

Efecto del uso de enzimas pectinolíticas sobre aspectos tecnológicos y visuales de mostos e vinos

Maria Luisa González-Sanjosé¹, Eduardo Izcara, Silvia Pérez-Magariño, Isabel Revilla

Introducción

Durante el estrujado y prensado de los frutos se liberan cantidades importantes de pectinas que pasan a los zumos. Las pectinas están presentes en las células vegetales, principalmente en la lamela media y en la pared primaria, y son un grupo heterogéneo de polisacáridos de grados de polimerización y ramificación variable. Son hidrocoloides negativos estables, con alta tendencia a mantenerse en suspensión por largos periodos de tiempo. Además, son capaces de estabilizar en suspensión a otros componentes coloidales de los zumos y mostos, y presentan gran capacidad de retención de agua. Por todo ello, contribuyen a la turbidez y viscosidad de los mostos y zumos (Grassin, 1992), e impiden la adecuada clarificación y filtración de estos productos, provocando la colmatación rápida de los filtros. Además, las pectinas originan importantes problemas en el procesado del zumo y del mosto debido a que estas sustancias retienen jugo durante el prensado de la fruta, disminuyendo el rendimiento de la extracción (Bosso, 1992). Todos estos problemas provocan importantes pérdidas económicas en las industrias de elaboración de zumos y mostos, que pueden reducirse con el uso de enzimas pectinolíticas, los cuales además pueden incluso mejorar la calidad sensorial y la estabilidad de los productos acabados (Castino *et al*, 1990; Berta, 1991) que en el caso del sector enológico se refieren tanto a mostos de consumo directo como a los vinos obtenidos por transformación de los mostos.

La uva contiene enzimas pectinolíticas endógenos capaces de degradar las pectinas, pero éstos actúan muy lentamente (Lecas, 1994), y algo similar ocurre con las actividades pectinolíticas de ciertas levaduras y bacterias de interés enológico. Es por ello, que el uso de enzimas pectinolíticas exógenos se ha convertido en una práctica habitual en muchas bodegas. Su uso persigue mejorar los rendimientos, facilitar el procesado y mejorar la calidad de los productos finales.

La obtención de vinos de calidad implica la utilización de una serie de técnicas de elaboración que aseguren la obtención de un producto final cuyas características incluyan, entre otras, un buen aspecto visual, gran limpidez, transparencia, color, capa, etc., que además deben ser estables durante la vida del vino.

En este sentido, el empleo de enzimas pectinolíticas presenta efectos beneficiosos, ya que mejora el brillo y la luminosidad del producto final (Brillouet *et al*, 1990), al eliminar las causas de la turbidez. Recuérdese que las pectinas pueden llegar a suponer el 50% de la sustancia coloidal en el mosto, y que su destrucción facilita la precipitación de proteínas, polímeros fenólicos y en menor medida de ácidos urónicos.

Desde el punto de vista del color, uno de los atributos más importantes de los vinos, ya que es la primera característica observada por el consumidor, se ha detectado que las tendencias del mercado en los últimos años se inclinan hacia vinos tintos y rosados de color intenso y con marcadas tonalidades púrpuras (sobre todo en vinos tintos). En respuesta a esta demanda, se han desarrollado diferentes prácticas enológicas para favorecer la extracción de la materia colorante y mejorar el color, entre ellas se encuentra el uso de enzimas pectinolíticas. Dentro de éstas existen dos grandes grupos de preparados comerciales, los denominados clarificantes y los extractores de color. Aunque los primeros se usan con la intención de disminuir la turbidez y facilitar su clarificación, se ha comprobado que también producen un aumento de la extracción de compuestos fenólicos, mejorando el color tanto de vinos rosados como tintos (Izcara, *et al*, 2001 y Revilla, 1999).

Una revisión de los trabajos publicados sobre el efecto de la aplicación de enzimas sobre la extracción de compuestos fenólicos muestra resultados adversos, unos señalan que la favorece (Gligiotti and Bucelli, 1993, Zent and Inama, 1992, Servili *et al*, 1992) mientras que otros muestran que no siempre ocurre así (Valdés-Sánchez y Regodón-Mateos, 1994, Nicolini *et al*, 1994). Por otro lado no siempre un aumento de los contenidos fenólicos se traduce en un aumento de la intensidad colorante y la tonalidad roja (Servili *et al*, 1992; Valdés-Sánchez y Regodón-Mateos, 1994). Estos resultados se deben esencialmente a la disparidad de actividades enzimáticas de cada producto comercial, influyendo además la variedad de uva sobre las que se aplican, que condiciona la carga y tipo de sustancia pectínica presente en mostos y vinos (Castino and Ubigli, 1979; Castino *et al*, 1990; Bosso, 1992); las condiciones de aplicación, etc. Por ello, se recomienda que antes de aplicar cualquier preparado enzimático en vinificación se hagan pruebas previas para determinar efectos, dosis, y demás parámetros de interés.

Es bien sabido, que durante el envejecimiento del vino, tanto en botella como en bodega, el color brillante, rojo-azulado del vino pierde viveza y tiende progresivamente hacia tonalidades teja e incluso marrones (Bakker y Timberlake, 1986 y Singleton y Trousdale, 1992), debido a la pérdida progresiva de antocianos libres que evolucionan rápidamente

¹ Área de Tecnología de los Alimentos, Universidad de Burgos. Plaza Misael Bañuelos s/n. E-09001 Burgos, España.
E-mail: marglez@ubu.es

para dar polímeros de alto peso molecular con otros flavonoides (Sommers y Evans, 1986, Di Stefano y González-Sanjosé, 1991; Mazza, 1995). Estos cambios dependen, entre otros factores, de la composición fenólica del vino y por tanto también pueden ser modificados por la aplicación de los enzimas pectinolíticos. Por ejemplo, la eliminación de polisacáridos, impide o reduce la posibilidad de combinación de estos con antocianos y taninos, reduciéndose los riesgos de aparición de turbidez en botella y los cambios de color asociados a estos fenómenos. En el caso de vinos blancos, el tiempo de almacenamiento suele traducirse en un pardeamiento directamente relacionado con la dotación fenólica, por tanto el efecto del enzima sobre la composición del vino joven tendrá gran repercusión en la evolución de estos vinos.

El principal inconveniente de la utilización de enzimas pectinolíticas es que puede producir un aumento del contenido en metanol, especialmente en el caso de vinos tintos (Castino *et al*, 1990; Bosso, 1992; Revilla y González-Sanjosé, 1998). Ello es debido a que los preparados pueden contener cantidades variables de pectín-metil-esterasa, enzima que libera grupos metoxi de las pectinas. El metanol es un alcohol tóxico debido a que interfiere en el metabolismo hepático y en altas concentraciones puede incluso provocar la muerte, de ahí el interés en controlar su contenido en el vino y que sus cantidades máximas se hallen legisladas (Revilla y González-Sanjosé, 1998).

En el presente trabajo se muestra el efecto de la aplicación de diferentes preparados enzimáticos comerciales sobre algunos parámetros relacionados con el aspecto visual de mostos y vinos (blancos, rosados y tintos), como el color o la turbidez, además de hacer referencia a otros efectos de carácter más técnico como la filtrabilidad. Se hará referencia a la influencia de la dosis de aplicación y al momento de la aplicación del enzima. La razón de estudiar distintos preparados comerciales se debe a que, como se ha comentado, los distintos preparados de uso enológico existentes en el mercado tienen diferente composición y actividades enzimáticas, lo cual no siempre queda bien reflejado en el etiquetado, ni en la información suministrada por los fabricantes.

Materiales y métodos

La elaboración de mostos y vinos blancos se llevó a cabo con uvas blancas *Vitis vinifera* de la variedad Albillo. Los mostos y vinos rosados y tintos se elaboraron con uvas tintas *Vitis vinifera* de la variedad Tinto Fino. Ambas variedades eran procedentes del término Municipal de Baños de Valdearados (Burgos).

Los procesos de elaboración de los mostos y vinos se describen resumidamente en la figura 1; en todos los casos se elaboraron vinos o mostos control ó testigo que no fueron tratados con enzimas. Los preparados enzimáticos se adicionaron sobre la uva estrujada (código "u"), y en su caso (blancos y rosados) sobre el mosto a la salida de la prensa (código "m"). Las dosis y tiempos de actuación empleados fueron los recomendados por los fabricantes para cada preparado enzimático estudiado. La temperatura de actuación de los enzimas recomendada fue de 16-18°C.

Los distintos tratamientos estudiados en cada tipo de mosto y vino se describen a continuación:

Blancos:

Zimopec PX1 (Perdomini SPA), 5 horas, sobre uva: 10 y 30 mg/L (Z1u y Z3u) y sobre mosto: 10 mg/L (Z1m)

Rapidase CX (Gist Brocades), 2 horas, sobre uva: 20 y 40 mg/L (R2u y R4u) y sobre mosto: 20 mg/L (R2m)

Rosados:

Zimopec PX1, 5 horas, 10 mg/L (Z1u y Z1m) y 30 mg/L (Z3u y Z3m)

Rapidase CX: 2 horas, 20 mg/L (R2u y R2m)

Tintos:

Zimopec PX1: 10 mg/L (Z1) y 30 mg/L (Z3)

Rapidase CX: 20 mg/L (R2) y 50 mg/L (R5)

Pectinase WL Extraction (Wormser Oenologie): 5 mg/L (P05) y 10 mg/L (P1)

Rapidase Ex. Colour (Gist Brocades): 20 mg/L (Rex.2) y 50 mg/L (Rex.5)

Todas las elaboraciones fueron realizadas por duplicado, y en el caso de los vinos tintos las experiencias se llevaron a cabo durante dos años consecutivos.

Métodos analíticos

Tradicionalmente **el color** del vino ha sido medido utilizando el método de Sudraud (1958) y el método triestimular propuesto por la CIE. En 1984, Glories introdujo algunas modificaciones en el método de Sudraud de modo que proporciona una mayor información sobre el color del vino. Basado en el método CIE, González *et al*, 1990) propusieron un nuevo método que emplea la medida de 40 longitudes de onda. Todos ellos se aplicaron para la evaluación del color de los productos de este trabajo, aunque por simplificar la exposición de resultados tan solo se mostraran resultados de algunos de ellos.

La **turbidez** se determinó un turbidímetro portátil 2100P y se expresó en unidades nefelométricas de turbidez (NTU).

La **filtrabilidad** de mostos y vinos se evaluó por un método sencillo diseñado en el laboratorio consistente en medir el tiempo que un volumen determinado de producto en pasar por una membrana de tamaño de poro de 20-40 μm en el caso del vino y de 90-120 μm en el caso del mosto (Pérez-Magariño, 1996).

La medida de **pectinas totales** se llevó a cabo mediante el método de Robertson (1979).

Las **familias fenólicas** se evaluaron por los métodos espectrofotométricos clásicos (Paronetto, 1977).

Todos los análisis se realizaron por duplicado.

Análisis estadístico

El análisis estadístico de los datos se realizó a través del análisis de la varianza (ANOVA) y el test LSD (Least Significant Difference) para un nivel de significación $\Delta=0.05$, usando el paquete estadístico Statgraphics Plus para Windows (1995 Manugistics Inc.).

Los datos que aparecen en las gráficas y tablas se corresponden con los valores medios de las elaboraciones y de los análisis. Las letras que les acompañan indican las diferencias o similitudes estadísticas (distinta ó la misma letra respectivamente).

Resultados y discusión

A continuación se muestran y comentan los datos obtenidos para cada tipo de productos (blancos, rosados y tintos).

Mostos y vinos blancos

Los resultados obtenidos en los mostos blancos se recogen en la figura 2a, en la que se observa una importante reducción de la turbidez y del contenido de pectinas totales de algunos mostos tratados enzimáticamente con respecto al control, no existiendo tantas diferencias en la filtrabilidad. Todos los mostos tratados enzimáticamente filtran mejor que el control, pero se observan menores diferencias entre tratamientos, teniendo en cuenta los contenidos de pectinas. Estos resultados marcan que la filtrabilidad de los mostos no depende tanto del contenido pectico total, cómo del tipo de pectina presente en el medio (Pérez-Magariño y González-Sanjosé, 2001), ya que mostos con contenidos de pectinas totales muy dispares presentan filtrabilidades similares. Sin embargo, la turbidez sí depende claramente de la carga pectica del mosto, ya que aquellos con mayor contenido pectico total son precisamente los de mayores valores de turbidez.

Cabe destacar la mayor actividad del preparado R, que se traduce en menores valores de turbidez y pectinas totales en esos mostos. Así como que el tratamiento enzimático sobre el mosto proporcionó jugos con menos pectinas y turbidez que los tratados sobre la masa estrujada, lo que puede deberse a que la adición de enzimas a la masa permite una mayor extracción de todos los compuestos, incluidas las pectinas, las cuales a su vez provocan un aumento de la turbidez.

Dado que el desfangado de los mostos se llevó a cabo por sedimentación natural ayudada únicamente por la aplicación de frío. En estas condiciones, las lías obtenidas se deben única y exclusivamente a la sedimentación de sólidos presentes en el mosto recién obtenido, y pueden considerarse un parámetro de evaluación de la clarificación producida. Los datos obtenidos (figura 3) ponen claramente de manifiesto que los enzimas estudiados tienen efectos muy diversos en cuanto a la formación de lías, es decir, presentan capacidades muy distintas para favorecer la eliminación de los sólidos en suspensión. Destaca una formación de lías mucho mayor en los mostos tratados con el enzima R, ya sea sobre la masa estrujada o sobre el mosto, lo que demuestra una mayor actividad clarificante de este enzima. Evidentemente, en los mostos procedentes de la aplicación de los enzimas sobre la masa de uva estrujada, la cantidad de lías formadas es mayor que la obtenida en los mostos tratados tras el prensado.

Los datos también muestran que la dosis de enzima empleado puede o no tener influencia dependiendo del producto empleado (preparado Z efecto positivo claro, no efecto en enzima R).

Respecto al color, no se observó un pardeamiento más intenso de los mostos tratados, a pesar de que en algunos casos el contenido fenólico total fue algo superior (tabla 1).

El vino control y los vinos obtenidos tras el tratamiento enzimático de las uvas o mostos (figura 2b), mostraron diferencias estadísticamente significativas en el parámetro de filtrabilidad y en el contenido de pectinas totales, pero no en los valores de turbidez, que en todos los vinos fue bastante baja debido a la clarificación normal del mosto-vino durante la fermentación. De nuevo se observa una mayor actividad del enzima R. Destaca el hecho de que los vinos obtenidos tras aplicar algún tratamiento enzimático sobre el mosto fueron más turbios que el vino control, no encontrándose una clara explicación a este hecho, salvo que esté relacionado con la mayor carga fenólica de estos productos.

Todos los vinos elaborados aplicando enzimas fueron más oscuros que el vino control, sin encontrarse diferencias marcadas entre tratamientos a pesar de las diferencias en dotación fenólica, por tanto parece que el color más oscuro de estos vinos no solo está relacionado con la cantidad de sustratos del pardeamiento presentes (fenoles).

En resumen, se pone de manifiesto que un adecuado tratamiento enzimático conduce a la obtención de mostos más limpios o menos turbios; con mejor filtrabilidad, es decir, menos dañinos para los sistemas de filtración. Además, aunque sean algo más ricos en sustancias fenólicas, no presentan mayor grado de pardeamiento que los no tratados. Por el contrario, el efecto de los enzimas sobre los vinos sí parece ejercer cierto aumento de su color y, aunque mejora su filtrabilidad no lo hizo con la turbidez.

Mostos y vinos rosados

Los resultados relativos a los mostos rosados son similares a los descritos para los blancos. Se pone de manifiesto que el uso de estos preparados modifica de forma importante el contenido de sustancias pécticas de los mostos (figura 4a) y que este efecto depende principalmente del momento en el que se añade el enzima, observándose de nuevo que el tratamiento del mosto produce una disminución importante del contenido péctico, mientras que el tratamiento sobre la vendimia aumenta su contenido.

Este efecto sobre el contenido péctico tendrá repercusiones tecnológicas importantes como que los mostos (u) serán coloidalmente menos estables y más turbios (tabla 2), mientras que los (m) presentarán menor tendencia a formar precipitados y serán más limpios y brillantes. Además, teniendo en cuenta la necesidad de poner en el mercado productos filtrados limpios y brillantes, en principio los mostos (u) podrían ser más problemáticos para los sistemas de filtración (figura 4b).

Aunque los datos de polifenoles totales no permiten indicar un efecto general del uso de enzimas ya que unas muestras presentan cantidades similares y otras superiores a las del mosto control, los datos del contenido antocianico sí ponen claramente de manifiesto que se mejora su extracción en todos los casos (tabla 2), lo que produce un aumento significativo del color de los mostos tratados.

Respecto a los vinos rosados, el análisis de los distintos parámetros relacionados con las familias fenólicas pone de manifiesto importantes diferencias entre los vinos tratados y el control, así como entre los propios tratamientos (tabla 3). El contenido de polifenoles totales es, en el tratamiento sobre la vendimia, superior al del vino control, mientras que en el tratamiento sobre el mosto presenta valores similares o inferiores. El contenido de antocianos es muy superior en todos los vinos tratados, presentando los mayores valores las muestras sometidas a tratamiento sobre la vendimia. Por el contrario, el contenido de catequinas, orto-difenoles y proantocianidinas es, en general, menor en todos los vinos tratados que en el vino control.

Estos resultados están directamente relacionados con los relativos a las características cromáticas de los vinos (figura 5a, b y c). La intensidad es superior en las muestras que presentan mayores contenidos de antocianos, especialmente las del tratamiento sobre la vendimia. La tonalidad disminuye en todos los vinos tratados frente al control, consecuencia del menor contenido de orto-difenoles, catequinas y proantocianidinas, sustratos principales del pardeamiento. Así, en general, los vinos tratados son vinos con matices rojos más intensos que redundarán en una mayor aceptabilidad, lo que supone una mejora importante para su comercialización.

Respecto al contenido de pectinas de los vinos sólo es ligeramente superior en algunas muestras del tratamiento sobre la vendimia. Sin embargo, este hecho no afecta de forma negativa ni a la filtrabilidad ni a la turbidez, que de hecho mejoran considerablemente, especialmente la última (tabla 3). La pérdida de pectinas durante el proceso fermentativo observado en los vinos (u) está asociada a la insolubilidad de éstas en medio hidroalcohólico, por lo que precipitan, así como a fenómenos de floculación.

Por tanto, en general, se puede decir que el uso de enzimas pectinolíticos induce importantes mejoras en la limpidez de los mostos y vinos al reducir sus niveles de pectinas, favoreciendo su filtrabilidad. Además mejoran la extracción de pigmentos intensificando el color.

Vinos tintos

Los resultados obtenidos fueron relativamente distintos en los dos años estudiados. Esto se debe a que en la segunda vendimia la fermentación fue muy rápida, durando apenas 5 días, con lo que el tiempo de actuación de los enzimas fue mucho menor. A pesar de este hecho, se observó que los preparados enzimáticos extractores fueron los que dieron los mejores resultados respecto a la extracción fenólica (tabla 4). Entre ellos fue superior en efectividad el preparado P, puesto que con una dosis cinco veces inferior dio resultados estadísticamente iguales a Rex. Por el contrario, los enzimas clarificantes no siempre aumentaron el contenido de PT sino que, incluso en ocasiones, produjeron contenidos estadísticamente inferiores. En este caso, se observó que los niveles finales de PT fueron dependientes de la dosis, hallándose los mayores contenidos en los vinos tratados con la máxima dosis aplicada. Similares resultados se encontraron para los antocianos totales, aunque en este caso la acción de los enzimas fue más reproducible en ambas

vendimias. Las enzimas pectinolíticas extractoras produjeron un aumento en los niveles de antocianos que fueron estadísticamente mayores en ambas añadas, pero mientras en el 95 fue más efectivo el P.1, en el 96 dio mejores resultados el Rex.5.

Los niveles de catequinas muestran efectos distintos en los dos años, mientras que en el 95 se obtuvo un aumento significativo de los niveles de las mismas en los vinos tratados con enzimas extractoras, en el 96 la adición de preparados pectinolíticos produjo una disminución de su contenido, resultado similar al hallado en vinos rosados (Izcara, 1996).

Los datos analíticos revelan que la adición de enzimas produce, en general, vinos con contenidos en PRO iguales o menores al control, con la excepción de algún enzima extractor.

Teniendo en cuenta el efecto directo de la composición fenólica en la cromaticidad del vino (tabla 5), se observa como los valores de intensidad fueron muy inferiores en el 96. Esto se debe a que en la intensidad influye más la carga fenólica total que la antocianica, por tanto a niveles similares de antocianos totales pero menores concentraciones de PT y copigmentos (CAT y PRO), la intensidad se reduce.

Se observaron dos efectos distintos según el tipo de enzima aplicado, los de tipo clarificante, en general, conducen a intensidades colorantes menores, mientras que los extractores dan vinos de intensidad significativamente superior. En todos los casos se encontraron mayores intensidades para las dosis más altas del producto aplicado.

La tonalidad se mejoró con todos los tratamientos y dosis aplicadas, siendo siempre menor que en el vino control.

Los resultados relativos a los porcentajes de color indican que todos los preparados utilizados produjeron un aumento significativo de la componente roja, acompañado de un descenso de la componente amarilla y azul. No se detectan diferencias entre preparados clarificantes y extractores, ni entre dosis aplicadas.

Por lo tanto, desde el punto de vista del color final del vino, la adición de enzimas pectinolíticas mejora la calidad puesto que aumenta la intensidad del vino, intensifica el color rojo característico del vino joven y disminuye el porcentaje de amarillo que es propio de los vinos envejecidos.

Los resultados de la filtrabilidad (tabla 6) indican valores más altos del tiempo de filtración en el 96 que en el 95, debido a un menor efecto de los enzimas. Así, en el 95 se puso de manifiesto una mejora de la filtrabilidad de todos los vinos tratados enzimáticamente, mientras que en el 96 este efecto no fue tan claro. No se detecta un efecto superior de los enzimas clarificantes frente a los extractores, ni de la dosis aplicada.

El efecto más destacable de la adición de enzimas pectinolíticas es la importante reducción de la turbidez que experimentan todos los vinos tratados frente al control, alcanzando en algunos casos el 95% de reducción. Los tratamientos más efectivos fueron los de tipo R (clarificante y extractor). Además, existe efecto significativo de la dosis, a mayor dosis menor turbidez. En todos los casos la reducción de la turbidez es lo suficientemente importante como para justificar la adición de enzimas a la vendimia.

La evolución de los parámetros cromáticos estudiados fue análoga en los vinos elaborados en ambas vendimias con la salvedad de que los vinos de la primera experiencia presentaron un efecto más pronunciado del uso de los enzimas. Por esta razón, y para simplificar la exposición de resultados no se mostrará la evolución de todos los parámetros para ambas experiencias, sino que se mostrarán indistintamente unos u otros.

En general, la evolución de los vinos fue la esperada. Como es bien sabido durante el proceso de envejecimiento de los vinos, estos pierden parte de su componente roja (figura 6a). Este descenso se produce simultáneamente al aumento del porcentaje de amarillo (figura 6b), lo que hace que los vinos presenten tonalidades más altas (figura 6c). Se observa como los vinos tratados conservan mejor color, presentando tonalidades más bajas y porcentajes de color rojo mayores.

La intensidad de los vinos tratados enzimáticamente presenta una evolución lógica y acorde con los cambios cromáticos ya descritos. Así, se observa que la intensidad disminuyó durante el almacenamiento como consecuencia de la pérdida de rojo, estabilizándose posteriormente (figura 7b). Sin embargo, los vinos control presentaron importantes aumentos del valor de este parámetro sobre todo durante los seis a doce primeros meses. Este hecho se debe esencialmente a la formación de polímeros de naturaleza coloidal que interfieren en la evaluación de este parámetro. Esta afirmación se apoya en los datos obtenidos del estudio de la evolución de la turbidez y la longitud de onda dominante ($\Delta\lambda$) (figuras 7 a y c), entre otros parámetros.

Trabajos previos realizados (Revilla y González Sanjosé, 2001) ponen de manifiesto que en los vinos no tratados enzimáticamente permanecen mayores contenidos de pectinas que favorecen la permanencia en suspensión de los nuevos polímeros coloidales formados durante el almacenamiento y/o envejecimiento de los vinos. Estos nuevos polímeros son esencialmente de naturaleza fenólica y aparecen por condensación de unos fenoles con otros o con otras materias en suspensión (Usseglio-Tomasset, 1995). La presencia de estos coloides no es siempre visible al ojo humano (Collado-Fernández *et al*, 2000) sin embargo se detecta en los turbidímetros nefelométricos (turbidez) e incluso en parámetros espectrofotométricos (Brillo). Así, junto al aumento de turbidez se detectó una fuerte pérdida del brillo (datos no incluidos), muy marcada para los vinos control.

Debe tenerse en cuenta que los coloides formados no se eliminan por centrifugación, salvo que sean de gran tamaño, y así su presencia afecta a la lectura de las absorbancias dando valores mayores de intensidad colorante. Además, parte de los coloides formados corresponden a la aparición de pigmentos más estables algunos de los cuales presentan importantes desplazamientos batocrómicos (hacia el azul) aumentando la longitud de onda dominante ($\Delta\lambda$). Por todo ello, podría decirse que el aumento de intensidad detectado para los vinos control es una consecuencia de la mayor turbidez y no de un aumento real de su intensidad cromática.

Resumiendo los resultados comentados y para concluir se puede decir que, el uso de enzimas pectinolíticas, tanto clarificantes como extractoras, condujo a vinos de característica cromáticas mejores y más estables en el tiempo, ya que presentaron menores pérdidas de rojo, menor aumento de la tonalidad, alcanzaron niveles de brillantez mayores y mucho antes y se mantuvieron menos turbios. Además su intensidad cromática se mantuvo a lo largo de los dos años de almacenamiento en niveles bastante aceptables y superiores a los del vino control.

Por otro lado, no se han detectado importantes diferencias entre los enzimas clarificantes y extractores de color en los parámetros estudiados ni en su estabilidad, comportándose ambos grupos de manera similar, resultado este importante desde el punto de vista económico debido al diferente coste de ambos tipos de enzimas.

Bibliografía

- Bakker, J. y Timberlake, C.F. (1986). The mechanism of color changes in ageing port wine. *Am. J. Enol. Vitic.*, 37: 288-292.
- Berta, P. (1991). L'uso degli enzimi pectolitici nella macerazione pellicolare del Moscato. *Vignevini*, 18(1-2): 37-42.
- Bosso, A. (1992). La macerazione delle bucce nella vinificazione in bianco in presenza di preparati pectolitici. *Vini d'Italia XXXIV* (4): 25-40.
- Brillouet, J.M., Saulnier, L. y Montounet, M. (1990). Les polysaccharides pectiques et les enzymes de dégradation. *Rev. Fr. Oenol.*, 30 (122): 43-54.
- Castino, M. y Ubigli, M. (1979). L'impiego dei preparati pectolitici nella vinificazione in rosso. *Riv. Vitic. Enolog. di Conegliano* 22(2): 89-100.
- Castino, M., Bosso, A. y Giacomella, M. (1990). Elaborazione di vini bianchi con macerazione a freddo e in presenza di enzimi pectolitici. *Vini d'Italia XXXII* (5): 7-20
- Collado-Fernández M, M.L. González-Sanjosé y R. Pino-Navarro. 2000. Evaluation of turbidity: correlation between Kerster turbidimeter and nephelometric turbidimeter. *Food Chem.*, 71: 563-66.
- Di Stefano, R. y González-Sanjosé, M.L. (1991). Evoluzione dei flavani e degli antociani in soluzione modello e in mosto. *Riv. Vitic. Neologia XLIV*, 1: 53-69.
- Gigliotti, A. y Bucelli, P. (1993). Sull'impiego degli enzimi pectolitici nella vinificazione del vino Chianti. *L'Enotecnico*, XXIX (12): 73-80.
- Glories, Y. (1984). The color of red wines. *Conn. Vigne Vin*, 18: 195-217.
- González, L., Pérez-Zúñiga, F.J. & Bravo, F. (1990). Color measurement in fermented beverages and derivatives: wines, beers and brandies. *Alimentaria*, Octubre: 59- 65.
- Grassin C. (1992). Pressing enzymes in the apple industry. *Fruit Processing*, 7.
- Izcara, E. (1996). Efecto del tratamiento pectinolítico sobre la calidad de mostos y vinos rosados. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias. Universidad de Burgos.
- Izcara, E., Revilla, I., Pérez-Magariño, S. y González-SanJosé, M.L. (2001). Efecto del tratamiento pectinolítico sobre la calidad de mostos y vinos rosados. In: *Actas de las XXII Jornadas de Viticultura y Enología de Tierra de Barros*. (Ed. Centro Universitario Sta. Ana.). Badajoz. pp 253-263.
- Lecas, M. (1994). Enzimi per enologia: stato dell'arte e prospettive. *Vignevini*, 21, 33-35.
- Mazza, G. (1995). Anthocyanins in grapes and grape products. *Critical Rev. Food Sci. Nutr.*, 35: 341-371.
- Nicolini, G., Versini, G., Mattivi, F. y Dalla Serra, A. (1994). Glicosidasi in mosti e vini. *Vignevini*, 7/8: 26-32.
- Paronetto, L. (1977). Polifenoli e tecnica enologica. Selepress, Milán.
- Pérez-Magariño, S. (1996). *Incidencia de los enzimas pectinolíticos en la vinificación en blanco*. Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias. Universidad de Burgos.
- Pérez-Magariño, S. y M.L. González-Sanjosé. (2000). Effect of pectolytic enzymes on the composition of white grape musts and wines. *Ital. J. Food Sci.*, 12 (2), 153-62.

Pérez-Magariño, S. y M.L. González-Sanjosé. (2001). Influence of commercial pectolytic preparation on the composition and storage of Albillo white wine. *Int. J. Food Sci. Technol.* 36, 789-796.

Revilla, I. (1999). Efecto de la aplicación d enzimas pectinolíticas clarificantes y extractoras de color, sobre la calidad de vinos tintos. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias. Universidad de Burgos.

Revilla, I. y González-SanJosé, M.L. (1998). Methanol release during fermentation of red grapes treated with pectolytic enzymes. *Food Chem.*, 63 (3): 307-312.

Revilla, I. y M.L. González-Sanjosé. (2001). Evolution during the storage of red wines treated with pectolytic enzymes: new anthocyanin pigment formation. *J. Wine Res.* 12 (3), 183-197.

Robertson, G.L. (1979). The fraction extraction and quantitative determination of pectic substances in grapes and musts. *Am. J. Enol. Vitic.*, 30 (3): 182-186.

Servili, M., Begliomini, A.L., Montedoro, G., Petruccioli, M. y Federici, F. (1992). Utilisation of a yeast pectinase in olive oil extraction and red wine making processes. *J. Sci. Food Agric.*, 58: 253-260.

Singleton, V.L. & Trousdale, E.K. (1992). Anthocyanin-tannin interactions explaining differences in polymeric phenols between white and red wines. *Am. J. Enol. Vitic.*, 42: 63-70.

Sommers, T.C. & Evans, M.E. (1986). Evolution of red wines. I. Ambient influences on color composition during early maturation. *Vitis*, 25: 31.

Sudraud, P. (1958). Interpretation of red wines absorption curves. *Annuals of Technology Agriculture*, 7: 203-208.

Usseglio-Tomasset, L. (1995). *Chimica enologica*. Brescia. AEB.

Valdés-Sánchez, M.E. y Regodón-Mateos, J.A. (1994). Elaboración de tintos en presencia de enzimas pectolíticos: evolución de compuestos polifenólicos. Incidencia de atributos cromáticos. *Alimentaria*, Junio: 63-68.

Zent, J.B. y Inama, S. (1992). Influence of macerating enzymes on the quality and composition of wines obtained from Red Valpolicella wine grapes. *Am. J. Enol. Vitic.* 43 (3): 311.

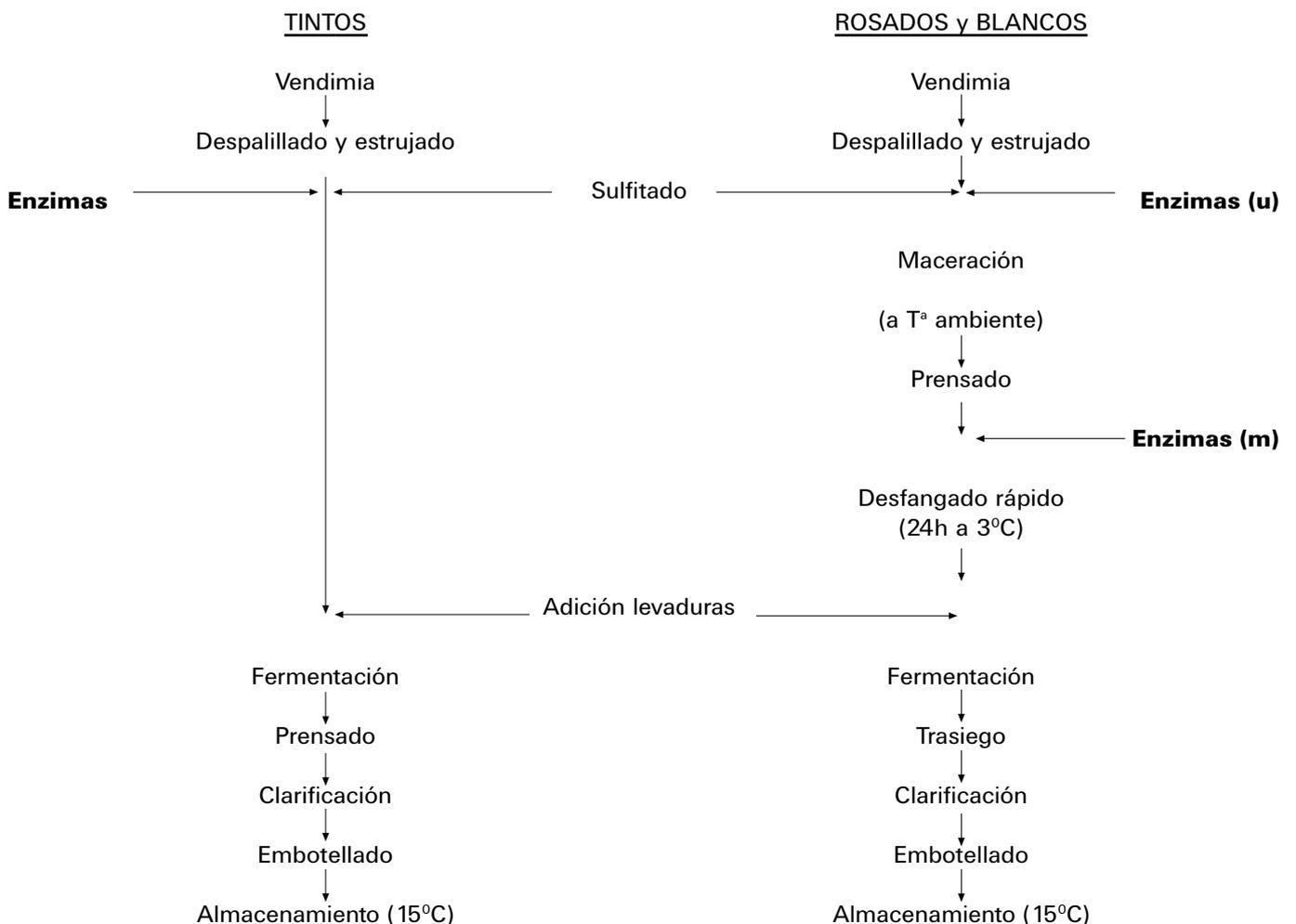


Figura 1: Esquema de elaboración de los mostos y vinos estudiados.

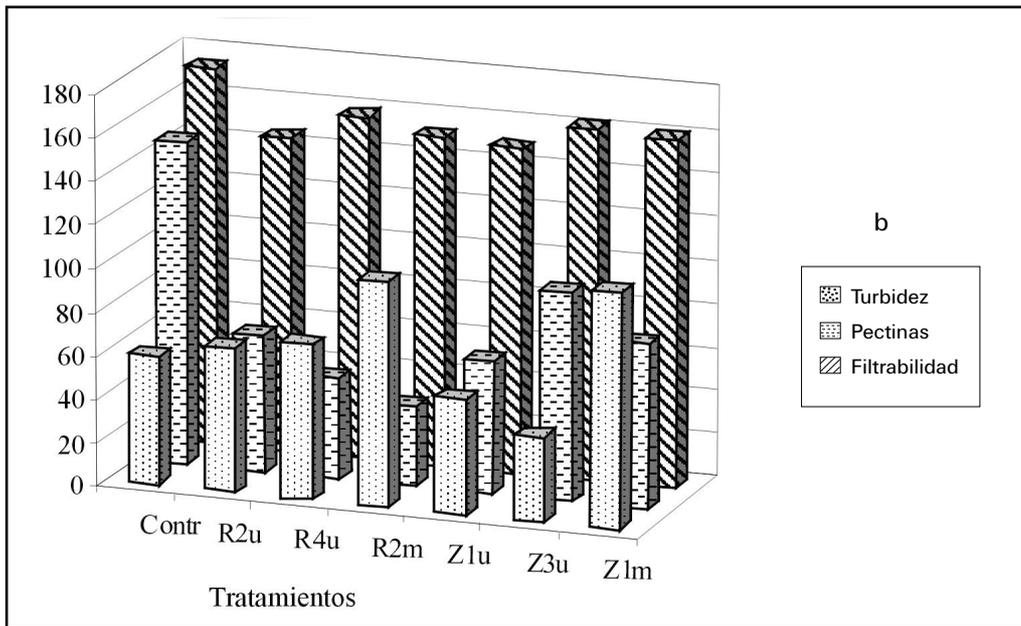
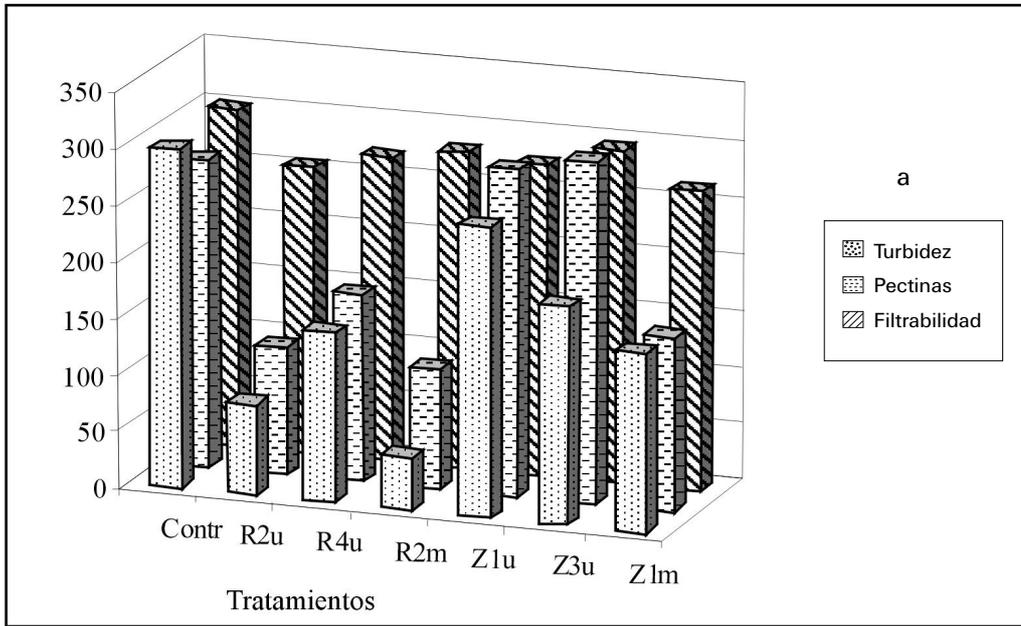


Figura 2. (a) Turbidez (NTU), pectinas (mg/l ácido galacturónico) y filtrabilidad (seg/150 ml) en los mostos blancos; (b) Turbidez (NTU*10), pectinas (mg/l ácido galacturónico) y filtrabilidad (seg/5 ml) en los vinos blancos.

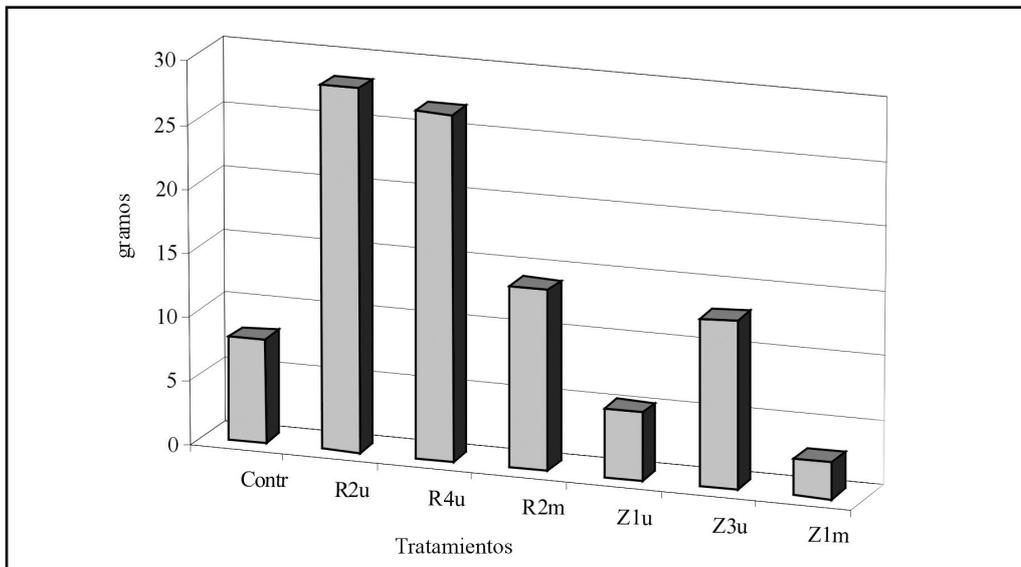


Figura 3. Cantidad de lías formadas en la clarificación de los mostos.

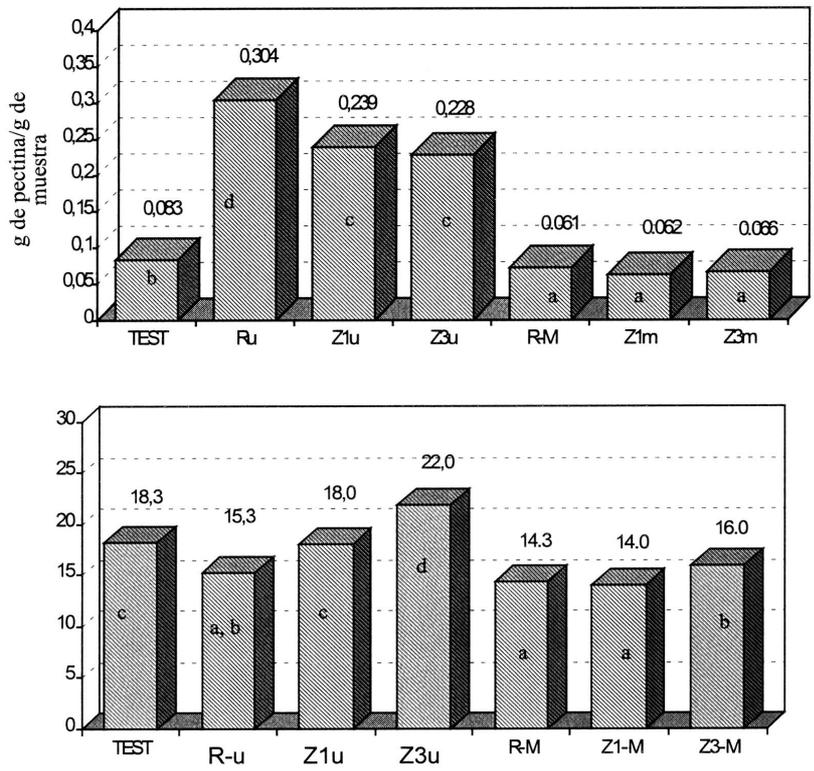


Figura 4. Contenido en pectinas de los mostos rosados y datos de su filtrabilidad (tiempo de filtración de un volumen fijo).

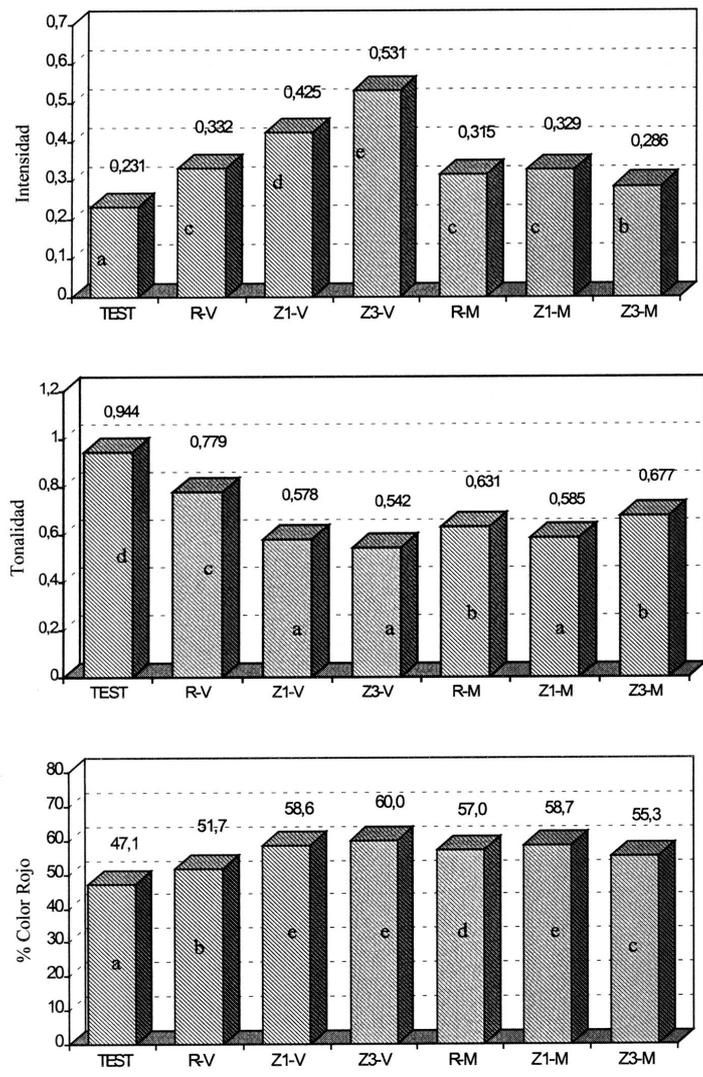


Figura 5. Parámetros cromáticos de los vinos rosados.

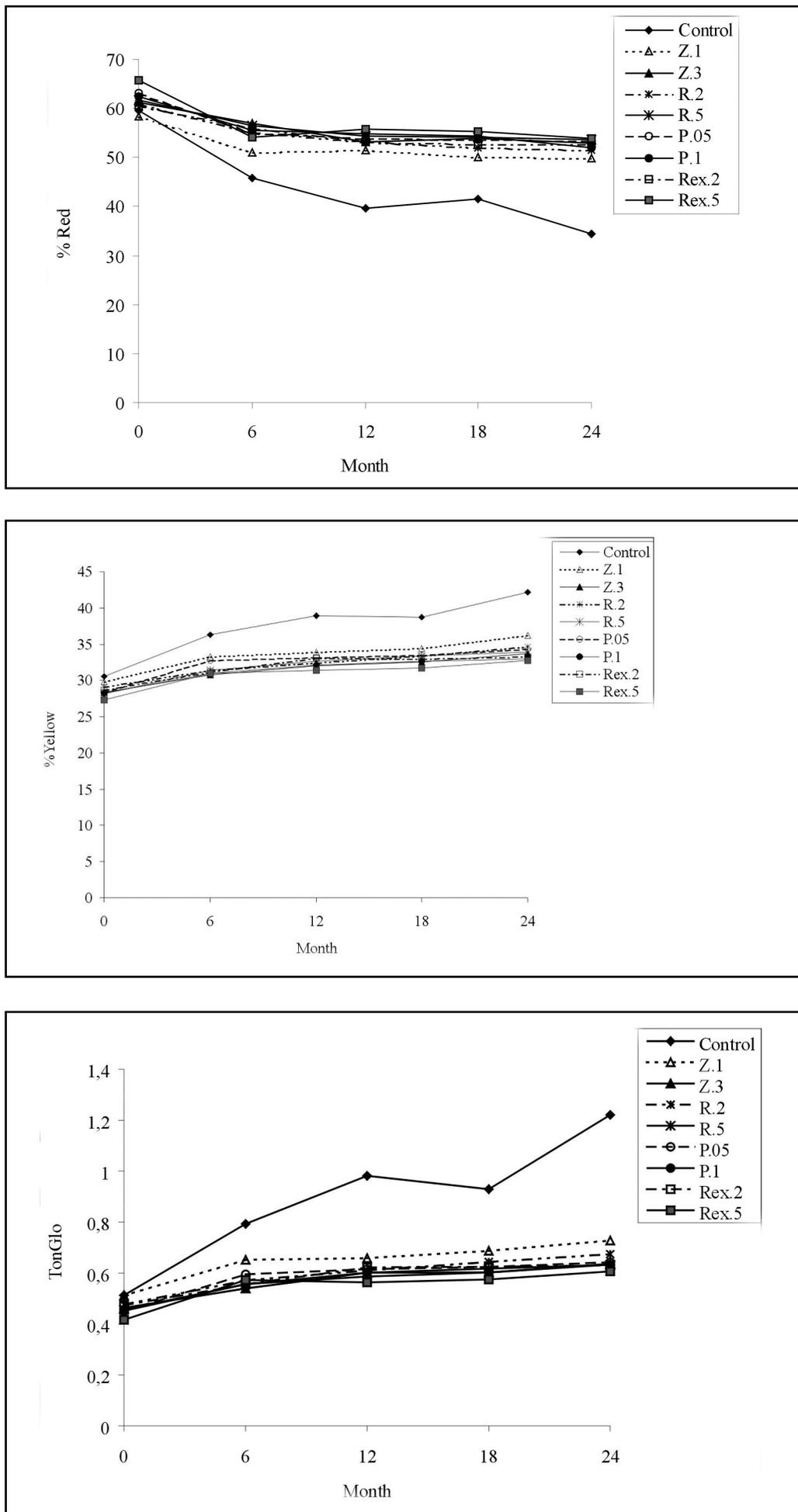


Figura 6. Evolución de los parámetros cromáticos indicados de los vinos tintos.

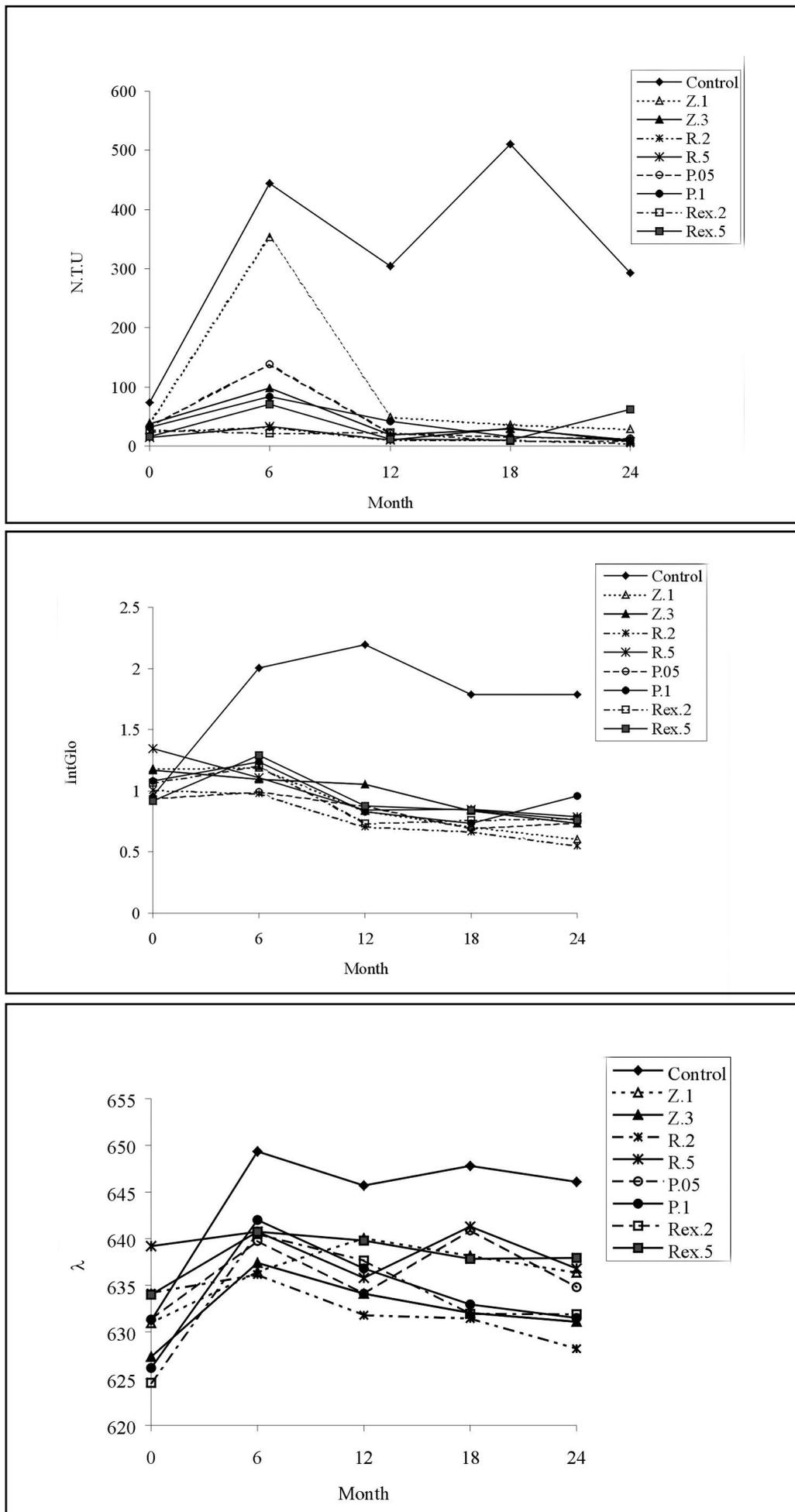


Figura 7. Evolución de los parámetros indicados de los vinos tintos.

Tabla 1. Contenido en fenoles totales y color de los mostos y vinos blancos estudiados.

	Mosto Control	R2u	R4u	R2m	Z1u	Z3u	Z1m
PT	306 a	314 b	322 c	477 h	339 d	352 e	456 f
440 nm	0.0950 a	0.109 a	0.107 a	0.112 b	0.096 a	0.104 a	0.103 a

	Vino Control	R2u	R4u	R2m	Z1u	Z3u	Z1m
PT	306 a	314 b	322 c	477 h	339 d	352 e	456 f
440 nm	0.110 a	0.169 d	0.157 c,d	0.162 c,d	0.136 b	0.204 e	0.153 c

Tabla 2. Datos de los mostos rosados

PARAMETROS	TIPO DE MOSTO						
	TEST	R-u	Z1-u	Z3-u	R-M	Z1-M	Z3-M
Polifenoles Tot. (mg/L)	696.9 a	811.5 b,c	653.3 a	834.7 c	649.3 a	826.4 b,c	768.1 b
Antocianos Tot. (mg/L)	97.7 a	186.8 c	170.3 b	196.0 d	166.6 b	183.3 c	167.9 b
Turbidez (NTU)	326.0 d	>*	>*	>*	93.5 c	82.7 b	61.3 a

* >999 NTU. Fuera del rango del turbidímetro

Tabla 3. Composición fenólica de los vinos rosados y otras características tecnológicas.

PARAMETROS	TIPO DE VINO						
	TEST	R-u	Z1-u	Z3-u	R-M	Z1-M	Z3-M
Polifenoles Tot. (mg/L)	824.8 c	927.8 d	906.3 d	963.7 e	687.5 a	823.9 c	783.2 b
Antocianos Tot. (mg/L)	64.9 a	199.2 e	197.2 d	198.2 d,e	131.0 b	196.6 d	170.8 c
Catequinas (mg/L)	572.7 d	445.0 c	344.8 a	420.1 b	439.4 b,c	341.1 a	352.0 a
Orto-difenoles (mg/L)	393.4 d	345.0 b	371.5 c	391.8 d	290.4 a	296.3 a	290.7 a
Proantocian. (mg/L)	839.5 d	722.4 c	755.0 c	908.5 e	651.7 b	665.7 b	608.4 a
Pectinas Tot. (mg/g de muestra)	0.086 a	0.088 a	0.134 b	0.142 b	0.065 a	0.086 a	0.085 a
Filtrabilidad (s/5 mL)	286 e	258 d	251 c	245 b	251 c	236 a	250 c
Turbidez (NTU)	18.1 e	2.6 a	3.5 b	3.2 b	8.7 d	4.7 c	4.6 c

Tabla 4. Composición fenólica de los vinos tintos.

	1995				1996			
	TP	ACY	Cat	PRO	TP	ACY	Cat	PRO
Control	1875.8 ^b	491.7 ^d	974.0 ^a	1325.7 ^b	1567.5 ^d	490.9 ^c	637.0 ^e	864.4 ^c
Z.1	2072.0 ^c	477.2 ^{c,d}	986.5 ^{a,b}	1341.7 ^b	1461.1 ^c	453.6 ^b	622.6 ^{d,e}	931.0 ^{c,d}
Z.3	2061.9 ^c	492.3 ^d	1152.3 ^{a,b}	1223.7 ^a	1209.1 ^a	389.2 ^a	575.1 ^{b,c}	673.5 ^a
R.2	1741.9 ^a	334.9 ^a	1003.6 ^{a,b}	1241.0 ^a	1413.8 ^b	448.4 ^b	595.0 ^{c,d}	724.3 ^{a,b}
R.5	1860.9 ^b	459.8 ^{b,c}	1189.3 ^{a,b,c}	1322.4 ^b	1618.1 ^e	624.9 ^g	624.1 ^{d,e}	953.5 ^d
P.05	1895.7 ^b	456.2 ^b	1075.7 ^{a,b}	1226.7 ^a	1422.7 ^b	537.2 ^d	547.7 ^b	738.1 ^{a,b}
P.1	2281.4 ^d	642.4 ^g	1570.6 ^d	1469.4 ^c	1546.2 ^d	539.9 ^d	446.1 ^a	787.1 ^b
Rex.2	2137.8 ^c	601.1 ^f	1239.7 ^{b,c}	1379.8 ^b	1497.4 ^c	552.7 ^e	544.5 ^b	861.5 ^c
Rex.5	2328.1 ^d	566.9 ^e	1418.1 ^{c,d}	1591.8 ^d	1619.3 ^e	605.4 ^f	620.0 ^{d,e}	1321.0 ^e

Tabla 5. Cromaticidad de los vinos rosados.

	1995					1996				
	Int	To	% Am	% Rj	% Az	Int	To	% Am	% Rj	% Az
Control	1,316 ^e	0,460 ^f	28,84 ^f	62,70 ^a	8,46 ^{f,g}	0,889 ^d	0,557 ^f	32,32 ^e	58,00 ^a	9,69 ^d
Z.1	1,206 ^c	0,429 ^c	27,76 ^d	64,77 ^e	7,46 ^b	0,877 ^c	0,502 ^b	30,48 ^b	60,66 ^e	8,86 ^{b,c}
Z.3	1,460 ^g	0,405 ^a	26,57 ^a	65,64 ^f	7,79 ^c	0,671 ^a	0,520 ^c	31,35 ^d	60,33 ^d	8,32 ^a
R.2	1,025 ^a	0,436 ^e	28,03 ^e	64,26 ^{c,d}	7,70 ^c	0,815 ^b	0,505 ^b	30,79 ^{b,c}	60,98 ^e	8,23 ^a
R.5	1,259 ^d	0,419 ^b	27,44 ^b	65,52 ^f	7,04 ^a	0,917 ^f	0,530 ^{d,e}	31,60 ^d	59,58 ^{b,c}	8,82 ^b
P.05	1,155 ^b	0,432 ^d	28,04 ^e	64,93 ^e	7,03 ^a	0,875 ^c	0,510 ^b	30,96 ^c	60,73 ^e	8,32 ^a
P.1	1,506 ^h	0,428 ^c	27,46 ^b	64,12 ^c	8,41 ^e	0,904 ^e	0,533 ^e	31,67 ^d	59,38 ^b	8,95 ^c
Rex.2	1,326 ^e	0,436 ^e	27,76 ^{c,d}	63,72 ^b	8,52 ^g	0,948 ^g	0,525 ^{c,d}	31,37 ^d	59,78 ^c	8,85 ^{b,c}
Rex.5	1,411 ^f	0,429	27,63 ^c	64,35 ^d	8,01 ^d	0,973 ^h	0,474 ^a	29,49 ^a	62,23 ^f	8,29 ^a

Tabla 6. Datos tecnológicos de los vinos rosados.

	1995				1996			
	Turbidez (NTU)	Filtración (seg)	Metanol (g/l)	Pectinas (g/l)	Turbidez (NTU)	Filtración (seg)	Metanol (g/l)	Pectinas (g/l)
Control	133,0 ^g	340 ^d	20,62 ^a	348,1 ^c	73,1 ⁱ	472 ^c	58,66 ^{a,b}	276,1 ^c
Z.1	74,0 ^f	292 ^c	27,65 ^a	409,1 ^{c,d}	39,6 ^h	445 ^{a,b}	54,55 ^a	424,2 ^e
Z.3	11,4 ^c	248 ^{a,b}	43,65 ^b	348,6 ^c	38,1 ^g	439 ^a	48,07 ^a	393,6 ^{d,e}
R.2	6,6 ^a	277 ^{b,c}	101,16 ^{d,e}	244,7 ^d	24,4 ^c	456 ^{b,c}	99,90 ^e	279,0 ^c
R.5	7,2 ^{a,b}	251 ^{a,b}	110,72 ^e	140,4 ^a	14,5 ^a	482 ^c	120,73 ^f	207,7 ^b
P.05	20,4 ^e	248 ^{a,b}	61,72 ^c	439,8 ^d	32,8 ^f	469 ^c	80,30 ^{c,d}	377,7 ^{d,e}
P.1	20,5 ^e	271 ^{a,b,c}	93,73 ^d	452,9 ^d	31,5 ^e	528 ^d	68,81 ^{b,c}	355,8 ^d
Rex.2	12,8 ^d	254 ^{a,b}	128,16 ^f	160,3 ^a	27,9 ^d	487 ^c	83,72 ^{d,e}	248,8 ^{b,c}
Rex.5	8,5 ^b	246 ^a	165,94 ^g	167,9 ^a	15,8 ^b	445 ^{a,b}	97,96 ^e	142,4 ^a