaluada entre 2015 y 2019.

(VII) El empleo de taninos de semillas (TAN) desde el encubado se hizo desde 2015 a 2019, agregando 30 g de taninos de hollejos cada 100 kg de uvas. Se maceró durante 8 días.

Los vinos fueron analizados a 3 meses del descube. El color y la composición polifenólica global de los vinos fueron analizados por espectrofotometría, luego de centrifugar las muestras a 3000 rpm por 3 min. Las medidas se efectuaron alternativamente con dos espectrofotómetros, UV-VIS Cole Parmer S2100-UV+ (Cole Parmer, USA) y Shimadzu UV-1800 (Shimadzu, Japón), empleando celdas de vidrio de 1 mm de recorrido óptico para los análisis de color y de 1 cm de recorrido óptico para los análisis de polifenoles.

El color fue estimado mediante los índices tradicionales propuestos por Glories [22] y a través del sistema CIELAB, calculando la claridad (L^*), cromaticidad (C^*), tonos rojos (a^*) y amarillos (b^*), empleando el iluminante D65 y 10° como observador, de acuerdo con Ayala et al. [23].

Los contenidos de polifenoles totales fueron determinados con el reactivo de Folin-Ciocalteu, según Singleton y Rossi [24]. Los contenidos de antocianos se estimaron por decoloración con sulfitos, de acuerdo con Ribéreau-Gayon y Stonestreet [25]. Las catequinas fueron analizadas a través del método de Swain y Hillis [26] y las proantocianidinas según Ribéreau-Gayon y Stonestreet [27].

Los antocianos libres se analizaron por HPLC-DAD, de acuerdo con lo propuesto por Revilla *et al.* [28]. La identificación de los compuestos analizados de esta forma fue confirmada previamente por HPLC-MS [29]. Los vinos se filtraron con un equipo Sartorius de 0,45 μ m (Sartorius, USA) y fueron inyectados en el sistema cromatográfico, compuesto por dos bombas Waters 510 and 515, un inyector Rheodyne 7725i (20 μ m) y un detector de arreglo de diodos Waters 2996 (Waters Corp., USA). El sistema fue controlado con el software Millennium 32 (Waters Corp., USA). Se usó una columna Luna C18 de fase reversa, 5 μ m, 150 x 4.6 mm (Phenomenex, USA). La fase móvil tuvo un flujo de 0,8 mL/min. Se empleó un gradiente binario. Como solvente A se usó ácido fórmico/H₂O (10/90) y como solvente B metanol/ácido fórmico/H₂O (45/10/45). Se pasó de 35 a 95% B en 20 min, de 95 a 100% B en 5 min y se mantuvo un régimen isocrático de 100% B por 5 min.

Todos los análisis se hicieron por duplicado. El análisis estadístico de los datos se hizo empleando Statgraphics Centurión XVI.II (StatPoint Techn., U.S.A.). Se hicieron análisis de la varianza y comparación de medias por medio del test de Tukey al 5%.

Para realizar una comparación interanual, los valores fueron relativizados, considerando los testigos correspondientes.

3 Resultados y Discusión

El tratamiento que más incidió en el color de los vinos fue la maceración prefermentativa en caliente. El uso de enzimas también incrementó promedialmente la intensidad colorante, con respecto a los testigos (Fig. 1). Este efecto fue diverso, según los preparados comerciales ensayados.

Estos resultados concuerdan con los reseñados por numerosa bibliografía [17, 18, 30].

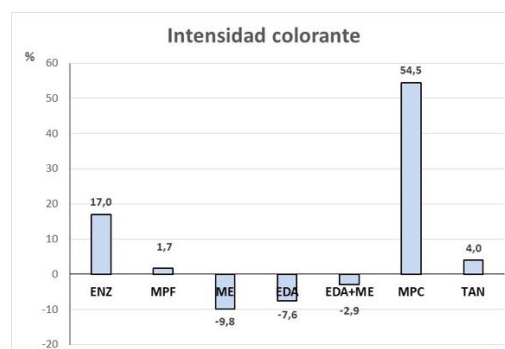


Figura 1. Variación promedio de la intensidad colorante de los vinos obtenidos con cada alternativa en relación con sus respectivos testigos.

En correspondencia con la IC, los contenidos de antocianos de los vinos MPC fueron significativamente mayores que los de sus testigos. También hubo incrementos de estos compuestos en los vinos ENZ (Fig. 2).

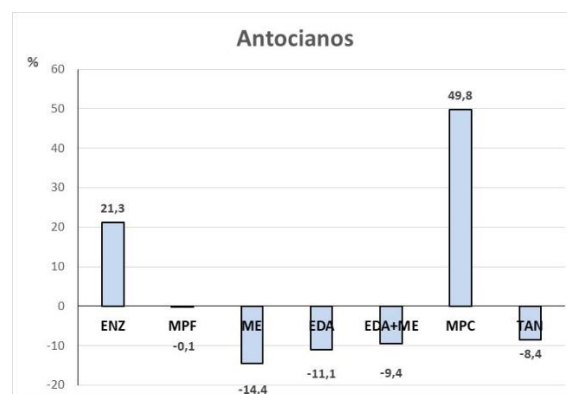


Figura 2. Variación promedio de los contenidos de antocianos de los vinos obtenidos con cada alternativa en relación con sus respectivos testigos.

Los análisis de antocianos por HPLC confirmaron los resultados obtenidos por espectrofotometría. Se constató que los perfiles antociánicos no fueron modificados sustancialmente por los distintos tratamientos, con excepción de la maceración prefermentativa en caliente. En este caso se observó un incremento en los porcentajes de delphinidina, petunidina y peonidina, en detrimento de los de

malvidina (Fig. 3). Esta variación puede deberse a la protección de las formas más lábiles frente a las oxidaciones catalizadas por enzimas, como resultado de la inactivación de las mismas por el calentamiento (17, 18).

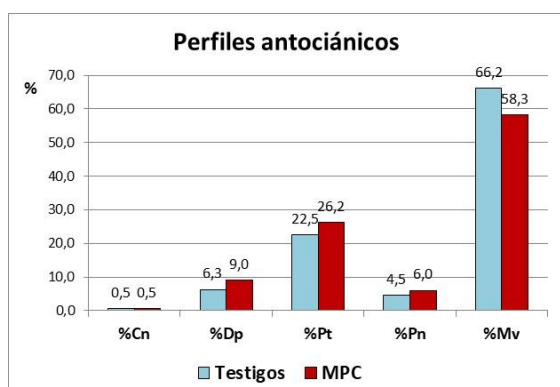


Figura 3. Proporción media de las distintas formas antociánicas en los vinos MPC y en sus respectivos testigos.

Los contenidos fenólicos totales fueron incrementados por casi todos los tratamientos, destacándose MPC, MPF y ENZ (Fig. 4).

En el caso de las enzimas de maceración se señala que pueden modificar la estabilidad, el sabor y la estructura de los vinos tintos, porque además de los antocianos liberados desde los hollejos también extraen taninos de las paredes celulares de los hollejos y de las células de las semillas [31]. El efecto de los preparados enzimáticos también está condicionado por la estructura y composición de las paredes celulares de los hollejos. Por tanto, puede ser muy diferente según la variedad de uva, ya que los factores genéticos regulan estas características [32].

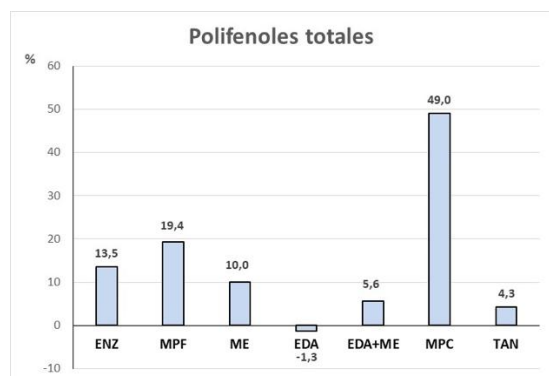


Figura 4. Variación promedio de los contenidos de polifenoles totales de los vinos obtenidos con cada alternativa en relación con sus respectivos testigos.

Los contenidos de catequinas fueron incrementados muy significativamente por MPC, MPF y ME (Fig. 5).

Es conocido que las maceraciones extendidas incrementan la extracción de taninos de las semillas, que tienen menor tamaño que los de los hollejos [33, 34]. En algunos estudios se ha constatado que no siempre se incrementan los contenidos fenólicos con maceraciones más prolongadas, ya que el resultado

depende de la interacción entre los taninos y los polisacáridos componentes de las paredes celulares de los hollejos [35].

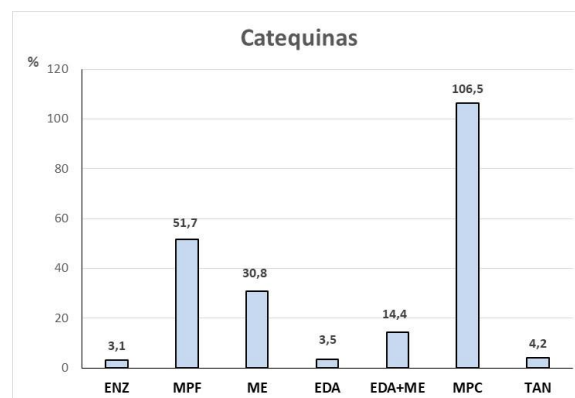


Figura 5. Variación promedio de los contenidos de catequinas de los vinos obtenidos con cada alternativa en relación con sus respectivos testigos.

Los contenidos de proantocianidinas fueron incrementados muy significativamente por MPC, MPF y ME (Fig. 6). El efecto de estos tratamientos sobre los taninos poliméricos fue similar al observado para los monómeros. Como era de esperar, las diferencias observadas impactaron en la astringencia de los vinos.

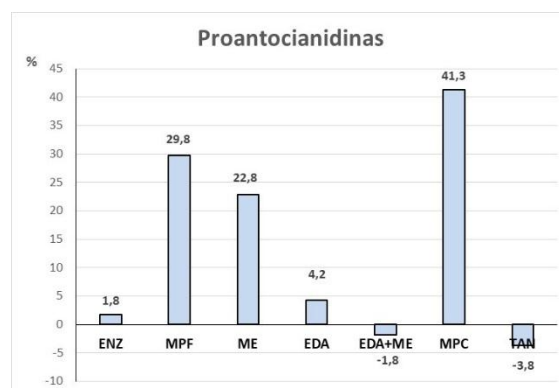


Figura 6. Variación promedio de los contenidos de proantocianidinas de los vinos obtenidos con cada alternativa en relación con sus respectivos testigos.

Resumiendo los principales resultados obtenidos, los vinos ENZ tuvieron incrementos promedio, respecto a los testigos, en la intensidad colorante, contenidos fenólicos totales y de antocianos. Tuvieron menor tonalidad y fueron más oscuros. Se observó una gran variabilidad en los resultados encontrados en los distintos ensayos (datos no mostrados), que corresponden a distintos preparados enzimáticos y a diversa composición de la materia prima, como consecuencia de las condiciones climáticas de los distintos años considerados.

La maceración pre-fermentativa en frío presentó diferencias significativas con los testigos en los contenidos de polifenoles totales, catequinas y proantocianidinas.

Los vinos obtenidos con maceraciones extendidas tuvieron menor intensidad colorante y mayor tonalidad,

mayores contenidos de polifenoles totales, catequinas y proantocianidinas, y menores de antocianos.

Los vinos obtenidos por extracción diferida de antocianos tuvieron menor intensidad colorante y mayor tonalidad que los testigos. Los antocianos disminuyeron y las catequinas y proantocianidinas aumentaron.

La opción EDA+ME modificó polifenoles totales, antocianos y catequinas.

La maceración pre-fermentativa en caliente incrementó muy significativamente la intensidad colorante y los contenidos de polifenoles totales, antocianos, catequinas y proantocianidinas. Los perfiles antocianicos de los vinos obtenidos con esta técnica presentaron descensos importantes del % de malvidina.

El empleo de taninos de semillas determinó una disminución de los antocianos y un aumento moderado de intensidad colorante, polifenoles totales y catequinas.

4 Conclusiones

Las técnicas evaluadas tuvieron diferente impacto en la composición fenólica y en el color de los vinos. Algunas de estas técnicas tuvieron impacto importante en la composición de los vinos Tannat, representando alternativas interesantes para mejorar su calidad.

La MPC fue la técnica que tuvo mayor impacto en el color y la composición fenólica de los vinos.

Los contenidos de antocianos solamente fueron incrementados por la MPC y ENZ, con el consiguiente impacto en la intensidad colorante de los vinos.

Los contenidos de taninos poliméricos fueron incrementados muy significativamente por la MPC, la MPF y la ME, que también incidieron significativamente en los contenidos de taninos monoméricos de los vinos.

Los resultados obtenidos con cada técnica de elaboración fueron diferentes en los distintos años considerados, lo que indica que el clima condiciona el efecto de cada técnica, dado su impacto en la composición de la uva.

Los resultados corresponden a proyectos de investigación que fueron financiados por la Universidad de la República, el Instituto Nacional de Vitivinicultura (INAVI) y la Agencia Nacional de Investigación e Innovación (ANII) de Uruguay.

Referencias

1. INAVI. <http://www.inavi.com.uy> (2023)
2. G. González-Neves, D. Charamelo, J. Balado, L. Barreiro, R. Bochicchio, G. Gatto, G. Gil, A. Tessore, A. Carbonneau, M. Moutounet. *Anal. Chimica Acta* **513**(1), 191 (2004)
3. G. González-Neves, J. Franco, M. Moutounet, A. Carbonneau. *J. Int. Sci. Vigne Vin* **40**(2), 81 (2006)
4. G. González-Neves, G. Gil, M. Ferrer, D. Charamelo, J. Balado, R. Bochicchio, G. Gatto, A. Tessore. *Int. J. Food Sci. Tech.* **45**(9), 1843 (2010)
5. G. González-Neves, G. Gil, M. Ferrer. *Food Sci. Techn. Int.* **8**(5), 315 (2002)
6. M. Ferrer, G. González Neves, G. Camussi, G. Echeverría, A. Carbonneau. *Progrès Agric. Vitic.* **128**(18), 367 (2011)
7. V. Cheynier, M. Dueñas, E. Salas, C. Maury, J.M. Souquet, P. Sarni-Manchado, H. Fulcrand. *Am. J. Enol. Vitic.* **57**(2), 298 (2006)
8. H. Fulcrand, M. Dueñas, E. Salas, V. Cheynier. *Am. J. Enol. Vitic.* **57**(3), 289 (2006)
9. K. Sacchi, L. Bisson, D. Adams. *Am. J. Enol. Vitic.* **56**(3), 197 (2005)
10. I. Romero-Cascales, J.M. Ros-García, J.M. López-Roca, E. Gómez-Plaza. *Food Chem.* **130**, 626 (2012)
11. N. Busse-Valverde, E. Gómez-Plaza, J.M. López-Roca, R. Gil-Muñoz, A. Bautista-Ortín. *J. Agric. Food Chem.* **59**(10), 5450 (2011)
12. L.F. Casassa, E. Bolcato, S. Sari, N. Barda. *J. Food Comp. Anal.* **104**, 104168 (2021)
13. C. Lasanta, C. Cejudo, J. Gómez, I. Caro. *Processes* **11**, 374 (2023)
14. N. Busse-Valverde, A.B. Bautista-Ortín, E. Gómez-Plaza, J.I. Fernández-Fernández, R. Gil-Muñoz. *Eur. Food Res. Technol.* **235**, 1117 (2012)
15. A. Bosso, M. Guaita, P. Ballario. *Riv. Vitic. Enol.* **1-2**, 29 (2004)
16. A. Bosso, M. Guaita, L. Panero, D. Borsa, R. Follis. *Am. J. Enol. Vitic.* **60**, 379 (2009)
17. O. Geffroy, R. Lopez, E. Serrano, T. Dufourcq, E. Gracia-Moreno, J. Cacho, V. Ferreira. *Food Chem.* **187**, 243 (2015)
18. I. Lukić, I. Budić-Leto, M. Bubola, K. Damijanić, M. Staver. *Food Chem.* **224**, 251 (2017)
19. Borazan, A., Bozan, B. *Food Chem.* **138**, 389 (2013)
20. A. Bautista-Ortín, J. Fernández-Fernández, J. López-Roca, E. Gómez-Plaza. *J. Food Comp. Anal.* **20**, 546 (2007)
21. E. Obreque-Slier, A. Peña-Neira, R. López-Solís, C. Ramírez-Escudero, F. Zamora-Marín. *Eur. Food Res. Technol.* **229**, 859 (2009)
22. Y. Glories. *Conn. Vigne Vin* **18**(4), 253 (1984)
23. F. Ayala, J.F. Echávarri, A.I. Negueruela. *Am. J. Enol. Vitic.* **48**(3), 357 (1997)
24. V. Singleton, J. Rossi. *Am. J. Enol. Vitic.* **16**, 144 (1965)
25. P. Ribéreau-Gayon, E. Stonestreet. *Bull. Soc. Chim.* **9**, 2649 (1965)
26. T. Swain, W. Hillis. *J. Sci. Food Agric.* **10**, 63 (1959)
27. P. Ribéreau-Gayon, E. Stonestreet. *Chim. Anal.* **48**, 188 (1966)
28. I. Revilla, S. Pérez-Magariño, M. González-SanJosé, S. Beltrán. *J. Chrom. A* **847**, 83 (1999)
29. G. González-Neves, J. Franco, L. Barreiro, G. Gil, M. Moutounet, A. Carbonneau. *Eur. Food Res. Technol.* **225**, 111 (2007)
30. A. Bautista-Ortín, E. Jiménez-Pascual, N. Busse-Valverde, J. López-Roca, J. Ros-García, E. Gómez-Plaza, E. *Food Bioprocess and Tech.* **6**(8), 2207 (2013)

31. M. Ortega-Heras, S. Pérez-Magariño, M. González-Sanjosé. *LWT - Food Sci. Technol.* **48**, 1 (2012)
32. A. Ortega-Regules, J.M. Ros-García, A. Bautista-Ortín, J.M. López-Roca, E. Gómez-Plaza. *Eur. Food Res. Technol.* **227**, 223 (2008)
33. M. Gil, N. Kontoudakis, E. Gonzalez, M. Esteruelas, F. Fort, J.M. Canals, F. Zamora. *J. Agric. Food Chem.* **60**, 7988 (2012)
34. L.F. Casassa, C.W. Beaver, M.S. Mireles, J.F. Harbertson. *Aust. J. Grape Wine Res.* **19**(1), 25 (2013)
35. G. Garrido-Bañuelos, A. Buica, B. Kuhlman, J. Schückel, A. Zietsman, W.G.T. Willats, J.P. Moore, W. du Toit. *Food Res. Int.* **150**, 110697 (2021)