

**UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ DE ELCHE  
ESCUELA POLITÉCNICA SUPERIOR DE ORIHUELA**

**Máster Universitario Oficial en Viticultura y Enología**



**ELABORACIÓN DE VINOS  
NATURALMENTE DULCES DE MALVASÍA.  
DIFERENCIAS ENTRE DISTINTAS  
TÉCNICAS DE SOBREMADURACIÓN**

**TRABAJO FIN DE MÁSTER**

**AUTOR:**

**JUAN JOSÉ PAJARES LEÓN**

**DIRECTORES:**

NURIA MARTÍ BRUÑA

DAVID BERNARDO LÓPEZ LLUCH

LUIS JAVIER PÉREZ PRIETO

**Junio 2016**

# MÁSTER OFICIAL EN VITICULTURA Y ENOLOGÍA

## REFERENCIAS DEL TRABAJO FIN DE MÁSTER

Identificaciones:

**Autor:** Juan José Pajares León

**Título:** Elaboración de vinos naturalmente dulces de Malvasía. Diferencias ente distintas técnicas de sobremaduración

**Director/es del TFM:** Nuria Martí Bruña, David Bernardo López Lluch y Luis Javier Pérez Prieto

**Año:** 2016

**Tipo de Trabajo:** Experimental

**Palabras claves:** Viña, maduración de la uva, secado postcosecha, compuestos volátiles, vinos dulces, levaduras, fermentación.

**Keywords:** Vineyard, postharvest drying, volatile compounds, sweet wines, yeast, fermentation

**Nº citas bibliográficas:** 72

**Nº de tablas:** 14

**Nº de imágenes:** 89

**Nº de gráficos:** 17

**Nº de anejos:** 9

**Resumen:** El objetivo principal de este Trabajo ha sido estudiar las posibles diferencias entre dos técnicas de sobremaduración de uvas, variedad Malvasía, por un lado efectuando una vendimia temprana y pasificando esas uvas en almacén, y, por otro lado, buscando una sobremaduración de las bayas en la cepa, realizando posteriormente una vendimia tardía. Esas uvas se vinificaron y se analizaron los vinos obtenidos, comprobando que existen diferencias importantes tanto durante la vinificación, en parámetros como la acidez total, acidez volátil, y ph, así como en el resultado final, con una mayor cantidad total de compuestos volátiles en los vinos procedentes de las uvas pasificadas en almacén.

**Abstract:** In this study, the main goal has been to analyse the possible differences between two techniques based on Malvasia grapes over-ripening by early harvesting and leaving the grapes to dry in a warehouse on the one hand, and on the other hand by letting the berries overripe in the vines and harvesting them later. Wine was then made and analysed so as to check if there were important differences not only in winemaking but in parameters such as total acidity, volatile acidity, and pH and in the final result as well. The results showed a higher quantity in volatile compounds in wines coming from overripe grapes in the warehouse.



## **AGRADECIMIENTOS**

En primer lugar quiero dar las gracias a Luis Javier Pérez, enólogo de Bodegas del Rosario, compañero y amigo. Su amplia experiencia, sus conocimientos, su ayuda permanente y sus indicaciones guiándome han sido imprescindibles para que este Trabajo saliera adelante.

Gracias a Nuria Martí por apoyar desde el principio la propuesta de este Trabajo, por su colaboración aportando medios materiales y recomendaciones técnicas, y por transmitirme en sus clases la pasión que siente por el mundo del vino.

A David Bernardo López-Lluch, de cuyo fantástico curso de vinos de Francia, surgió la idea de hacer estos vinos, por sus recomendaciones y sugerencias, y por hacer una experiencia de aprendizaje emocionante cada una de sus clases.

A Rafael Martínez Font por atender mis consultas, por su información sobre fenología de la vid y por las facilidades dadas para finalizar con éxito este Trabajo.

A Concepción Paredes del Departamento de Agroquímica de la UMH, por su ayuda inestimable en la interpretación de los resultados.

A Juan José Ruiz, por su información sobre la Malvasía blanca y por sus palabras de apoyo a este proyecto.

A Luis Noguera y Ángel Antonio Carbonell del departamento de Tecnología Agroalimentaria de la UMH, por su importante colaboración realizando los análisis de compuestos volátiles de mis vinos, y por su disposición a ayudarme en cuantas dudas me surgieron.

A Salud Vegara, del Instituto de Biología Molecular de Elche por su ayuda con la preparación de las muestras y con los análisis de azúcares y acidez de mis vinos.

A María Gomariz por brindarme de manera incondicional su colaboración y ayuda, aportando su experiencia, sentido del humor y ánimos en los momentos de mayor dificultad.

A Desirée por contagiarme su energía, vitalidad y optimismo, por haber estado siempre a mi lado, incluso cuando estaba tan lejos, y, sobre todo, por ser mi amiga.

A mis compañeros de Bodegas del Rosario, Tonino, Alfonso, Miguel Ángel y Lola, porque todos, en algún momento, me brindaron su ayuda, así como a Diego, compañero del Máster.

A Bodegas del Rosario, especialmente a su gerente Paco Puerta, porque su colaboración y predisposición desde el primer momento fueron fundamentales.

A Ramón del Río y sus hijos Juan Ramón y Jose, viticultores propietarios del viñedo de Malvasía con el que se hizo este Trabajo, porque, además de la uva, pusieron a mi disposición de manera desinteresada, todos los medios materiales necesarios, además de su trabajo, su tiempo, y su sabiduría. Sin ellos, simplemente este Trabajo no se habría hecho.

A mi madre, orgullosa de verme superar este reto, y a mi padre, al que tanto echo de menos y que me contagió su interés por el mundo del vino.

Y muy especialmente a Juana, mi mujer, por aguantarme, apoyarme y por creer en mí desde el principio, y a mis hijos Juan Carlos y Pablo, la alegría de mi vida. Ellos tres son los que dan sentido a todo.

## ÍNDICE:

<b>1. Introducción</b>	01
<b>1.1 Vinos dulces</b>	01
1.1.1 Vinos dulces de uvas pasificadas	03
1.1.1.1 Vinos Pedro Ximénez	03
1.1.1.2 Vino tostado	04
1.1.1.3 Vino supurado	05
1.1.1.4 Vinos Passito	06
1.1.1.5 Vin Santo	07
1.1.1.6 Recioto	08
1.1.1.7 Vinos de paja	08
1.1.2 Vinos dulces fortificados	09
1.1.3 Vinos de hielo	12
1.1.4 Vinos de podredumbre noble	13
<b>1.2 Proceso de secado de las uvas</b>	15
1.2.1 Secado tradicional al sol	15
1.2.1.1 Secado de las uvas al sol sin recubrimiento	15
1.2.1.1 Secado de las uvas al sol con recubrimiento	17
1.2.2 Secado a la sombra	18
1.2.3 Secaderos solares	18
1.2.3.1 Secaderos solares de tipo directo	19
1.2.3.2 Secaderos solares de tipo indirecto	20
1.2.3.3 Secaderos solares mixtos	21
1.2.4 Secado en recintos cubiertos	21
1.2.5 Secado en cámara	22
<b>1.3 Cambios físicos y químicos en las uvas pasificadas</b>	23

<b>1.4 Biodiversidad de levaduras en mostos con alta concentración en azúcares</b>	24
<b>1.5 Compuestos aromáticos</b>	27
<b>1.6 Micotoxinas en vinos</b>	31
<b>1.7 La vid Malvasía. Características y fenología.</b>	34
<b>1.7.1 Origen y cultivo de la Malvasía</b>	34
<b>1.7.2 Malvasía blanca. Características ampelográficas</b>	39
<b>1.7.3 Fenología de la Malvasía estudiada</b>	41
<b>2. Objetivos</b>	49
<b>3. Material y métodos</b>	50
<b>3.1 Tratamientos y diseño experimental</b>	50
<b>3.2 Evaluación de parámetros agronómicos</b>	54
<b>3.3 Control del grado de maduración</b>	54
<b>3.4 Vinificación</b>	55
3.4.1 Procesado de la uva	56
3.4.2 Adición de SO <sub>2</sub>	57
3.4.3 Utilización de enzimas enológicas	57
3.4.4 Desfangado y encubado	58
3.4.5 Fermentación	58
3.4.6 Parada de fermentación y trasiegos	60
3.4.7 Corrección de SO <sub>2</sub>	61
3.4.8 Filtrado y embotellado	62
<b>3.5 Determinación de compuestos por cromatografía líquida en mostos y vinos</b>	63
3.5.1 Azúcares y ácidos orgánicos	63
<b>3.6 Determinación de la fracción aromática del vino</b>	64

<b>3.7 Determinación de sulfuroso libre y total</b>	64
<b>3.8 Determinación de la acidez volátil</b>	66
<b>3.9 Determinación de Nitrógeno Fácilmente Asimilable (NFA)</b>	69
<b>3.10 Determinación de azúcares reductores</b>	70
<b>3.11 Determinación de Ocratoxina A (OTA)</b>	70
<b>3.12 Evaluación sensorial</b>	70
<b>4. Resultados y discusión</b>	72
<b>4.1 Control de sobremaduración de la uva</b>	72
<b>4.2 Vinificación</b>	74
4.2.1 Evaluación de parámetros enológicos	74
<b>4.3 Evolución de los mostos y vinos</b>	79
4.3.1 Ácidos	79
4.3.2 Azúcares	86
4.3.3 Alcohol	89
4.3.4 Dióxido de azufre (SO <sub>2</sub> )	90
4.3.5 Compuestos volátiles	91
4.3.6 OTA en vinos	104
<b>4.4 Análisis sensorial</b>	105
<b>5. Conclusiones</b>	109
<b>6. Bibliografía</b>	112
<b>7. Anejos</b>	121

# 1 INTRODUCCIÓN

---

## 1.1 VINOS DULCES

Desde los orígenes de la historia del vino se ha perseguido que este fuera lo más parecido al fruto del cual procede, y también que no fuera un producto perecedero. La propia fermentación alcohólica es una técnica que, provocando una serie de transformaciones, permite conservar el fruto de la vid y prolongar su vida para poder consumirse más adelante. Pero el vino así obtenido tampoco era lo suficientemente imperecedero, razón por la cual a lo largo de los siglos se desarrollaron diversos métodos de conservación, estando entre estos las altas concentraciones de azúcares y también los elevados contenidos en alcohol, factores de estabilidad de los vinos, por lo que desde muy antiguo los vinos dulces, licorosos y generosos se elaboraron como solución a este problema.



Imagen 1. Elaboración de vino por los antiguos egipcios. (Fuente: vinotea.com)

Al margen de las clasificaciones legales, los vinos dulces se pueden agrupar, según su origen, en dos grandes categorías: los vinos dulces mediterráneos, producidos en las comarcas ribereñas de este mar o en zonas más distantes pero con su influencia cultural, como los de Madeira, Canarias y Oporto, donde los azúcares y el alcohol se consiguen por una gran maduración de la uva posibilitada por un clima cálido y, a veces, además por una pasificación parcial de la vendimia producida por el sol y también con la ocasional adición de mostos ricos de azúcar o incluso también de alcohol vínico. En general son vinos que se elaboran a partir de mostos muy azucarados, donde se interrumpe la fermentación con la adición de alcohol vínico, resultando unos vinos dulces, cuyos azúcares residuales proceden mayoritariamente del mosto principal y a veces también de mostos añadidos. Son vinos de mezcla, donde el sol es el factor fundamental de su elaboración y que suelen madurar durante largo tiempo en toneles o botas de unos 500 litros de capacidad,

construidos en madera de roble o de castaño y de gran antigüedad, donde existe poco aporte de madera y un apreciable régimen de oxidación. Pertenecen a esta área geográfica las mistelas, los vinos generosos aunque no sean dulces, los vinos licorosos y sus mezclas como los vinos licorosos generosos. En España la mayoría de los vinos pertenecen a esta categoría.

La segunda categoría son los vinos dulces del centro de Europa, es decir los producidos fuera de la influencia mediterránea. Son vinos donde el sol no tiene la intensidad para hacer madurar o pasificar perfectamente las vendimias, por lo que su riqueza en alcohol y los azúcares residuales que contiene, proceden de una pasificación en locales cerrados y al abrigo de la intemperie, o bien por una desecación parcial de los granos de uva producida por la *Botrytis cinerea* en determinadas condiciones ambientales, conocida como podredumbre noble. Estos vinos no reciben adición alguna de azúcares o alcohol, su envejecimiento se realiza más bien en botella, aunque pasen por una etapa de ligera oxidación previa en barricas de roble de menor capacidad y sus caracteres sensoriales son muy diferentes al del otro grupo de vinos dulces. Estos vinos son los auténticos vinos dulces naturales o también los llamados de vendimia tardía, que para ser exactos deberían denominarse como “vinos naturalmente dulces”. (Hidalgo J., 2003)

Para diferenciarlos podemos agruparlos de la siguiente manera:

- **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.

- **Vinos dulces naturales (VDN):** Proviene 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.

- **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.

Dependiendo de las técnicas de vinificación empleadas se obtienen diferentes vinos dulces:

### **1.1.1 Vinos dulces de uvas pasificadas**

#### **1.1.1.1 Vinos Pedro Ximénez**

Estos vinos dulces se elaboran en las Denominaciones de Origen Montilla-Moriles y Jerez-Xérès-Sherry. Se obtienen a partir de uvas del mismo nombre, que se someten al proceso tradicional de pasificación al sol o "asoleo" hasta lograr una intensa pasificación del fruto. Las uvas sufren una fuerte deshidratación para posteriormente pasar a prensas verticales, donde se obtiene 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.

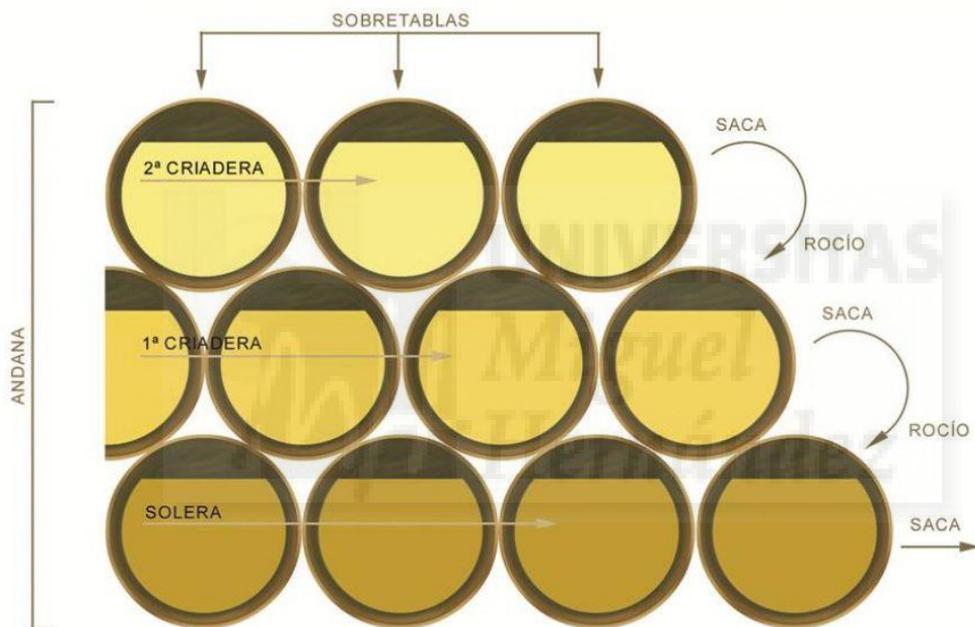


Imagen 2. Proceso de elaboración con el sistema de criaderas y solera. (Fuente: “vinoybrandydelpuerto.com”)

### 1.1.1.2 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.



Imagen 3. Envejecimiento en madera de roble del vino tostado. (Fuente: C.R.D.O: Ribeiro)

### 1.1.1.3 Vino supurado

El supurado se trata de un vino dulce de baja graduación alcohólica entre 9 y 10° que se elaboraba de forma local y tradicional en algunas zonas de La Rioja.

En sus orígenes, antes de la industrialización de la viticultura y la enología, los campesinos recorrían las viñas antes de las vendimias recolectando las mejores uvas para su propio consumo. Estas uvas se conservaban en los altos de las casas, colgadas en los lugares más sanos y ventilados. Allí dormían todo el invierno, supurando, concentrando sus jugos dando lugar a su pasificación.

Una vez terminado el invierno y cuando la pasificación estaba avanzada, las uvas bien conservadas eran prensadas obteniendo un mosto muy dulce. A este excelente zumo todavía le quedaba el paso por las bodegas y calaos, allí el mosto sufría el proceso de la fermentación y se convertía en vino.

El Supurado de Rioja cuenta con unas fermentaciones muy largas, de meses y, en la mayoría de los casos, inacabadas, lo que daba lugar a ver como los corchos y tapones saltaban y las botellas se sobaban, era entonces cuando se decía que el vino dulce contaba con las mejores características para su consumo.

Tras la primavera y algún trasiego, el supurado estaba listo para su consumo.

Antiguamente se servía como desayuno, aperitivo o postre, además y como curiosidad, se le daba a enfermos y ancianos, ya que también se caracterizaba por tener efectos beneficiosos.

#### 1.1.1.4 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%. 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 %.

#### 1.1.1.5 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*).

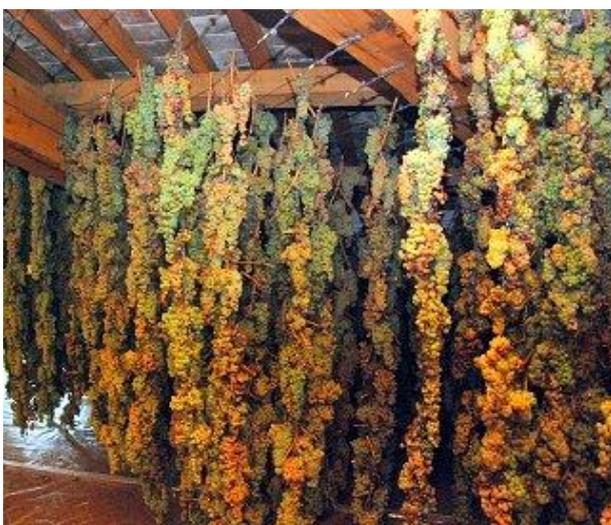


Imagen 4. Uvas colgadas deshidratándose durante 3-4 meses.  
(Fuente: “italyin30seconds.com”)

#### 1.1.1.6 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*).

#### 1.1.1.7 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, aunque también se usan, en cantidades menos significativas, las castas tintas Poulsard y Trousseau. 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.



Imagen 5. Uvas pasificándose sobre lechos de paja según el método tradicional (Fuente: "maigremont.com")

## 1.1.2 Vinos dulces fortificados

### 1.1.2.1 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 bodega, 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*).



Imagen 6. Diferentes tipos de Oporto. (Fuente: “vinosyalcoholes.com”)

#### 1.1.2.2 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).

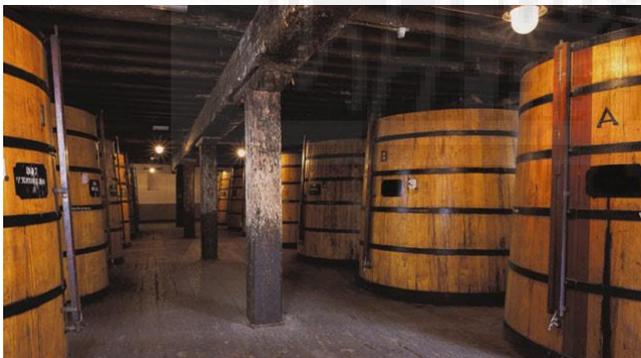


Imagen 7. Etapa de “estufagem” en la elaboración de vinos de Madeira. (Fuente: madeirawineguide.com)

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).

### 1.1.3 Vinos de hielo

Este tipo de vinos se obtienen a partir de uvas congeladas en la propia cepa, prensándose posteriormente también en estado congelado. Se elaboran casi de forma exclusiva en Alemania y Austria, (Eiswein) y en Canadá, (Icewine) porque se requieren unas condiciones naturales muy concretas, 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  $-7^{\circ}\text{C}$  o inferiores y su concentración de azúcares, medida en grados Oechsle, debe ser de  $125^{\circ}\text{Oe}$ . En el caso de las normas canadienses, se establece que las uvas deben congelarse naturalmente en la vid a unas temperaturas de  $-8^{\circ}\text{C}$  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  $35^{\circ}\text{Brix}$  y hasta aproximadamente  $42^{\circ}\text{Brix}$  (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



Imagen 8. Vendimia de uvas congeladas en Canadá. (Fuente: "vinopack.es")

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.

#### **1.1.4 Vinos de podredumbre noble**

La *Botrytis cinerea* es un hongo que se puede desarrollar sobre los granos de uva, pudiendo producir en la mayor parte de las ocasiones una enfermedad del viñedo conocida como podredumbre gris, que reduce en gran medida la calidad de la vendimia, llegando incluso en estados avanzados a imposibilitar su vinificación; aunque cuando se desarrolla bajo determinadas condiciones climatológicas 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, puede entonces inducir a una pasificación parcial de las uvas conocida como podredumbre noble, a partir de la cual se pueden elaborar determinados vinos dulces. 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 cinerea* 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. Durante el desarrollo de la *Botrytis cinerea* se consume del orden del 40 al 50% de los azúcares de la uva, pero la concentración por evaporación de agua hace que finalmente se obtengan valores entre 250-350 gramos/litro de azúcares reductores pudiendo llegar hasta los 400 gramos/litro. Se forman cantidades importantes de glicerina, de 5 a 7 gramos/litro, y de ácido glucónico, de 1 a 2 gramos/litro, procedente de la oxidación de la glucosa. El desarrollo de la *Botrytis cinerea* produce también una disminución de la acidez cercana al 70%, con un aumento del pH de unas 0,2 unidades, así como el contenido en materias nitrogenadas y vitaminas como la tiamina. El hongo forma una enzima oxidante, la lacasa, que oxida numerosos compuestos fenólicos, transformándose en quinonas de color marrón. Durante la fermentación se forma una cantidad importante de ácido acético que puede superar 1 o 2 gramos/litro, y se produce una modificación de los compuestos aromáticos, con un importante descenso de los aromas varietales, pero por otro lado aparecen sustancias aromáticas propias de la podredumbre noble (furfural, sotolón, benzaldehído...), que comunican al vino aromas tostados, a frutos secos, cera, miel...

La *Botrytis cinerea* debe desarrollarse sólo al finalizar el proceso de maduración, desecándose los granos de forma progresiva, incluso dentro de un mismo racimo, por lo que su vendimia ha de ser manual y en muchas ocasiones implica hacer sucesivas pasadas por el viñedo seleccionando los granos que se encuentran en el estado adecuado. Ya en bodega los mostos se sulfitan para impedir el desarrollo de contaminaciones microbianas. La fermentación se lleva a cabo tradicionalmente en barricas de roble, 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.



Imagen 9. Uvas blancas atacadas por *Botrytis*  
(Fuente: "urbinavinos.com")

## 1.2 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*).

Hay muchos tipos de vinos secos y dulces que 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 utilizan también sistemas de secado alternativos, como en 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*).

### 1.2.1 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. 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.

#### 1.2.1.1 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 (*Serratos et al., 2008*).

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 de toxinas, como la ocratoxina A, que deterioran la uva y suponen un riesgo



Imagen 10. Pasificación de la uva mediante "asoleo". (Fuente: "aprenderdevino.es")

para la salud humana. 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.

#### 1.2.1.2 Secado de las uvas al sol con recubrimiento

El secado de las uvas al sol puede también realizarse cubriendo los racimos con plásticos más o menos 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*).



Imagen 11. Secado al sol con recubrimiento. (Fuente: "salarespueblo.com")

### 1.2.2 Secado a la sombra

El secado de las uvas a la sombra se realiza en unas estructuras construidas para este fin, orientadas normalmente de norte a sur y recubiertas por una techumbre 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*).



Imágenes 12 y 13. Secado a la sombra con alambres (Bodegas Cuello Roca) y sobre bandejas (viagourmet.com)

### 1.2.3 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*).

### 1.2.3.1 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*).

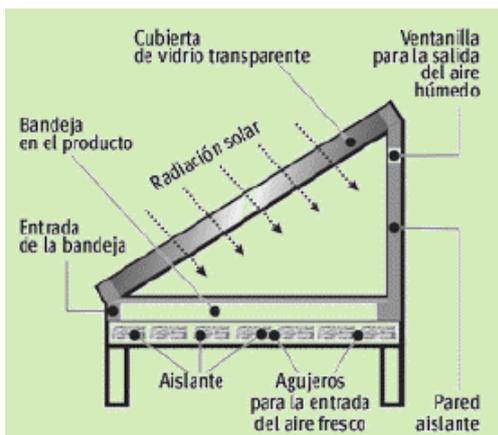


Imagen 14. Secadero solar. Fuente: "cubasolar.cu"

### 1.2.3.2 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-Sebail et al., 2002*).

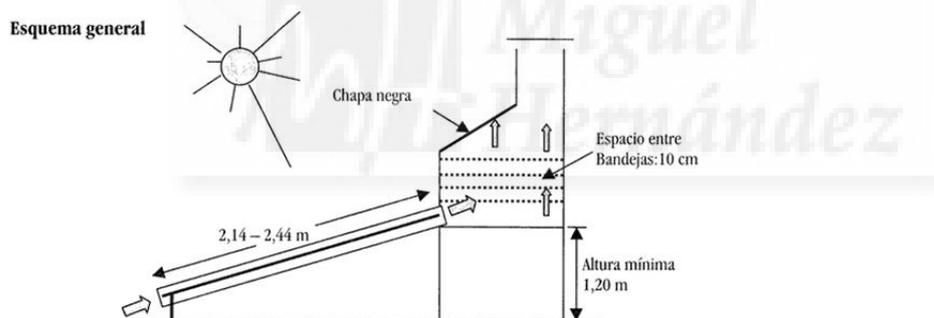


Imagen 15. Secadero solar indirecto. (Fuente: "bioculturasanluis.com")

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.

### 1.2.3.3 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.

### 1.2.4 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, esteras, 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.



Imágenes 16, 17, 18 y 19. Secado en recintos cubiertos de distintas uvas. (Fuentes: Propias, "dionisvins.fr", "lariojacapital.com")

Hernández

### 1.2.5 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*).

### 1.3 CAMBIOS FÍSICOS Y QUÍMICOS EN LAS UVAS PASIFICADAS

Las uvas pasificadas sufren una serie de importantes transformaciones. En cuanto a los cambios físicos, se observa que la piel de la uva se arruga progresivamente, se pardea, pierde elasticidad y se hace frágil debido a la exposición directa al sol que conlleva una pérdida de agua de hasta el 50%, y el denominado “escobajo o raspón” también se oscurece y se seca. Las uvas desecadas contienen poco zumo, de modo que el agotamiento completo sólo se consigue utilizando métodos enérgicos de prensado. A medida que el grado de asoleo es mayor, el color de los mostos cambia desde el amarillo al pardo rojizo, la densidad y viscosidad aumentan y el mosto que se obtiene es cada vez más dulce y menos ácido. El olor de estos mostos es poco perceptible por vía nasal; sin embargo, por vía retronasal se aprecian olores a pastel, caramelo y heno seco. En boca resultan dulces y suaves. En cuanto a los cambios químicos, la principal consecuencia de la pérdida de agua del grano de uva es el aumento de la concentración de las sustancias disueltas en el mosto que se obtiene de las uvas maduras al inicio del asoleo.



Imagen 20. Uva Malvasia pasificándose en almacén. (Fuente propia)

Según *Franco et al., (2004)*, los valores de la acidez titulable y el pH aumentan en la misma proporción que disminuye el contenido en agua. Los componentes del mosto de uva pasificada se clasifican según su importancia cuantitativa y enológica. Así pues, la pasificación produce un aumento de las concentraciones de los compuestos químicos mayoritarios de la uva, azúcares y ácidos, aunque en proporciones diferentes, ya que los ácidos pueden incluso disminuir su concentración. Este diferente comportamiento se puede explicar por las transformaciones que los ácidos experimentan en función de la actividad enzimática de la uva, que a su vez depende de su estado fisiológico y de la temperatura. Está descrito que la acidez aumenta en

menor medida que los azúcares, debido a la pérdida de agua y al consumo de ácido málico (Flanzy, 2000; Bellincontro et al., 2004), que presenta contenidos menores de 1 g/L en el mosto de uva madura Pedro Ximénez (López et al., 1988). El aumento de pH y de la capacidad tampón (Peinado et al., 2009) de los mostos sugiere un aumento en el porcentaje de salificación del ácido tartárico (Moreno y Peinado, 2010).

#### **1.4 BIODIVERSIDAD DE LEVADURAS EN MOSTOS DE UVA CON ALTA CONCENTRACIÓN EN AZÚCARES**

La composición microbiana de levaduras en el mosto de uva contribuye significativamente en las características organolépticas del vino producido debido a su actividad metabólica. La biodiversidad de especies de levaduras de mostos de uva se ha descrito desde hace tiempo, y éstas pertenecen principalmente a los géneros *Hanseniaspora* (forma anamórfica *Kloeckera*), *Pichia*, *Candida*, *Metschnikowia*, *Kluyveromyces*, *Saccharomyces*, y ocasionalmente, también pueden encontrarse especies de otros géneros como *Zygosaccharomyces*, *Saccharomycodes*, *Torulaspora*, *Dekkera* y *Schizosaccharomyces* (Fleet, 2003; 2008). Estas levaduras proceden de los granos de uva y del ambiente de la bodega. Se sabe que muchas de las especies de las no-*Saccharomyces*, productoras de bajo grado alcohólico, (especialmente de *Hanseniaspora*, *Candida*, *Pichia* y *Metschnikowia*) inician espontáneamente la fermentación alcohólica del mosto de uva, pero pronto son reemplazadas por el crecimiento de *S. cerevisiae*, levadura más tolerante al etanol, de tal manera que predomina desde la mitad hasta el final del proceso, frecuentemente queda ésta como única especie (Fleet, 1998). Sin embargo, existen pocos estudios sobre las poblaciones de levaduras en mostos con elevado contenido en azúcares. Se ha descrito que en uvas pasificadas al sol de la variedad Pedro Ximénez (DOP Montilla-Moriles) el contenido de mohos y bacterias lácticas y acéticas de los mostos muy azucarados depende del estado sanitario de la uva y de las condiciones de pasificación; aunque, una vez finalizada la fermentación los mohos desaparecen y el número de bacterias se reduce significativamente (García-Martínez et al., 2008).

*S. cerevisiae* es un hongo sacarófilo y en su ambiente natural se encuentra con concentraciones elevadas de azúcares (Erasmus et al., 2003). Para la producción

de vinos dulces, la concentración de azúcar puede ser superior al 50% (p/v). Numerosas cepas de *S. cerevisiae* poseen una apreciable capacidad para resistir al estrés osmótico y producir etanol a partir de la fermentación de mostos de uva con concentraciones elevadas de azúcar (*Malacrinò et al., 2005*). Urso y colaboradores (2008) han investigado la biodiversidad y dinámica de levaduras por métodos moleculares durante la producción de vino dulce obtenido a partir de uvas pasas. Sobre las uvas se destacó una gran biodiversidad de mohos, mientras que las levaduras llegaron a ser importantes solamente en los mostos, aislándose no-*Saccharomyces* (*Hanseniaspora*, *Metschnikowia*, *Pichia*, *Candida*, *Torulaspota* y *Debaryomyces*) y *Saccharomyces cerevisiae*. Esta última especie fue la que condujo y finalizó la fermentación y contribuyó a las características finales de los vinos dulces obtenidos. Recientemente, *Tofalo y colaboradores (2009)* han encontrado distintas especies de levaduras osmotolerantes como *Candida zemplinina*, *C. apicola* y *Zygosaccharomyces bailii* a través de todo el proceso de fermentación de mostos con elevado contenido en azúcares, mientras que *S. cerevisiae* prevaleció después de los 15 días de fermentación.

Varios investigadores han sugerido que ciertas especies de levaduras no *Saccharomyces*, tales como *Kloeckera apiculata*, *C. stellata* y *T. delbrueckii*, podrían tener mejor capacidad que *S. cerevisiae* para crecer durante la fermentación de mostos con elevada concentraciones de azúcares y mejorar las características de los vinos dulces (*Bely et al., 2008; Tofalo et al., 2009*).

*Hohmann y Mager (2003)* definieron el estrés en su libro titulado “Respuestas de las levaduras al estrés” de la forma siguiente: “las condiciones ambientales que amenazan a la supervivencia de una célula o al menos le impiden funcionar óptimamente son comúnmente denominadas estrés celular”. Muchos factores exógenos pueden ser peligrosos para las células como cambios de temperatura, presión osmótica, limitación nutritiva, condiciones oxidativas y presencia de productos químicos, como metales pesados, sales, herbicidas, compuestos tóxicos o subproductos metabólicos. Durante la producción de vino, las células de levadura están afectadas por varias condiciones que son adversas al crecimiento y a la viabilidad, como elevada concentración de azúcar o de etanol, por lo que las levaduras

deberían responder a estas condiciones, pues de lo contrario la fermentación alcohólica se puede afectar negativamente. Por lo tanto, una de las condiciones de estrés que puede afectar a las células de *S. cerevisiae* durante su crecimiento en mostos de uva de alta concentración en azúcar es el estrés osmótico. Las células de levadura en elevada concentración de glucosa tienen una velocidad de crecimiento menor durante la fase inicial de fermentación e incluso esta condición puede contribuir a paradas de fermentación (*Guidi et al., 2010*). *S. cerevisiae* se adapta al aumento del estrés osmótico aumentando la producción de glicerol intracelular como soluto compatible para así compensar la presión osmótica. Se ha observado que algunas levaduras tienen bombas de glicerol activas (*Hohmann, 2002*). Sin embargo, el estrés osmótico no sólo induce la acumulación de osmolitos, sino que también tiene un gran impacto sobre la fisiología celular, como la reorganización del citoesqueleto, la dinámica de los cambios de la pared celular, la alteración de la homeostasis de iones, los ajustes metabólicos y la detención de ciclo celular, así como un efecto muy notable sobre la expresión génica (*Hohmann, 2002; Nadal y Posas, 2008*).

Cuando se usa *S. cerevisiae* para fermentar mostos con alta concentración en azúcares se presentan dos importantes problemas técnicos. El primero de ellos es un inicio complicado de la fermentación, que provoca una fase de adaptación demasiado larga y, en consecuencia, fermentaciones muy lentas y paradas prematuras no deseadas. El segundo problema es la dificultad de detener la fermentación en el momento óptimo para obtener el tipo de vino buscado. Además, estos problemas pueden favorecer el desarrollo de microorganismos indeseables que aumentan la acidez volátil, originando vinos de baja calidad (*Caridi et al., 1999*). Salmon y Mauricio (1994) observaron una menor actividad en el transporte de glucosa en levaduras que fermentan medios con una elevada concentración de azúcares. No obstante, el nivel actual de conocimientos y la aplicación de biotecnologías apropiadas permiten la fermentación de estos mostos mediante levaduras seleccionadas por su elevada tolerancia al azúcar y al etanol y así lo han sugerido numerosos autores (*Osho, 2005; Zuzuarregui et al., 2005; Malacrinò et al., 2005; García-Martínez et al., 2007; Tofalo et al., 2009; Ortiz-Muñiz et al., 2010; López de Lerma y Peinado, 2011*).

## 1.5 COMPUESTOS AROMÁTICOS

La mayor parte de los compuestos responsables del aroma de un vino se caracterizan por ser compuestos volátiles (en general de bajo peso molecular y de bajo punto de ebullición), que se liberan fácilmente de la matriz hidroalcohólica en la que se encuentran y de esta forma pueden fácilmente interaccionar con los receptores olfativos, ubicados en la parte superior de las fosas nasales (pituitaria). Además se requiere que estén en una concentración suficiente, superior a la de su umbral de detección (concentración mínima de una sustancia que puede ser percibida por una media de población).

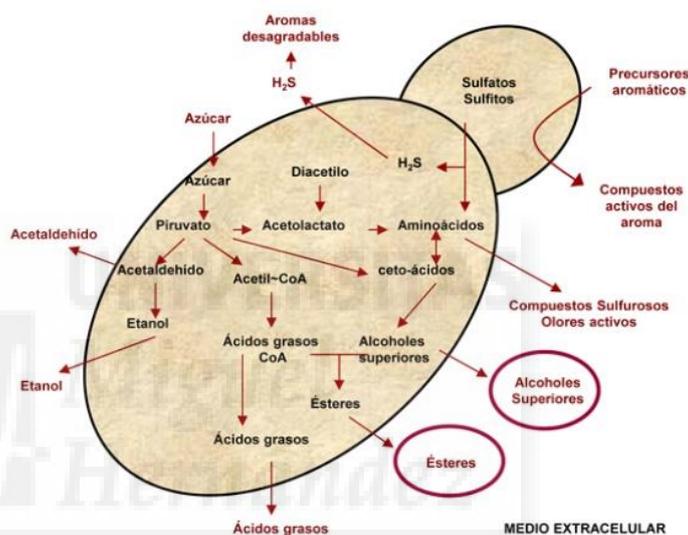
El aroma del vino es el resultado de una larga secuencia de transformaciones químicas y bioquímicas, que comienzan en el propio grano de uva con la síntesis de precursores del aroma y de algunas moléculas que van a tener un gran impacto en el aroma varietal de muchos vinos; continúa con la generación de nuevos compuestos odorantes durante la fermentación alcohólica y maloláctica a partir de precursores no odorantes presentes en el mosto, y termina con la formación del llamado aroma terciario durante la maduración y envejecimiento de los vinos. Por lo tanto, las diferentes variedades de uva, condiciones de cultivo, factores ambientales, los microorganismos implicados y la tecnología de elaboración, son factores con una incidencia directa en el aroma de los vinos.

**El aroma primario** del vino es el resultado de los compuestos odorantes presentes en forma libre en la uva o aquellos producidos como consecuencia de los procesos a los que se somete la uva desde su cosecha hasta el comienzo de la fermentación alcohólica (aroma prefermentativo). Estos procesos (prensado, despalillado, etc) provocan la rotura del grano de uva, lo que permite la actuación de algunos sistemas enzimáticos, principalmente oxidaciones enzimáticas de ácidos grasos que llevan a cabo secuencialmente lipasas, lipoxigenasas, isomerasas y alcohol deshidrogenasas. Como resultado se originan principalmente alcoholes y aldehídos de seis átomos de carbono (1-hexanol, cis-3-hexen-1-ol) que están relacionados con aromas vegetativos, herbáceos, etc. A pesar de tener un aroma muy diferente, en conjunto, la composición volátil de las uvas es bastante similar, y estas diferencias las

podemos explicar por la diferente concentración en la que muchos de estos compuestos odorantes aparecen en la uva. Sin embargo, en algunas variedades de uva se han identificado algunos compuestos volátiles, que efectivamente contribuyen de manera decisiva a la tipicidad aromática de una determinada variedad. Algunos ejemplos de moléculas de este tipo lo constituyen el linalol en la variedad Moscatel, las 3-isobutil-2-metoxipiracinas en la variedad Cabernet sauvignon, o el 4-metil-4-mercaptopentan-2-one en la variedad Sauvignon blanc, entre otras. Muchos de estos compuestos se encuentran en concentraciones muy bajas tanto en la uva como en el vino (ng/L), pero debido a sus bajos umbrales de detección ejercen un importante impacto aromático.

Además de moléculas odorantes en estado libre, en la uva existen precursores del aroma, que son moléculas no odorantes ni volátiles, susceptibles de liberar aromas bajo la influencia de diversos factores. Muchos de estos precursores son moléculas unidas a azúcares (glucosa, arabinosa, ramnosa y apiosa). Aunque todas las variedades de uva poseen este tipo de precursores, en algunas, como en la Moscatel, son muy abundantes, y la fracción del aroma glicosilada es mucho mayor que las correspondientes formas libres. Entre los derivados glicosilados, las agliconas (parte no glucídica de la molécula) unidas a ellos pueden ser además de terpenoles o polioles terpénicos, alcoholes lineales o cíclicos, C13-norisoprenoides y fenoles volátiles. La hidrólisis de estos precursores permite la liberación de los compuestos volátiles incrementando las características aromáticas del vino. Para liberar estos aromas atrapados se suele recurrir al uso de enzimas pectolíticas que presentan actividad glicosidasa residual. Estas enzimas presentan buena capacidad para trabajar en condiciones de vinificación (pH bajo y alta concentración de azúcares y de etanol). Otros precursores no glicosídicos de compuestos azufrados que tienen una gran importancia para algunas variedades de uva como la Sauvignon blanc, son los precursores cisteínicos S-conjugados. Principalmente durante la fermentación por actividad  $\beta$ -liasa de la levadura se puede producir la liberación de tioles volátiles (3-mercaptohexanol, acetato de 3-mercaptohexanol, metil-4-mercaptopentanona), que se caracterizan por presentar muy bajos umbrales de percepción (<20 ng/L) y comunicar al vino aromas a frutas exóticas.

**El aroma secundario** de los vinos está constituido por los compuestos volátiles que se producen como consecuencia de la fermentación alcohólica y maloláctica. Este grupo de compuestos es cuantitativamente el más numeroso, aunque se ha indicado que el impacto en el aroma global de los vinos no es tan acusado. La levadura encargada de la fermentación alcohólica, *Saccharomyces cerevisiae* puede producir como metabolitos secundarios durante la glicólisis numerosos compuestos aromáticos, como alcoholes lineales C3-C5, y alcoholes ramificados (2-feniletanol). También diferentes tipos de ésteres, como los acetatos de alcoholes superiores y ésteres etílicos de ácidos grasos, asociados a aromas florales y frutales en los vinos jóvenes, son producidos durante la fermentación alcohólica. Los ácidos grasos volátiles lineales de cadena corta (C2-C4), media (C6-C10) y larga (C6-C10) y los ramificados (2-metil propanoico, 2-metil butanoico, etc.) se producen durante la fermentación, y se ha comprobado que a medida que aumenta la longitud de



**Gráfico 1. Formación compuestos aromáticos durante la fermentación alcohólica**

su cadena, la volatilidad disminuye y el olor cambia de ácido a rancio. Por otro lado, en los vinos en los que tiene lugar la fermentación maloláctica (prácticamente todos los vinos tintos y algunos blancos), como resultado de este proceso, se pueden producir la formación de algunos compuestos odorantes como la 2,3-butanodiona (diacetilo) que contribuye al aroma a mantequilla de los vinos. El control de la fermentación (temperatura, nutrientes, microorganismos, etc.), es muy importante en la producción de compuestos del aroma con implicación positiva en las características sensoriales de los vinos y para evitar la formación de otros compuestos volátiles que pueden producir una depreciación en el aroma del vino.

**El aroma terciario** está formado por todos aquellos compuestos que se originan durante el almacenamiento y envejecimiento de los vinos. Durante esta etapa, muchos

precursores presentes en el vino (carotenoides), pueden sufrir una progresiva hidrólisis liberando compuestos aromáticos como los vitispiranos, asociados a aromas a frutos secos característicos, por ejemplo, de vinos espumosos envejecidos. También durante esta etapa se produce la hidrólisis de algunos ésteres, como los acetatos de alcoholes superiores, con lo que el vino se empobrece en compuestos relacionados con notas aromáticas más frescas y asociadas a aromas florales y frutales.

La composición terpénica del vino también es modificada por las reacciones ácido catalizadas y por la hidrólisis de los terpenos presentes en forma glicosilada. La hidrólisis de precursores glicosilados y su posterior rearreglo molecular, es el mecanismo seguido en la formación de algunos norisoprenoides aromáticos de los vinos ( $\beta$ -damascenona). Por otro lado, en los vinos envejecidos en bodega de madera, se produce la extracción de muchos compuestos volátiles de la misma, como la  $\beta$ -metil- $\gamma$ -octalactona (whiskylactona) que contribuye a los aromas a madera, coco, etc., de los vinos envejecidos. Otros compuestos aportados por la madera dependen de la procedencia de la misma (roble americano, roble francés), o incluso del grado de tostado de las bodegas. El guayacol y sus 4-etil y vinil-derivados junto con el eugenol y el isoeugenol son los principales fenoles volátiles que tienen impacto sensorial en los vinos envejecidos en madera. Algunos compuestos furánicos (5-metil-furfural, furfural alcohol) y otros resultados de la reacción de Maillard (2,3-dihidroxi-5-hidroxi-2-metil 4 (H) piranona, y su derivado 5-hidroxi, así como el furaneol), están muy relacionados con el tipo de tostado.

En algunas elaboraciones especiales, en las que se combinan un envejecimiento biológico en presencia de un velo de levaduras, y un envejecimiento oxidativo en madera, como en los vinos de Jerez amontillados, se consiguen vinos muy complejos desde el punto de vista aromático y caracterizados por notas a frutos secos (avellanas), balsámicas y especiadas, muy relacionadas con la presencia de acetaldehído. En este tipo de elaboraciones, el control de las reacciones oxidativas (durante la fase de permanencia del vino en la bodega) es esencial para limitar la concentración de acetaldehído y ácido acético en los vinos, que a elevadas concentraciones puede tener consecuencias muy negativas para las características sensoriales de los vinos.

## 1.6 MICOTOXINAS EN VINOS

Las micotoxinas son sustancias tóxicas de origen fúngico cuya ingestión, inhalación o absorción cutánea reduce la actividad, hace enfermar o provoca la muerte de animales y personas. Pasan al hombre mediante la ingesta de alimentos que han sido contaminados por hongos filamentosos micotoxinogénicos. De las más de 300 micotoxinas descritas, sólo unas pocas son peligrosas hasta el extremo de requerir un estricto control. En el vino destaca la ocratoxina A (OTA) que posee propiedades carcinógenas, nefrotóxicas, teratógenas, inmunotóxicas y posiblemente neurotóxicas, producida principalmente por hongos de la especie *Aspergillus carbonarius*, y con menor frecuencia por algunas otras como *Aspergillus niger* y *Penicillium prinophilum*. La Unión Europea ha establecido como límite máximo de ocratoxina A (OTA), a admitir en los mostos y vinos a partir de la vendimia del 2005, el de los 2 µg/Kg.

*Aspergillus carbonarius* a efectos de colonización del fruto de la vid debe ser considerado un patógeno oportunista, ya que no posee mecanismos infectivos propiamente dichos, como sí los poseen otros hongos tales como *Uncinula necator* o *Botrytis cinerea*. Por tanto, la invasión de la uva por *Aspergillus carbonarius* ha de producirse preferentemente durante la última fase del cultivo, entre maduración y vendimia, que suele ser el momento en el que más dañada puede estar la uva. En este período es cuando, como consecuencia del desarrollo de *Aspergillus carbonarius*, se sintetiza la OTA que luego se detectará en el vino. Si el daño a la uva ha sido intenso y con anterioridad, la posibilidad de que se desarrolle *Aspergillus carbonarius* será mayor y también mayor la cantidad de OTA final que podrá aparecer en el vino, por lo que se considera que la probabilidad de sobrepasar los niveles recomendados de OTA aumenta con el uso de fruto dañado. Para que esto ocurra *Aspergillus carbonarius* necesita suficiente aireación ya que se trata de un organismo aerobio estricto.

Los principales factores que contribuyen al deterioro biológico por mohos dentro de un ecosistema como la viña, son la humedad, la temperatura, los hongos fitopatógenos (mildiu, oidio, yesca), y las plagas (avispa, mosca de la fruta, piral *Lobesia botrana*...). Todas ellas favorecen la rotura de la piel, facilitando así la salida de nutrientes fuera y la invasión de la pulpa por parte de los micelios, en el caso de

tratarse de una especie incapaz de atravesar la cutícula de la misma, como es el caso de *Aspergillus carbonarius*.

El ataque por hongos fitopatógenos a la vid puede producirse con mayor facilidad si coinciden unas condiciones climatológicas favorables, como temperaturas entre 20 y 27 °C, veranos lluviosos y otoños húmedos, favorecedores de la germinación de esporas. Las especies ocratoxigénicas del género *Aspergillus* se desarrollan en un rango de temperaturas de entre 12 y 39 °C, por lo que en el sur de Europa y la región Mediterránea se pueden encontrar vinos con altas concentraciones de OTA debido tanto a sus elevadas temperaturas medias como a la humedad.

Debido a la influencia de las condiciones climatológicas sobre la presencia de OTA en uva, en una misma región puede haber diferencias muy significativas en cuanto a contaminación según el año de producción.

Durante la elaboración del vino se inhibe el crecimiento de los hongos ocratoxigénicos por el etanol y las condiciones anaerobias resultantes de la fermentación alcohólica, pero esto no tiene efecto alguno sobre las micotoxinas presentes. La OTA formada en un paso anterior a la fermentación alcohólica no se degrada ni durante el proceso de vinificación, ni durante el almacenamiento posterior del vino.

Asimismo recientes estudios determinan que la incidencia y concentración de OTA crece según este orden: vino blanco, vino rosado y vino tinto. Probablemente el vino tinto es más susceptible de mostrar contaminación por OTA debido a las condiciones de procesado de la uva. En este caso, tras el prensado, el mosto y los hollejos permanecen en maceración varios días, buscando principalmente la disolución de sustancias naturales presentes en los hollejos y que dan muchas de las características organolépticas de este tipo de vino. Estas condiciones favorecen el desarrollo de hongos ocratoxigénicos por el aumento de temperatura, las condiciones aerobias y la disolución de la toxina en el vino. No obstante, existen algunos estudios que informan de niveles de OTA más altos en vinos especiales que en vinos blancos y tintos (Zimmerli y Dick 1996, Soufleros et al. 2003, Bellí et al. 2004). Todos aquellos

procesos que signifiquen una dilatación del período postcosecha de la uva tras su madurez óptima, son procesos que incrementan el riesgo potencial por OTA.

En otro estudio (*Marín Sonia, et al. 2007*) se observó que los vinos con mayor incidencia de OTA (>90%), fueron los obtenidos básicamente de mostos fortificados, y los obtenidos a partir de uva pasificada al sol. Los vinos de crianza, los espumosos dulces y los obtenidos a partir de uvas deshidratadas artificialmente presentaron OTA por encima del límite de detección en el 50% de los casos. Finalmente no se detectó OTA en los vinos de podredumbre noble, de cosecha tardía y vinos de hielo.

Entre las medidas de control preventivas las principales son las que eviten el daño a la piel de la uva, tales como una adecuada planificación de los tratamientos fitosanitarios que servirán para mantener a la planta en un estado de salud óptima para defenderse de los posibles parásitos.

Si a pesar de las medidas preventivas se produce el daño del fruto y el crecimiento de moho, es fundamental tener controlada la proveniencia de cada partida de uva a estrujar, para que se puedan eliminar aquellas que puedan estar contaminadas por OTA.



Imágenes 21 y 22. Hongos de la especie *Aspergillus* en uvas infectadas

## 1.7 LA VID MALVASÍA. CARACTERÍSTICAS Y FENOLOGÍA

### 1.7.1 ORIGEN Y CULTIVO DE LA MALVASÍA

La primera referencia de vino de Malvasía data de 1214. En 1278, los venecianos, interesados en exportar vino de Malvasía, extendieron el cultivo a Creta (Candía). Posteriormente el cultivo se extendió a otras zonas del Mar Egeo, incluyendo la isla de Chio (Galet, 2000).

Alonso de Herrera (1645) ya escribía sobre Malvasía: *“Otras uvas hay que llaman Malvasía, hace los racimos apretados, no grandes, la uva redonda, apretada, y si tiene buena tierra, no es muy menuda, quiere tierra gruesa, enjuta y no húmeda, que es uva tierna y púdrese, y así en tierra enjuta hace mejor vino”*.

Clemente (1807) indica: *“Sarmientos erguidos. Hoja verde-amarillentas. Uvas medianas muy redondas, blancas, muy jugosas y dulcísimas. Abela (1885) describe la variedad Dulcissima (Vulgo Malvasía).*

Zerolo et al. (1897), escriben sobre una variedad dulce y aromática cultivada en Villanueva de Sitges, y traída por los catalanes desde la isla Chio durante las cruzadas. Hay también evidencia de que las uvas Malvasía se cultivan en Sitges desde el siglo XVIII (Comenge, 1942). Existe una variedad de color rosado (Malvasía rosada) que probablemente se originó de esta variedad por una mutación somática y se cultiva también en las Islas Canarias.

Comenge (1942) menciona Malvasía Versicolor o Malvasía Dorada de Canarias. Marcilla (1954) cita varias Malvasías, en la Región Catalana dice que *“Malvasía da origen a famosos vinos licorosos que reciben el nombre de la cepa”*.

Hidalgo et al. (1976) establecen diferencias entre Malvasía y Malvasía de Sitges caracterizando esta última como de porte más postrado y de racimo más pequeño y suelto.

Hidalgo (1993) fija el origen de la Malvasía *“en Grecia en la zona de Monemvasia, al Este de Laconia, introducida posteriormente en Creta y otras islas*

*griegas, para llegar más tarde a Italia, Francia y España. En el siglo XV se comenzó su cultivo en las Azores, Madeira, Valencia y Sitges (Cataluña), considerándose que llega a las Islas Canarias hacia 1490".*

Lezcano (1991) al igual que Rodríguez-Candela, hace una diferencia entre la Malvasía y la Malvasía de Sitges. De la Malvasía dice: "*Hojas de 17 cm sin brillo, seno peciolar abierto en "U", envés arañoso, racimos medios, más bien compactos, con baya de 16 mm, doradas que enrojecen al sol, pruinosas y lenticeladas*". La Malvasía de Sitges la describe como: "*Hojas pequeñas, orbiculares, seno peciolar abierto en "U", hojas glabras. Racimos pequeños y sueltos, bayas pequeñas de 9 mm, esféricas, un poco abolladas por el polo superior y un poco pruinosas*".

Realmente no está claro si procede de Grecia o de Asia Menor. Se cree, en general, que proviene de la primera, aunque hay cierta controversia sobre el lugar exacto en que se originó y qué variedades de uva son sus antecesores.

El término "malvasía" se supone que es una deformación italiana del nombre de la población griega de Monemvasia, una fortaleza veneciana en la costa de Laconia; este puerto habría actuado como un centro de comercio para el vino producido en el Peloponeso oriental y quizás en alguna de las Cícladas. Una teoría que compite con esta sostiene que el nombre deriva del distrito de Malevizi, cerca de la ciudad de Candía en Creta. En cualquier caso, la malvasía era uno de los tres vinos principales exportados desde Grecia en la Edad Media, junto al "*rumney*" y el "*vino de Creta*".

Tanto Monemvasia como Candía han dado su nombre a modernas variedades de uva. En Grecia, hay una variedad conocida como monemvasia, evidentemente bautizada así por el puerto, aunque actualmente se cultiva sobre todo en las Cícladas. En Europa occidental, una variedad común de malvasía se conoce como malvasía blanca de Candía (*Malvasia Bianca de Candia*), pues se cree que se originó en esa zona. La uva *monemvasia* se pensó que era la antecesora de las variedades de malvasía de Europa occidental, sin embargo, recientes análisis de ADN no sugiere un parentesco entre la *monemvasia* y las variedades de malvasía. Los análisis de ADN, sin embargo, sugieren que la variedad vinícola athiri (una variedad ampliamente cultivada por toda Grecia) sí es antecesora de la malvasía. Sea cual sea su origen preciso, el antepasado

de las modernas variedades de malvasía debió extenderse hacia el Oeste a lo largo de las tierras mediterráneas en los tiempos medievales, pasando de Grecia a Nápoles, Sitges (Barcelona), Banyalbufar (Islas Baleares) y Turís (Valencia)). Dio su salto final a Madeira muy poco tiempo después de que los portugueses comenzaran a establecerse en la isla, en el siglo XV. Y lo mismo cabe decir respecto a las Islas Canarias, conquistadas por los españoles en el mismo siglo.

El término Malvasía designa, por lo tanto, a una familia de variedades originarias del Mediterráneo y la isla de Madeira, pero actualmente se cultiva en un gran número de regiones vitícolas del mundo. Las diversas variedades se diferencian notablemente entre ellas por la morfología de la planta, color, sabor y composición bioquímica del fruto, precocidad de maduración, productividad y aptitud para la vinificación. Las vides Malvasía pueden ser de dos grupos, las que tienen un ligero aroma que recuerda al Moscatel y otras de sabor simple.



Imagen 23. Malvasía de Sitges

El vino elaborado con esta variedad vitivinícola es denominado también Malvasía o vino de Malvasía. La mayoría de los vinos procede de una varietal denominada Malvasía blanca.

Se producen vinos de mesa blancos o de color tostado, con fuertes aromas. También se elaboran vinos de postre y vinos generosos. A veces se usa la uva como parte de una mezcla, como ocurre con el Vin Santo. Normalmente el Malvasía es un vino licoroso blanco, dulce, oloroso y de alta graduación.

Los vinos Malvasía se producen en Italia, donde actualmente se encuentra la principal producción (incluyendo Lombardía, Sicilia, Lipari y Cerdeña), Eslovenia, Croacia (Malvasía Dubrovacka), Córcega, España, la isla de Madeira, las Islas Canarias, California, Australia y Brasil.

En España está muy extendida y se considera variedad recomendada para las Comunidades Autónomas de Castilla y León (donde también se la conoce como Rojal) y Comunidad Valenciana (donde se la conoce como Subirat). Es una variedad autorizada en otras comunidades autónomas, como Aragón (Rojal), Cataluña (Subirat Parent, de Sitges), Islas Baleares, Cantabria (Rojal), Castilla La Mancha, Murcia y Rioja (riojana).

En las Islas Canarias, bajo la designación de Malvasía canaria, se cultivan dos tipos distintos de variedades locales, la denominada Malvasía aromática o Malvasía de Tenerife, y la Malvasía volcánica o Malvasía de Lanzarote, sobre suelos volcánicos sedimentarios, destinándose a la producción de vinos secos, semisecos y semidulces.

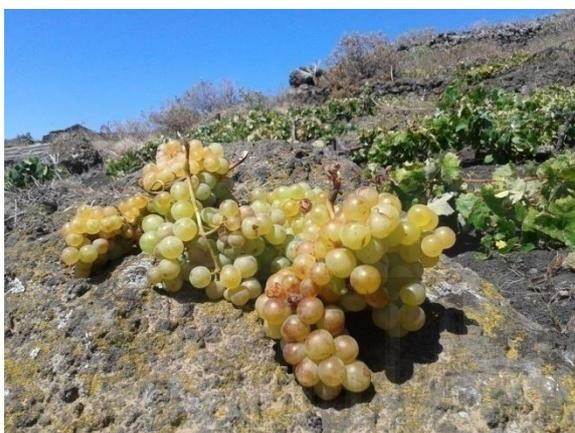


Imagen 24. Malvasía aromática de Tenerife



Imagen 25. Malvasía volcánica de Lanzarote

En realidad, con la Malvasía se producen en España numerosas homonimias (*I. Rodríguez-Torres, F. Cabello, J. Zerolo y otros, 2009*). Por ejemplo, las que se denominan como Malvasía en las Denominaciones de Origen Calatayud, Navarra, Cataluña y la Malvasía Riojana, son realmente de la variedad Alarije (conocida también en otras D.O. como Aris, Rojal y Subirat Parent).

La denominada como Malvasía en la D.O. El Bierzo, es realmente Chasselas (conocida en otras D.O. como Temprano o Temprano Blanco).

La denominada también como Malvasía en la D.O. Toro, es realmente Doña Blanca (con sinonimia en otras D.O. como Doña Blanca, Blanca Extra, Valenciana, Blanco del País y Moza Fresca).

Las denominadas como Malvasía en la D.O. Valencia y en la provincia de Salamanca son realmente Macabeo.

Finalmente, la llamada Malvasía en la D.O. Yecla, es en cambio, Planta Nova también conocida en otros lugares como Tardana y Tortozón.

Es decir, hay ocho Denominaciones de Origen (y una provincia más) en las que se denomina Malvasía a plantas que están identificadas como de otra variedad. En definitiva, de las veintidós Denominaciones de Origen españolas en que aparece Malvasía de baya blanca encontramos ocho variedades diferentes, Alarije, Malvasía de Sitges y Malvasía Rosada, Chasselas, Doña Blanca, Macabeo, Planta Nova y Malvasía de Lanzarote. Dado que el nombre de Malvasía debe asignarse a las uvas perfumadas que ofrecen sabor especial de moscatel un poco amargo, únicamente doce D.O. cultivan alguno de los tres tipos verdaderos de malvasía (Malvasía de Sitges, Malvasía Rosada y Malvasía de Lanzarote), once de ellas situadas en las Islas Canarias y una (Cataluña) en la Península Ibérica.



Imagen 26. Malvasía rosada

En Portugal destaca como materia prima del vino madeira, utilizado para la elaboración de los vinos más representativos de la Isla de Madeira.

En Francia el término Malvoisie también produce un fenómeno de homonimia, al designar distintas variedades de uva:

- Algunas pinot gris reciben este nombre: malvoisin, malvoisie du Valais o Malvoisie de Touraine.
- Vermentino: también conocido como malvoisie á gros grains y malvoisie de Douro.
- Tourbat: malvoisie des Pyrénées Orientales y malvoisie du Rousillon.
- Rolle (viñedo de Languedoc-Rosellón)
- Bourboulenc (Aude)

- Clairette (Entre-deux-mers)
- Macabeu (la Macabeo española)
- Muscadelle (Cahors)
- Ugni blanc (Marmandais)
- Malvoisie du Tyrol (es una savagnin)

### 1.7.2 MALVASÍA BIANCA. CARACTERÍSTICAS AMPELOGRÁFICAS

La Malvasía estudiada en este Trabajo Fin de Máster se injertó sobre patrón americano 1103-Paulsen, con material vegetal procedente de la Finca El Chaparral de Cehégín, dependiente del IMIDA (Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agrario y Alimentario). En concreto, se ha identificado como **Malvasía blanca** procedente de una selección de U.C. Davis (California). Actualmente este tipo de Malvasía se cultiva especialmente en la costa noroeste de Italia, donde también se la conoce como *Malvasía blanca Piamonte* o *Moscato Greco*. Su origen dentro y fuera de Italia es desconocido.



Imágenes 27 y 28. Haz y envés de una hoja de Malvasía blanca. (Fuente: U.C. Davis)

La descripción ampelográfica de esta variedad es la siguiente:

Hojas: Tamaño medio, 5 lóbulos profundos con lira, conformados por la superposición del seno peciolar. Dientes grandes y afilados. Envés con el pelo moderadamente denso.

Puntas apicales: Pelos de telaraña en la punta, hojas jóvenes verdes con reflejos de color bronce rojizo, lisas y brillantes.

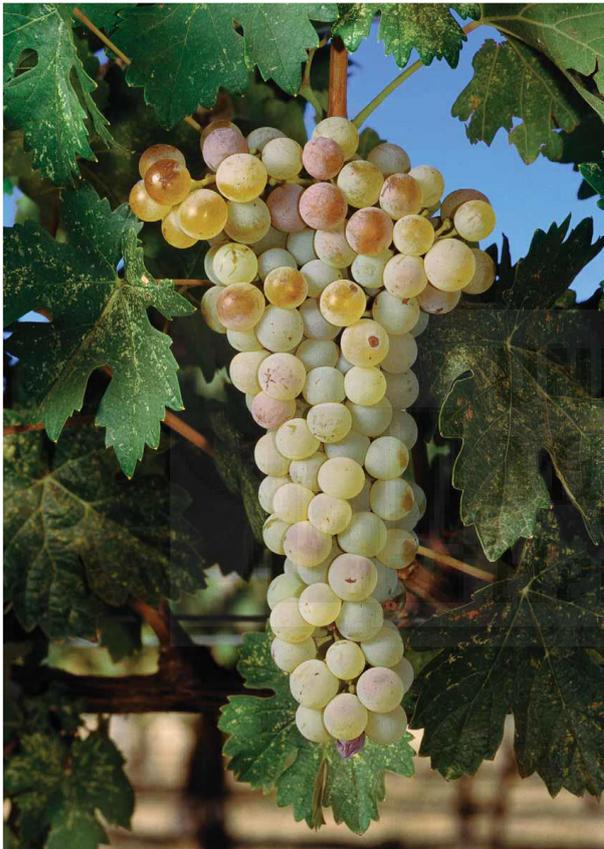


Imagen 29. Racimo Malvasia blanca. (Fuente: U.C. Davis)

Racimos: Tamaño medio, forma cónica larga, hombros llenos y compactos, pedúnculos medianos.

Bayas: Tamaño medio, redondo, color amarillo a marrón aceitoso cuando maduran, sabor a moscatel.

La Malvasia blanca cultivada para este Trabajo, tiene un alto vigor y es moderadamente productiva, con un suelo de tipo franco-arcilloso, no muy fértil y con escasez de materia orgánica.

En general, se recomienda utilizar portainjertos de vigor moderado,

pues los vigorosos pueden aumentar la susceptibilidad de la planta a un mal cuajado y reducir los rendimientos.

Desde el punto de vista fitosanitario es muy sensible al *Oídio*, siendo recomendable los tratamientos preventivos desde las primeras fases del cultivo, especialmente en años húmedos. En terrenos muy fértiles, esta variedad puede presentar excesos de producción que repercutirán en la calidad final de la uva, pues si las condiciones climáticas son favorables pueden aparecer focos importantes de *Botrytis cinerea*, difíciles de controlar.

Producciones adecuadas para mantener un adecuado equilibrio calidad-cantidad, son las que oscilan entre 4 y 6 kgs de uva por cepa.

En las parcelas cultivadas se detectaron cepas con problemas de clorosis férrica y en menor medida, síntomas de carencia de Magnesio.

### **1.7.3 FENOLOGÍA DE LA MALVASÍA ESTUDIADA**

La fenología es la ciencia que estudia los fenómenos biológicos que se presentan periódicamente acoplados a ritmos estacionales y que tienen relación con el clima y con el curso anual del tiempo atmosférico en un determinado lugar. Esta información es importante para los estudios del clima y para la descripción del año agrícola.

Los estados fenológicos definen las distintas manifestaciones periódicas o estacionales por las que pasa la planta a lo largo de su ciclo de vida (brotación, floración, cuajado, maduración, caída de hojas y dormancia).

Además del clima y del curso anual atmosférico en la fenología de la planta también influyen las prácticas culturales y el momento en el que se realizan las mismas (poda, riego, labranza, tratamientos...).

El estudio de la fenología de la vid es una referencia obligada en todo estudio de la viticultura y recomendada para el manejo del cultivo. Los momentos más apropiados para los tratamientos de plagas y enfermedades están directamente relacionados con los diferentes estados fenológicos de la vid, de ahí la importancia de su conocimiento para realizar fundamentalmente una labor de prevención fitosanitaria.

La determinación del estado fenológico en que se encuentra un viñedo en un momento dado es difícil, ya que la evolución de los órganos no se realiza de manera simultánea en el conjunto del viñedo, y ni siquiera en una misma cepa, debiéndose por lo tanto, considerar el estado fenológico más frecuente.

Para el estudio de los estados fenológicos de la Malvasía se utilizó la escala de los estados fenológicos de Baggiolini, escala de fácil comprensión y utilización, y la más extendida en el estudio de la vid.



Imagen 30. Estados fenológicos. (Fuente: Tratado de Enología. J. Hidalgo, 2003)



Imagen 31. Malvasía en el paraje de Pasico Ucenda. (Fuentes: Propias)

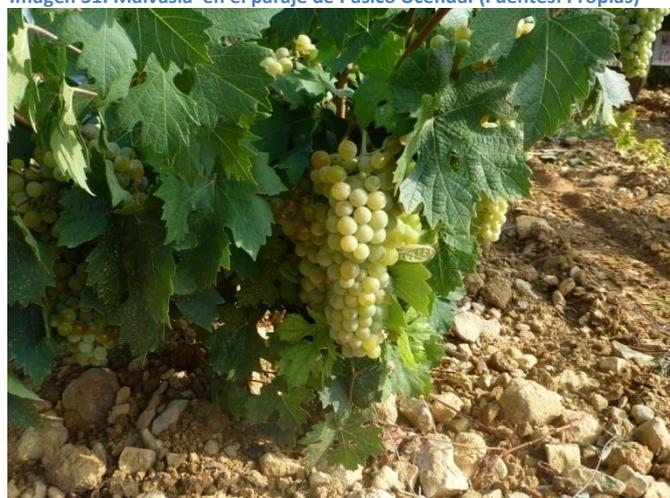
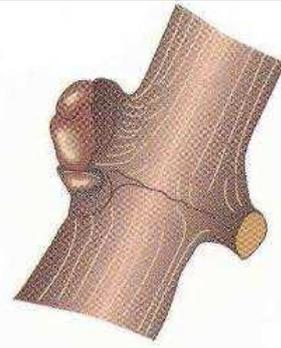


Imagen 32. Detalle racimo Malvasía madurando. (Fuentes: Propias)



**A, Yema de invierno (25-01-15)**



**A Bourgeon d'hiver**



**B, Yema de algodón (19-02-15)**



**B Bourgeon dans le coton**



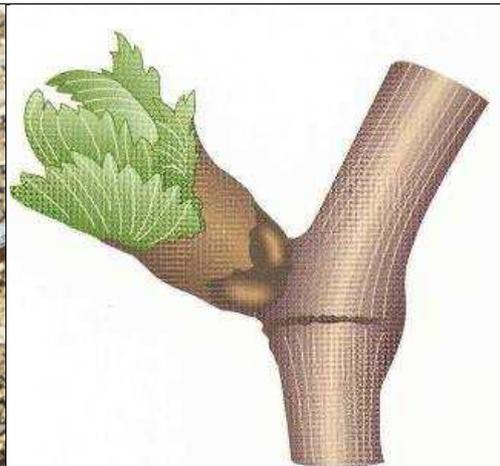
**C, Punta verde (04-04-15)**



**C Pointe verte**



**D, Salida de hojas (10-04-15)**



**D** Sortie des feuilles



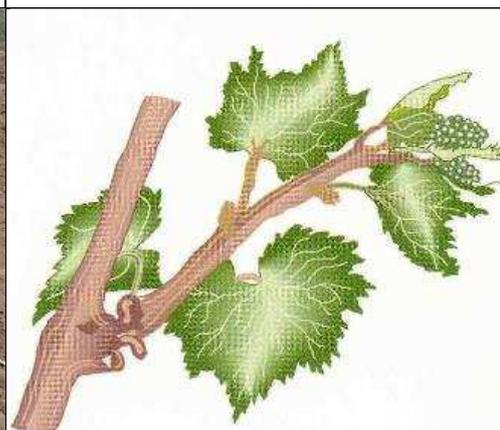
**E, Hojas extendidas (20-04-15)**



**E** Feuilles étalées



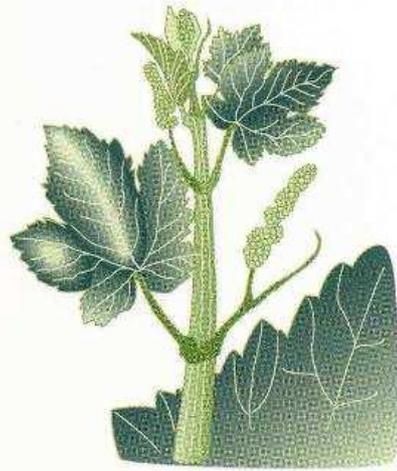
**F, Racimos visibles (29-04-15)**



**F** Grappes visibles



**G, Racimos separados (05-05-15)**



**G** Grappes séparées



**H, Botones florales separados (14-05-15)**



**H** Boutons floraux séparés



**I, Floración (22-05-15)**



**I** Floraison



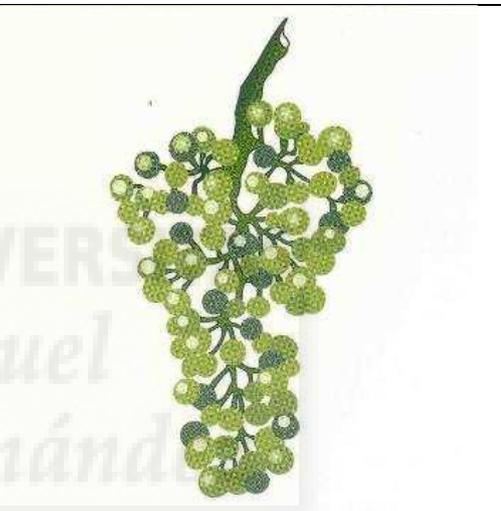
**J, Cuajado (02-06-15)**



**J** Nouaison



**K, Grano tamaño guisante (15-06-15)**



**K** Petits pois



**L, Racimo completo (17-07-15)**



**L** Grappe fermée



**M, Envero (31-07-15)**



**M Véraison**



**N, Maduración (26-08-15)**



**N Maturité**



**Sobremaduración (22-09-15)**



**O, Agostamiento (10-11-15)**



**O Aoûtment**



**P, Caída de hojas (28-11-15)**



**P Chute des feuilles**

## 2 OBJETIVOS

---

**Los objetivos de mi Trabajo de Fin de Máster son:**

- Estudiar las diferencias entre dos técnicas distintas de sobremaduración de uvas de la variedad Malvasía, como son la vendimia anticipada con pasificación en almacén y la vendimia tardía con pasificación en la cepa.
- Establecer el momento más adecuado para procesar las uvas y vinificar sus mostos.
- Controlar y analizar el proceso fermentativo por separado de los mostos.
- Estudiar las características enológicas de los dos tipos de vinos elaborados y determinar sus diferencias.

# 3 MATERIAL Y MÉTODOS

## 3.1 TRATAMIENTOS Y DISEÑO EXPERIMENTAL

Las uvas Malvasía seleccionadas proceden de una plantación formada por dos parcelas separadas por una carretera unos 10 metros, con las mismas características agronómicas. El viñedo está formado en vaso, con 3 o 4 brazos por cepa, dejando en cada uno de esos brazos un pulgar con dos yemas fértiles.

El cultivo de los viñedos es ecológico, no empleándose abonos químicos ni productos fitosanitarios de síntesis. Esta campaña no se fertilizó con materia orgánica natural a base de estiércol de ovino-caprino, que es el fertilizante habitualmente empleado en cultivo ecológico. En cuanto a los tratamientos para combatir plagas y enfermedades, únicamente se efectuaron tres aplicaciones con azufre amarillo al 98%, en espolvoreo, para prevenir los daños por oídio.

Se seleccionaron dos zonas de ambas parcelas (imagen 50) de donde se vendimiaron, en diferentes fechas, las uvas utilizadas.

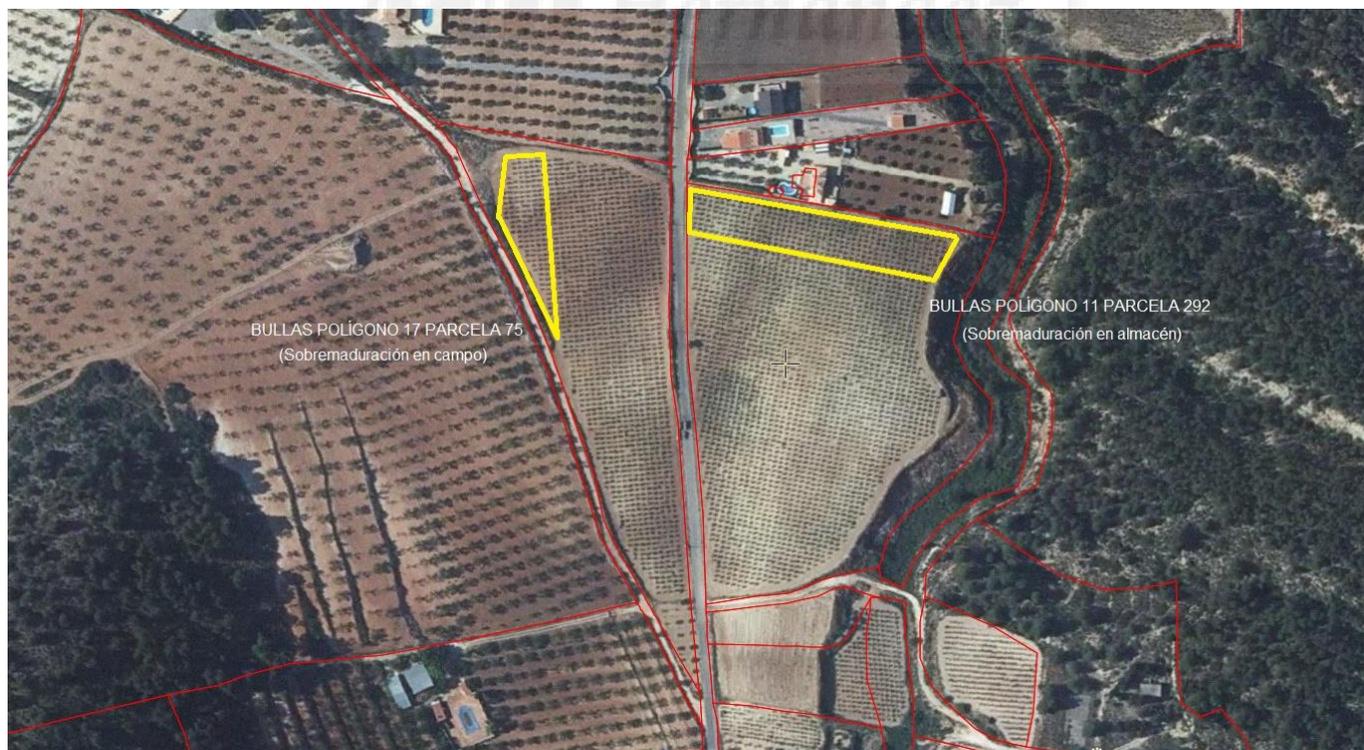


Imagen 50. Foto aérea de los viñedos de Malvasía estudiados. (Fuente: SIGPAC)

<b>PARAJE</b>	PASICO UCENDA
<b>VARIEDAD</b>	MALVASÍA BIANCA
<b>PATRÓN</b>	1103-Paulsen
<b>AÑO DE PLANTACIÓN</b>	2006
<b>MARCO DE PLANTACIÓN</b>	2,60 m x 2,40 m
<b>SUPERFICIE</b>	2,96 Has
<b>NÚMERO DE PLANTAS</b>	4.600
<b>TIPO DE SUELO</b>	Franco-arcilloso
<b>RIEGO</b>	NO
<b>ABONADO</b>	NO

Tabla 1. Características de las parcelas estudiadas

Se efectuó una vendimia temprana (26 de agosto) de las uvas Malvasía destinadas a ser sobremaduradas a cubierto.



Imagen 51. Vendimia temprana Malvasía almacén



Imagen 52. Uva Malvasía en cajas para su traslado

El procedimiento de secado consistió en una serie de rejillas montadas unas sobre otras formando estructuras de seis bandejas, separadas adecuadamente para un buen proceso de secado, donde se extendieron los racimos de uva, sin amontonar, en una sola capa.



Imagen 53. Descarga de las cajas con uva



Imagen 54. Colocación de los racimos en bandejas



Imagen 55. Montaje de las bandejas con las uvas extendidas



Imagen 56. Estructura de bandejas para el secado de las uvas

Una vez montadas, se cubrieron con una red que dejaba pasar el aire y la luz pero impedía la entrada de insectos como mosquitos o avispas que pudieran atacar los racimos, dañándolos.

El almacén empleado se encontraba muy cerca de la parcela, estaba bien ventilado y poseía una buena estabilidad térmica sin grandes oscilaciones de temperatura (media de 23°C), con lo que las condiciones de mantenimiento de la uva durante el



Imagen 57. Bandejas con uvas protegidas por una red

proceso de pasificación fueron adecuadas y no se hizo necesaria ninguna intervención para corregir su estado fitosanitario

La vendimia normal de las dos parcelas se llevo a cabo entre el 2 y el 3 de septiembre, siendo transportada la uva a las instalaciones de la bodega en remolques con una capacidad media de 4000-4500 kgs.



Imagen 58. Vendimia de la Malvasía con remolque

Las uvas seleccionadas para ser sobremaduradas en la cepa, se dejaron sin vendimiar, y permanecieron en el viñedo hasta su recolección, retrasada al 5 de octubre.

Tanto la vendimia anticipada como la tardía se realizaron de forma manual, en cajas de 16 kilos, para preservar la integridad de la uva, evitando aplastamientos y roturas de los granos durante el transporte.



Imagen 59. Uvas sobremaduradas en la cepa



Imagen 60. Detalle cajas de vendimia

Las cepas sin vendimiar se deshojaron el 9 de septiembre para prevenir humedades y focos de pudrición, debido a que las previsiones meteorológicas apuntaban a un cambio del tiempo, con precipitaciones de importancia (como así sucedió, entre el 12 y el 14 de septiembre, con registros de 60-70 litros por metro cuadrado, y elevado aumento de la humedad relativa). En general, salvo este episodio de lluvias, las condiciones climáticas durante la maduración y sobremaduración de la uva en campo, fueron favorables, con tiempo seco, soleado, y elevadas temperaturas que permitieron obtener unas uvas sanas, sin aparición de daños por oídio o botrytis.



Imagen 61. Cepa de Malvasía recién deshojada



Imagen 62. Racimo Malvasía bien expuesto tras deshojado

### 3.2 EVALUACIÓN DE PARÁMETROS AGRONÓMICOS

Se efectúa un seguimiento del estado fenológico del viñedo desde yema de invierno hasta caída de hojas.

Se evalúa en campo el número de racimos por cepa, la producción por cepa, el vigor y el estado sanitario de la planta

Asimismo se realiza semanalmente una observación visual del estado sanitario de las uvas, en almacén y en campo, para detectar y eliminar granos sueltos con algún foco de pudrición, aunque las intervenciones necesarias fueron muy escasas.

### 3.3 CONTROL DEL GRADO DE MADURACIÓN DE LA UVA

A lo largo del proceso se toman muestras representativas de ambos tipos de uvas estudiadas. El mosto de las mismas se obtiene por rotura de los granos en una estrujadora manual, sin despallillar.

Se analizan los siguientes parámetros:

- **Grado Brix**

El grado Brix se obtuvo utilizando un refractómetro digital Milwaukee modelo MR330ATC (Milwaukee, Rocky Mount, USA), con corrección incorporada de temperatura, ajustando el cero con agua destilada. A partir del grado Brix se calculan por tablas los valores de grado Baumé y azúcares en g/L.

- **pH y Acidez Total**

El valor del pH y la acidez total se midieron con un valorador automático Titromatic modelo 1S (Crimson Instruments, L'Hospitalet de Llobregat, Barcelona). Los resultados de acidez total se expresan en g/L de Ácido tartárico.



Imagen 63. Equipo medición pH y acidez total

### 3.4 VINIFICACIÓN

Con los datos obtenidos durante el seguimiento de la evolución de las uvas se determina vendimiar la uva sobremadurada en campo el 5 de octubre. Todo el trabajo se realiza a primera hora de la mañana con el objetivo de evitar las altas temperaturas, y procurar que la cosecha entre en bodega lo más fresca posible, utilizando para ello cajas de plástico de 16 kilos. Ese mismo día se recoge también la uva que ha estado desde el 26 de agosto en almacén y se transporta a la bodega cargando las bandejas en un remolque, con precaución para no dañar los racimos.



Imagen 64. Detalle vendimia tardía en cajas

Una vez en bodega se descargan las cajas y las bandejas y se efectúa una selección de las uvas descartando algunos racimos que no cumplen con los parámetros de calidad que buscamos.



Imagen 65. Descarga cajas de vendimia en bodega



Imagen 66. Selección de racimos en bodega

### 3.4.1 Procesado de la uva

Se utiliza una despalilladora-estrujadora de pequeña capacidad, donde se van volcando las cajas, produciéndose un despalillado o eliminación del raspón de los racimos, y un suave estrujado de la masa de vendimia, sobre la que se efectúa a continuación un prensado manual para, por un lado, aumentar la extracción del mosto, y por otro, favorecer el contacto del mismo con los hollejos para una transferencia de los compuestos aromáticos presentes en la piel de la uva.



Imagen 67. Descarga de la uva en la despalilladora-estrujadora

Se procesan por separado las uvas, en primer lugar las sobremaduradas en campo, y a continuación las de almacén. El mosto obtenido va a dos depósitos de plástico de 100 litros de capacidad. De aquí se toman dos muestras para determinar los siguientes parámetros iniciales:

Densidad

Temperatura

Grado Baumé

Acidez total

pH

SO<sub>2</sub> Libre

SO<sub>2</sub> Total

Nitrógeno fácilmente asimilable



Imagen 68. Prensado manual tras despalillado y estrujado



Imagen 69. Mosto de Malvasía recién obtenido

### 3.4.2 Adición de SO<sub>2</sub>

Con el objetivo de evitar oxidaciones y el desarrollo de levaduras o bacterias que puedan ocasionar alteraciones en nuestros mostos, se añade a ambos depósitos una solución de Bisulfito potásico al 15% (Bisulfite 15 de Laffort), a una dosis de 25 mg/l



Imagen 70. Bisulfito potásico

### 3.4.3 Utilización de enzimas enológicas

Se adiciona a los mostos recién obtenidos una preparación enzimática con actividad pectolítica (Enovin fl) a una dosis de 10 ml/hl, para favorecer el desfangado.



Imagen 71. Enzimas pectolíticas

### 3.4.4 Desfangado y encubado

Se dejan los mostos reposando durante 12 horas, protegidos de un exceso de contacto con el oxígeno, y pasado este tiempo se procede a llenar 6 depósitos de acero inoxidable, de 25 litros de capacidad cada uno, tres con el caldo procedente de las uvas sobremaduradas en campo, y otros tres con el obtenido de las uvas de almacén, tomando con precaución el mosto limpio de la parte superior de los dos



Imagen 72. Llenado de los depósitos tras desfangado

depósitos de plástico, quedando al fondo de los mismos todas las borras precipitadas por acción de las enzimas pectolíticas.

Conforme se van llenando dichos depósitos, la turbidez aumenta por lo que se observa una diferencia apreciable entre los distintos mostos una vez encubados.

### 3.4.5 Fermentación

Para evitar dificultades en el arranque y desarrollo adecuado de la fermentación alcohólica, se decide utilizar un preparado comercial de levaduras secas activas (LSA), Zymaflore ST de Laffort, especialmente seleccionadas para mostos ricos en azúcares, especialmente indicadas para la elaboración de vinos a partir de uvas pasificadas, proveniente de una selección de terroir del viñedo de Sauternes.



Imagen 73. Levaduras empleadas

Sus características fermentativas son:

- Tolerancia al alcohol hasta 15% vol.
- Intervalo de temperaturas recomendado entre 15 y 20°C
- Elevadas necesidades de nitrógeno
- Buen poder de implantación en mostos ricos en azúcares
- Baja producción de acidez volátil y de H<sub>2</sub>S

Sus características aromáticas son:

- Baja formación de compuestos que combinan con el SO<sub>2</sub> (etanal, ácido pirúvico...)
- Cepa sensible al SO<sub>2</sub> para la fermentación
- Baja producción de aromas fermentativos (respeto de la tipicidad)

Para la preparación del pie de cuba se sigue el siguiente protocolo previo a la inoculación de los depósitos:

- Se preparan 6 vasos de precipitado con 70 ml de agua cada uno a una temperatura de 37°C
- Se añade a cada vaso 6,25 gramos de levadura seca activa, lo que corresponde a una dosis de 25 grs/l
- Se dejan en rehidratación durante 20 minutos
- Pasado este tiempo, se añade a cada vaso 40 ml de mosto
- Se deja reposando 10 minutos
- Se vuelve a añadir otros 40 ml de mosto por vaso
- Se deja reposando otros 10 minutos
- Se procede a inocular con esta preparación los seis depósitos



Imágenes 74 y 75. Preparación pie de cuba en laboratorio y posterior adición a los depósitos

Es importante evitar diferencias de temperatura superiores a 10°C entre el mosto y el inóculo durante la inoculación. Asimismo, el tiempo total de preparación del inóculo no debe superar los 45 minutos.

La fermentación se desarrolló a una temperatura media de 19-20°C, sin necesidad de refrigeración externa. Durante toda la fase fermentativa se medía dos veces al día, mañana y tarde, la densidad, temperatura y pH de los seis depósitos.



Imagen 76. Mostímetro para densidad

Para la determinación de la densidad el mosto-vino se coloca en una probeta de 250 ml, en la que se introduce el mostímetro y se agita con el mismo la muestra para eliminar el dióxido de carbono existente. Cuando el mostímetro se mantenga inmóvil, se procede a la lectura por la parte superior del menisco. Todas estas mediciones se efectuaban siempre a la misma hora y en el laboratorio de la bodega.

Las determinaciones de pH, T<sup>a</sup> y la acidez total se realizaron con un valorador automático Titromatic modelo 1S (Crimson Instruments, L'Hospitalet de Llobregat, Barcelona). Los resultados de acidez total se expresan en g/L de ácido tartárico.

A los tres días de inicio de fermentación se añade un nutriente orgánico (Actimax Vit) a dosis de 30 mg/l, como fuente de nitrógeno fácilmente disponible para las levaduras, lo que estimula un adecuado desarrollo de las mismas y una fermentación más rápida y equilibrada.



Imagen 77. Nutrientes orgánicos

### 3.4.6 Parada de fermentación y trasiegos

Se determina parar la fermentación del vino obtenido de la Malvasía sobremadurada en campo a una densidad de 1050, y el vino procedente de la uva sobremadurada en almacén, a 1080.

La parada de fermentación se realiza mediante la aplicación de frío, en tres de los depósitos con la introducción de placas de plástico alimentario congeladas, y en los otros tres mediante estancia en cámara frigorífica (7-8°C).



Imágenes 78, 79. Aplicación frío mediante placas de plástico alimentario y cámara frigorífica

Durante el enfriamiento del vino se efectúan varios trasiegos con el objetivo de conseguir eliminar lías y obtener caldos lo más limpios posibles que faciliten su posterior filtración. Los vinos más turbios fueron trasegados más veces que el resto.

DEPÓSITO	Nº TRASIEGOS
A1	1
A2	2
A3	3
C1	1
C2	2
C3	1

Tabla 2. Depósitos trasegados

### 3.4.7 Corrección de SO<sub>2</sub>

FECHA	DOSIS SO <sub>2</sub> (mg/l)
17/10/15	50
23/10/15	50
26/10/15	50

Tabla 3. Fechas de adición de SO<sub>2</sub>



Imagen 80. Corrección de SO<sub>2</sub> en depósitos

### 3.4.8 Filtrado y embotellado

Una vez detenida la fermentación a la densidad elegida, los vinos se filtran tres veces. Para ello se utiliza un filtro con capacidad para 6 placas de 200x200 mm (modelo Colombo, marca Rover Pompe). Antes de comenzar el ciclo de filtración, se lavan con agua las placas y el circuito de filtración para eliminar el posible sabor a papel. Se emplean tres tipos de placas (marca Becopad de Agrovin) compuestas por fibras de celulosa de alta pureza:

1ª filtración: BECO-CP 02 S. Filtrado grueso con un tamaño de 25  $\mu\text{m}$ .

2ª filtración: BECO-KP 3. Filtrado de clarificación para retención de partículas groseras con un tamaño de 2,5  $\mu\text{m}$ .

3ª filtración: BECOPAD 350. Filtración con un grado de retención de microorganismos variable, reducción de levaduras y bacterias. Tamaño de 0,8-1  $\mu\text{m}$ .

Las placas de filtración son capaces de retener las partículas que causan la turbidez en el vino, debido a la acción conjunta de los mecanismos de tamizado y de adsorción en profundidad (eliminación de las partículas con carga eléctrica negativa).

Una vez filtrados, los vinos procedentes de los seis depósitos se embotellaron por separado el 23 de octubre en formato 75 cl, con tapón de rosca, e inyección de  $\text{CO}_2$  para inertizarlo.



Imagen 81. Filtrado de los vinos mediante filtro de placas



Imagen 82. Estado de los tres tipos de placas tras filtrado



Imagen 83. Vinos de los seis depósitos una vez filtrados

## 3.5 DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS POR CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA EN MOSTOS Y VINOS

### 3.5.1. Azúcares y Ácidos orgánicos

La preparación de las muestras (mosto o vino) se realizó mediante la centrifugación a 2500 rpm durante 5 minutos y posterior filtración a través de un filtro PVDF de 0,45  $\mu\text{m}$ . Una vez la muestra fue centrifugada y filtrada, esta se colocaron en un vial de HPLC.

Las muestras (10  $\mu\text{L}$ ) se inyectaron en la columna precalentada (30  $^{\circ}\text{C}$ ) SupelcogelC610H (30 cm x 7,8 mm), protegida con una precolumna Supelcogel C610H (5 cm x4,6 mm). El sistema HPLC utilizado fue un HP 1100 series con un autoinyector y un detector UV, fijado a 210 nm, asociado a un detector del índice de refracción. La fase móvil consistió en ácido fosfórico al 0,1% con un flujo de 0,5 mL/min. El tiempo del método fue de 30 minutos.

Los diferentes azúcares (glucosa, fructosa), ácidos orgánicos (cítrico, málico, acético, tartárico y láctico), etanol y glicerol se identificaron y cuantificaron con patrones externos. Los patrones se prepararon, entre 0-100 g/L para azúcares, 0-5 g/L para ácidos y entre 0-100 g/L en el caso del etanol. Los resultados fueron expresados en g/L.

### 3.6 DETERMINACIÓN DE LA FRACCIÓN AROMÁTICA DEL VINO

El análisis de compuestos volátiles se realizó con el método de micro-extracción en fase sólida en el espacio de cabeza (HS-SPME). Tras la realización de diferentes ensayos con el fin de optimizar el sistema de extracción, se tomaron 15 mL de cada una de las muestras, 1,5 g de NaCl, y se introdujeron en un vial específico para micro-extracción en fase sólida (SPME) junto con un agitador magnético. Cada vial, con capacidad de 50 mL (Supelco Analytical, Bellefonte, PA, EE.UU. de América), tapa de polipropileno y septum de PTFE/ silicona, se estabilizó en un baño con agua a 40 °C con agitación constante. Tras 15 minutos de equilibrio, la fibra de SPME 50/30 mm DVB/CAR/PDMS (Supelco) se expuso al espacio de cabeza de la muestra durante 50 minutos a 40 °C.

Después del muestreo, la desorción de los compuestos volátiles de la fibra de SPME se llevó a cabo en el puerto de inyección del cromatógrafo gases-masas (GC-MS) durante 3 minutos. Las temperaturas del inyector y detector de espectrometría de masas fueron de 230 y 300 °C, respectivamente.

El aislamiento y la identificación de los compuestos volátiles se realizaron en un cromatógrafo de gases, Shimadzu GC-17<sup>a</sup> (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japón), acoplado con un detector de espectrometría de masas (**Imagen 2**), Shimadzu GC-MS detector QP-5050A. El sistema GC-MS tenía una columna Restek Rxi-1301 Sil MS (Restek Corporation, Palo Alto, EE.UU. de América) de 30 m de longitud x 0,25 mm de diámetro interno x 0,25 mm de espesor de la película de adsorción.

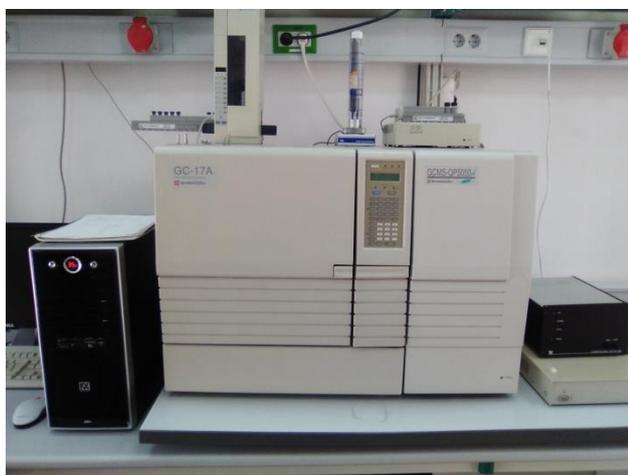


Imagen 84. Cromatógrafo de gases con detector de espectrometría de masas

Los análisis se llevaron a cabo con el siguiente programa de temperaturas en el horno del cromatógrafo: a) temperatura inicial de 80 °C, b) rampa de calentamiento de 3,0 °C/min hasta los 210 °C, que se mantuvieron durante 1 minuto, y c) rampa de 25 °C/min hasta los 300 °C y se mantuvo la temperatura durante 3 minutos (Carbonell-Barrachina *et al.*, 2016). El gas utilizado como portador fue helio con un caudal de 0,6 mL/min.

Los métodos de análisis empleados para identificar la mayoría de los compuestos fueron los siguientes: (I) los índices de retención (RI), (II) tiempos de retención de los compuestos químicos puros, y (III) los espectros de masas de los compuestos químicos auténticos y de la biblioteca espectral de la base de datos del *National Institute of Standards and Technology* (NIST05, 2015).

El análisis de la composición volátil se realizó por triplicado

### **3.7 DETERMINACIÓN DE SULFUROSO LIBRE Y TOTAL**

Se denomina dióxido de azufre total (anhídrido sulfuroso o simplemente sulfuroso) al conjunto de las distintas formas químicas de dicho compuesto presentes en el mosto y en el vino (libre y combinado). El sulfuroso libre comprende la forma no combinada de dicho gas en el mosto o en el vino, mientras que el sulfuroso combinado es aquella fracción del sulfuroso total que se halla ligada a otros compuestos presentes en la muestra, especialmente acetaldehído y azúcares. La suma de ambas representa el sulfuroso total presente en la muestra.

El anhídrido sulfuroso es el principal compuesto utilizado para la conservación de los vinos y los mostos, debido a sus propiedades antisépticas, reductoras y antioxidásicas. Estos efectos se deben, casi exclusivamente, a la fracción libre del sulfuroso. La acción antiséptica es más eficiente sobre las bacterias que sobre las levaduras. En el mosto, antes de fermentar, realiza una selección de la microflora disminuyendo de forma importante la de bacterias, y realizando una selección de la población de levaduras favoreciendo a las de fermentación "más limpia" y de mayor efectividad fermentativa. El efecto reductor o de protección de ciertos componentes del mosto y del vino frente a la oxidación, tiene especial importancia en el caso de

vendimias atacadas por podredumbre. La acción antioxidásica se refiere a su efecto desnaturizador sobre las enzimas oxidásicas: polifenoloxidasa (tirosinasa) y lacasa.

Su determinación periódica nos informa sobre el contenido en sulfuroso, que es importante por un lado para no dejar desprotegido al vino de sulfuroso libre, y por otra, no sobrepasar los límites legales de sulfuroso total. Hay que hacer notar que la información exclusiva del sulfuroso total no nos permite conocer el nivel de protección del vino, ya que no tiene relación alguna con la cantidad de forma libre.

La determinación de Sulfuroso libre y total se realiza con un Titrador Crison, modelo Titromatic 1 S mediante el siguiente procedimiento:

Dosificar con la pipeta de 25 mL de doble enrasedado en dos vasos de precipitados de 100 mL. Uno servirá para la determinación de sulfuroso libre y el otro para la del sulfuroso total. A una de las muestras adicionarle 5 mL de NaOH 2N y dejar un tiempo de reacción de 10 minutos. El otro vaso colocarlo directamente en el titrador y correr el método de análisis "Sulfuroso Total". El equipo nos dará directamente tras la valoración el contenido en sulfuroso libre en ppm. Cuando hayan transcurrido los 10 minutos procederemos del mismo modo que en el caso anterior dándonos esta vez el contenido en sulfuroso total (libre + combinado) también en ppm.

Los reactivos que se utilizaron para este tipo de análisis y que deberemos controlar que estén en cantidad suficiente y en buen estado son:

- $\text{H}_2\text{SO}_4$  25%; preparado comercial.
- KI 100g/L; se prepara pesando 100 g de KI y disolviéndolo en un matraz aforado de 1000 mL.
- NaOH 2N; preparado comercial.
- $\text{I}_2$  0.02N; preparado comercial. Antes de su uso debemos saturarlo con KI (30 g/L).

### **3.8 DETERMINACIÓN DE LA ACIDEZ VOLÁTIL**

La acidez volátil está constituida por los ácidos orgánicos de la serie acética (acético, fórmico, butírico, etc.) presentes en la muestra en estado libre o en cualquier

estado de salificación. El anhídrido sulfuroso libre y el combinado, presentes normalmente en los vinos, así como el ácido sórbico, localizado eventualmente, introducen errores por exceso en los resultados finales.

La acidez volátil de los vinos es un parámetro fundamental en el control de la calidad, e incluso existe una estricta normativa respecto a la cantidad máxima autorizada en los mismos para su comercialización.

Durante el desarrollo normal de la fermentación alcohólica se genera una pequeña cantidad natural de acidez volátil debida a diferentes causas: químicas (dismutación del acetaldehído), biológicas (naturaleza de las levaduras, composición del mosto) y tecnológicas (operaciones prefermentativas aplicadas y condiciones de la fermentación). En la práctica esta cantidad es pequeña y está comprendida entre 0, 1 y 0,3 g/L de ácido acético. A ello habría que añadir 0, 1 g/L más cuando se desarrolle la fermentación maloláctica en los vinos en los que se desarrolle.

Unos niveles excesivamente altos de acidez volátil pueden deberse a varias causas, entre las que podemos destacar la utilización de uvas afectadas de podredumbre, el desarrollo anómalo de la fermentación alcohólica (paradas de la fermentación fundamentalmente), ataques de bacterias acéticas sobre el "sombbrero" en la elaboración de los vinos tintos, en los vinos acabados, y en el proceso de crianza y envejecimiento de los vinos. Hay que destacar que la "crianza bajo velo" del vino conduce a un descenso, a veces muy significativo, de este parámetro enológico.

Existe un límite legal del contenido en acidez volátil de un vino que impide su comercialización, y que es de 1 g/L ácido acético en blancos y rosados secos, y de 1,2 g/L en tintos y dulces. Sin embargo, puede considerarse como un límite de seguridad el intervalo comprendido entre 0,5-0,6 g/L de ácido acético.

El material utilizado para la determinación de la Acidez volátil fue el siguiente:

- Equipo de destilación de García Tena que consta de un matraz de fondo redondo de 60 ml, un refrigerante y dos probetas de distintos volúmenes para la recepción del destilado (5,1 y 3,2 ml respectivamente).
- Mechero de alcohol.

- Disolución de fenolftaleína al 1%.
- NaOH N/49.

Procedimiento seguido:

Se vierten 11 mL de vino en el matraz de destilación, se coloca la probeta de recepción de mayor tamaño y se calienta suavemente con el mechero. Una vez alcanzado el volumen de la señal (5,1 mL) se sitúa la segunda probeta, en la que se recoge destilado hasta los 3,2 mL señalados.

El contenido de la probeta de 5,1 mL se desecha y los 3,2 mL de la otra se introducen en un matraz erlenmeyer de 100 mL. La probeta se lava con una pequeña cantidad de agua destilada (5 mL aproximadamente), se añaden también al matraz de valoración y finalmente se agregan unas gotas de fenolftaleína. A continuación, se agregan desde la bureta NaOH N/49 hasta viraje del indicador a color rosa. Sea N el volumen (mL) de NaOH gastados en dicha valoración.



Imagen 85. Equipo medición acidez volátil

Expresión de los Resultados:

$$\text{Acidez Volátil (g/L ácido acético)} = 0.366 \text{ N}$$

Debido a las condiciones de la destilación en este método tiene especial importancia la limpieza del equipo entre los análisis. Para ello, inmediatamente después de recoger el último destilado (3,2 mL), se retira el mechero y a la vez se coloca agua destilada a la salida del serpentín. Inmediatamente se produce la succión de agua que limpia el serpentín y que se recoge en el matraz de la destilación.

### 3.9 DETERMINACIÓN DE NITRÓGENO FÁCILMENTE ASIMILABLE (NFA)

El objetivo es determinar el nitrógeno amónico y amoniacal en el mosto y vino. Las funciones amínicas de los aminoácidos se bloquean con la adición de aldehído fórmico y los grupos carboxílicos que quedan libres se valoran por acidimetría. La cantidad mínima de NFA para la fermentación de un mosto es de 150 mg/L pero para el desarrollo óptimo de las habilidades de las cepas de levadura conviene asegurar 250 mg/L. Las dosis máximas legales de 30 g/HL de sales amoniacaes (sulfato o fosfato) solamente consiguen un aumento de 70 mg/L de NFA, por esta razón, se recomienda la utilización de nutrientes complejos debido a los compuestos liberados por lisis de las paredes y del citoplasma de las células inactivas de levadura (manoproteínas, aminoácidos y vitaminas).

El material necesario es el siguiente:

- NaOH 2N
- NaOH 0.1N
- H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30%
- Formaldehído 37% con pH corregido a 7'0 (preparado comercialmente y estabilizado con metanol)

Procedimiento a seguir:

En primer lugar, medir cada día el pH del formaldehído comercial, y establecer en el método "2-Titración PF" del titrador Crison, el valor que nos de cómo punto final de pH de valoración. Dosificar en un vaso de precipitados 50 mL de vino, añadir 25 µL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y llevar a pH igual que el determinado en el formaldehído adicionando NaOH 2N hasta un punto cercano al final, y ayudándonos del Titrador-Crison con el método "2-Titración PF" hasta alcanzar el punto final. Adicionar 20 mL de formaldehído y esperar 2 minutos. Transcurrido este tiempo hacer una valoración con el método "2-Titración PF". Anotar el volumen en mL gastado en la valoración (N).

Cálculos y expresión de los resultados:

$$\text{NFA (mg/L)} = N * 28$$

### **3.10 DETERMINACIÓN DE AZÚCARES REDUCTORES**

Los análisis se encargaron al Laboratorio Enológico de Jumilla, del Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agrario y Alimentario (IMIDA), dependiente de la Consejería de Agua, Agricultura y Medio Ambiente de la Región de Murcia, para lo que se enviaron seis muestras de los vinos elaborados, una vez embotellados, correspondientes a los seis depósitos utilizados.

### **3.11 DETERMINACIÓN DE OCRATOXINA A (OTA)**

Se tomaron dos muestras, una de cada tipo de vino, para analizar la posible presencia de Ocratoxina A (OTA), que superara los límites legalmente permitidos de 2 µg/Kg. Hay diversos estudios que afirman que la presencia de este tipo de micotoxinas es mayor en vinos especiales elaborados a partir de uvas pasificadas, como es el caso de los estudiados en este Trabajo Fin de Máster.

Las muestras de vino se tomaron en la parte final de la fermentación, (14 de octubre), puesto que este proceso no afecta a la variación de los posibles niveles de OTA, si la uva ya viene contaminada antes de su procesamiento.

Los análisis se realizaron por parte de Fito Soil Laboratorios S.L. El método empleado fue el de determinación de ocratoxina en vino con clean up con columna de inmunofinidad y determinación por cromatografía de líquidos y detector de masas/masas.

### **3.12 EVALUACIÓN SENSORIAL**

Se llevaron a cabo una serie de catas descriptivas, sobre una ficha entregada previamente a los catadores, para que evaluaran los vinos en función de unas

características, divididas en tres grandes grupos que hacían referencia a la vista, la nariz y la boca, con una conclusión final sobre la calidad apreciada, y la posibilidad de añadir comentarios.

Los seis tipos de vino se numeraron con unos códigos para que los catadores no identificaran previamente la procedencia de cada uno de ellos. Se realizaron tres sesiones de catas distintas con personas de diferentes perfiles, en Bodegas del Rosario de Bullas, en la Escuela Politécnica Superior de Orihuela, y en la Universidad Miguel Hernández de Elche.



Imágenes 86, 87, 88. Sesiones de cata de los seis vinos Malvasía

# 4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

## 4.1 CONTROL DE SOBREMADURACIÓN DE LA UVA

La desecación natural se practica dejando a las uvas el mayor tiempo posible en la planta. Las bayas se agotan perdiendo progresivamente el agua de su constitución. La sobremaduración es una prolongación natural del fenómeno de maduración, diferenciándose de ésta en el aspecto fisiológico. El envejecimiento de los tejidos vasculares del escobajo aísla progresivamente a las uvas del resto de la planta. Se produce como consecuencia una disminución del volumen de la cosecha, pues la pérdida de agua por evaporación ya no se compensa con los aportes de las raíces. La sobremaduración se caracteriza también por un aumento del metabolismo fermentario y de la actividad alcohol deshidrogenasa (*Terrier y otros, 1996*).

Asimismo durante la maduración de la uva, la concentración de azúcares y potasio aumenta, mientras que por el contrario, el contenido de ácidos orgánicos disminuye (*Ollat et al.; 2002*)

Durante todo el proceso de sobremaduración de las uvas se controla su evolución mediante diferentes muestreos. En las tablas 4 y 5 se reflejan los principales datos diferenciando las uvas sobremaduradas en almacén (muestra A) de las de campo (muestra C).

FECHA	°Be	AT (gr/l)	pH
<b>26-08-2015</b>	12,20	6,23	3,39
<b>22-09-2015</b>	17,75	6,41	3,42
<b>5-10-2015</b>	19,33	7,30	3,53

Tabla 4. Evolución uva Malvasía almacén (Muestra A). 26-08: Vendimia anticipada. 5-10: Entrada en bodega

FECHA	°Be	AT (gr/l)	pH
<b>2-09-2015</b>	12,40	5,45	3,37
<b>22-09-2015</b>	14,90	4,26	3,40
<b>5-10-2015</b>	15	4,50	3,54

Tabla 5. Evolución uva Malvasía campo (Muestra C). 2-09: Vendimia normal. 5-10: Vendimia tardía y entrada en bodega

Con respecto a los azúcares se comprueba que en la muestra A aumentan con mayor rapidez dando unos niveles finales considerablemente más elevados en el momento de ser vinificadas. La acidez total, medida en gr/l de ácido tartárico, sigue una evolución positiva en la muestra A mientras que en la muestra C va descendiendo paulatinamente. Durante el proceso de pasificación, la pérdida de agua del grano de uva ocasiona el aumento de la concentración de las sustancias disueltas en el mosto que se obtiene de las uvas. Se produce, por lo tanto, en la muestra A un aumento de las concentraciones de los compuestos químicos mayoritarios de la uva, azúcares y ácidos, aunque en proporciones diferentes, sin embargo, en la muestra C los ácidos disminuyen su concentración. Este diferente comportamiento se justifica por las transformaciones que los ácidos experimentan en función de la actividad enzimática de la uva, que a su vez depende de su estado fisiológico y de la temperatura. Está descrito que la acidez aumenta en menor medida que los azúcares, debido a la pérdida de agua y al consumo de ácido málico (Flanzy, 2000, Bellincontro et al., 2004).

Según Franco et al., (2004) los valores de la acidez titulable y el pH aumentan en la misma proporción que disminuye el contenido en agua. En nuestras muestras de uva la acidez aumenta en menor medida que los azúcares en la muestra A, debido a la pérdida de agua, mientras que en la muestra C disminuye debido el consumo de ácido málico como combustible en el proceso respiratorio de la planta como consecuencia del mantenimiento de los racimos en la cepa.

La sobremaduración de las uvas implica también una importante reducción de peso que en el caso de las pasificadas en almacén supuso una pérdida del 44%, (Tabla 6), observándose que la piel de la uva se arruga progresivamente, se pardea y pierde elasticidad. Se vendimiaron un total de 166 cepas con una producción media de 4 kgs de uva por planta

<b>FECHA</b>	<b>KGS</b>
<b>26-Agosto</b>	<b>662,65</b>
<b>5-October</b>	<b>372,72</b>

Tabla 6. Malvasía almacén. 26-08: Vendimia anticipada.5-10: Entrada en bodega

La mayor fluctuación de humedad y temperatura de las uvas dejadas en las cepas así como las importantes precipitaciones ocurridas entre el 12 y el 14 de septiembre, que contribuyeron a que los racimos tomaran agua a través de las raíces de la cepa, minimizaron en cierta medida el proceso de deshidratación de los granos. En este caso la vendimia tardía, realizada el 5 de octubre sobre 165 cepas dio una producción total de 462 kgs, lo que supone una producción media de 2,8 kgs de uva por planta. Si se estima como dato de referencia para una producción normal de estas viñas los 4 kgs/cepa, se comprueba que, en este caso, la reducción de peso por pasificación fue menor, del orden de un 30%.

## 4.2 VINIFICACIÓN

### 4.2.1. Evaluación de parámetros enológicos

A la entrada de las uvas en bodega, tras su despalillado y estrujado, se realizó un análisis inicial de los mostos obtenidos (Tabla 7). Se observa que la muestra A tiene unos datos de densidad, °Be, y acidez total considerablemente más altos que la muestra C. Los pH, sin embargo son prácticamente iguales.

	Densidad (g / cm <sup>3</sup> )	Tª (°C)	°Be	AT (g/L)A.T.	pH	AV	SO <sub>2</sub> L (mg/L)	SO <sub>2</sub> T (mg/L)	NFA (mg/L)
<b>Muestra A</b>	1154	23,0	19,3	7,30	3,53	-	23	49	159,6
<b>Muestra C</b>	1117	22,,9	15,0	4,50	3,54	-	10	32	123,6

Tabla 7. Análisis inicial de los depósitos. Muestra A: Malvasía almacén; Muestra C: Malvasía campo

Con el mosto de las uvas sobremaduradas en almacén, se llenaron tres depósitos (identificados como A1, A2, A3), al igual que con el mosto procedente de las uvas sobremaduradas en campo (C1, C2, C3), previa adición de una enzima pectolítica, que se dejó actuar durante 12 horas. Los mostos de los diferentes depósitos presentaban diferencias apreciables en cuanto a sus niveles de turbidez, incrementándose de A1 a A3 y de C1 a C3, es decir, los mostos más limpios eran los de los depósitos A1 y C1 mientras que los más turbios eran el A3 y C3.

Desde el encubado hasta la finalización de la fermentación, se muestrearon diariamente los seis depósitos para controlar su evolución, controlando los parámetros fundamentales, reflejando sus promedios en los siguientes gráficos:

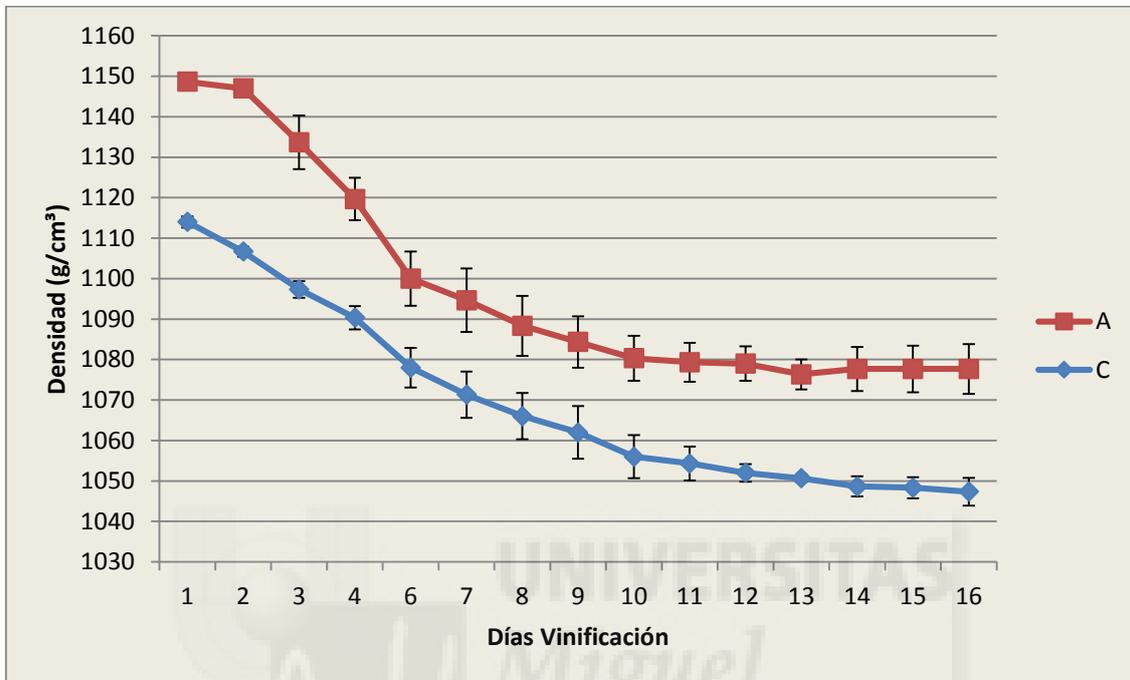


Gráfico 2. Evolución de la densidad durante la vinificación. Malvasía almacén (A) y campo (C)

Partiendo de una densidad más elevada en los depósitos A, y debido a un mayor nivel de concentración de los azúcares de sus uvas, se observa que el arranque de la fermentación parece algo más dificultoso. Efectivamente, las altas concentraciones azucaradas pueden complicar el inicio de la fermentación debido a la elevada presión osmótica en el medio. Este estrés osmótico puede provocar una inhibición en el crecimiento celular e incluso la lisis de muchos microorganismos inadaptados. El resultado puede ser el de fermentaciones lentas o incluso paradas de fermentación (Coulter et al., 2008). En nuestras vinificaciones se emplearon levaduras específicas con un alto grado de adaptación a mostos con elevados niveles de azúcares. Además, tras la adición de un nutriente orgánico con Nitrógeno fácilmente asimilable, en la primera fase en los depósitos A, se produjo una caída de densidad más intensa y rápida, mientras que en los depósitos C esa disminución de densidad es más moderada. Es evidente que la mayor cantidad de azúcares presentes en los mostos de los depósitos tipo A, en los primeros días del proceso fermentativo,

favorecen, con una nutrición adecuada, un rápido desarrollo de las levaduras y de su actividad.

Durante la fase intermedia de fermentación, la cinética de ambos tipos de depósito es muy similar, para terminar en los últimos días con una estabilización en los depósitos A y un descenso suave de la densidad en los depósitos C.

Analizando la desviación estándar de los datos se comprueba que las diferencias de parámetros, en lo referente a la densidad, entre las muestras procedentes de los dos tipos de uva (almacén y campo), son significativas.

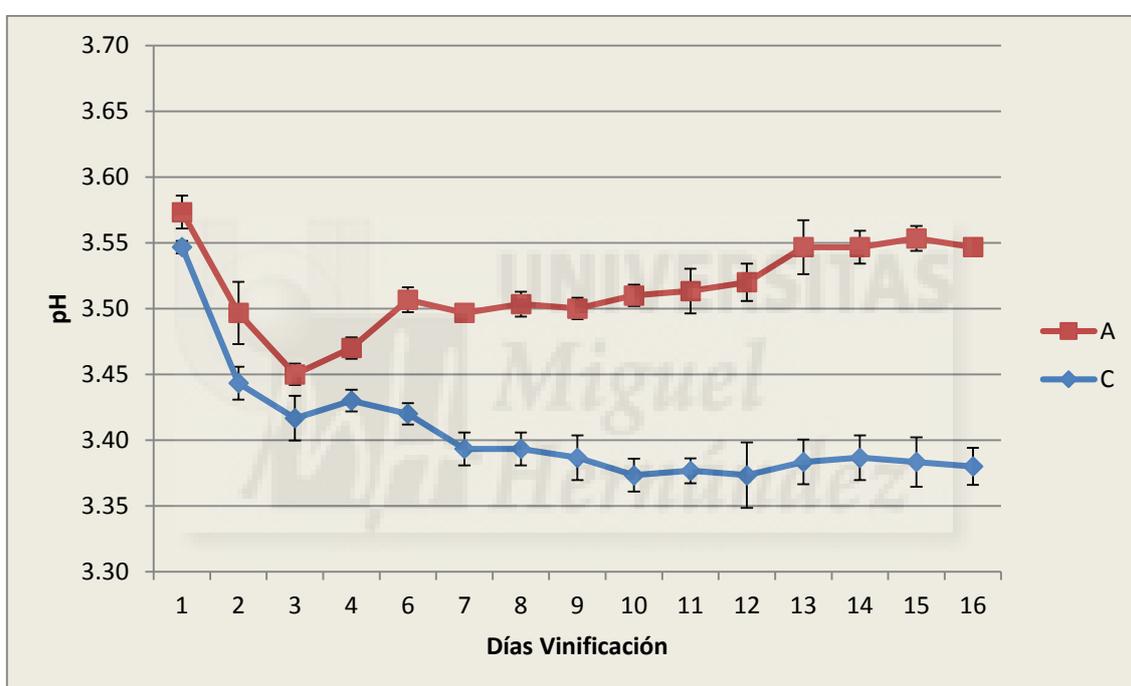


Gráfico 3. Evolución del pH durante la vinificación. Malvasía almacén (A) y campo (C)

Igualmente, la desviación estándar de los pH obtenidos durante la vinificación, también nos indica que las diferencias entre los mostos-vinos procedentes de las uvas de almacén y las de campo son significativas. En el gráfico 3 se observa como en los primeros días, los pH de ambos tipos de mostos, que parten de unos valores similares, descienden considerablemente ya que al inicio de la fermentación se produce normalmente una acidificación del medio debido principalmente al metabolismo de las levaduras. Sin embargo a partir del cuarto día de vinificación, la evolución de ambos tipos de mosto es distinta, ocasionándose en los siguientes días una tendencia a incrementarse en el caso de las muestras A, y un descenso suave en las muestras C,

aunque al final de la fermentación tienden a estabilizarse. Según *Hale (1981)*, el aumento de pH está directamente relacionado con la baja acidez, pero también con la mayor acumulación de potasio debido al incremento de las temperaturas durante la maduración de la uva. Por tanto, estas diferencias en la evolución de los pH pueden estar condicionadas por un menor contenido de humedad en las uvas pasificadas en almacén lo que implica una mayor concentración de cationes potasio. Las uvas que se han pasificado a cubierto no han sufrido tanta fluctuación de temperatura y de humedad entre el día y la noche como las que se dejaron en las cepas. Además hay que tener en cuenta que durante el proceso de sobremaduración hubo un episodio de precipitaciones de cierta importancia que pudieron contribuir a unos mayores niveles de humedad de las uvas que permanecían en el campo.

Es importante señalar que la acidez total es un dato que hace referencia a la totalidad de ácidos que pueden estar presentes en los mostos tanto libres como salificados, mientras que el pH nos indica los contenidos en iones  $H^+$  de las disoluciones (*Moreno Vigara, J.J. et al., 2010*) Así, una disolución ácida es aquella que contiene una concentración de  $H^+$  mayor que la del agua pura, de modo que el  $pH < 7$ . Una disolución neutra tendrá igual concentración de  $H^+$  que el agua pura y por tanto el  $pH = 7$ . En una disolución básica la concentración de  $H^+$  es menor que la del agua pura y el  $pH > 7$ . Es, por tanto un indicador más exacto sobre la acidez real de ese mosto-vino. En las muestras C se encuentran mayor cantidad de ácidos libres y menos salificados unidos al catión potasio, mientras que en las muestras A hay una mayor concentración de potasio que al unirse a los ácidos los salifica. Esto explica, como se verá más adelante en los datos sobre ácidos, que los mostos con una mayor acidez total (medida en g/L de ácido tartárico) correspondientes a las uvas sobremaduradas en almacén, terminan siendo los vinos que tienen un mayor pH, mientras que los mostos de las uvas dejadas en las cepas tienen una acidez total más baja y también, una vez transformados en vino, un pH menor.

El aumento del pH y de la capacidad tampón (*Peinado et al., 2009*) de los mostos procedentes de la uva de almacén, a lo largo del proceso, puede ser debido también a un aumento en el porcentaje de salificación del ácido tartárico (*Moreno y Peinado, 2010*).

Existe asimismo la posibilidad de que durante el proceso de deshidratación de las uvas del almacén se haya producido una mayor degradación enzimática de las paredes celulares, lo que da lugar a una mayor extracción de potasio en el procesado de la uva, pasando a los mostos y produciendo, por lo tanto, una salificación mayor que en los procedentes de las uvas pasificadas en la cepa.

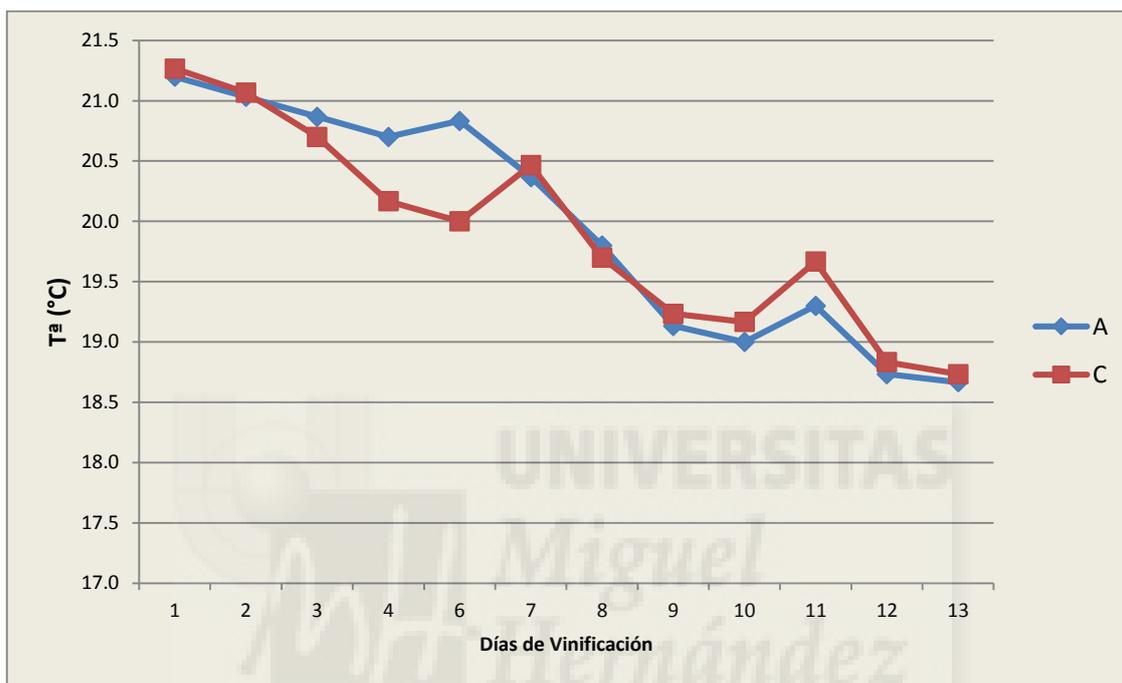


Gráfico 4. Evolución de las Temperaturas durante la vinificación. Malvasía almacén (A) y campo(C)

Las temperaturas idóneas de fermentación para vinos blancos oscilan entre los 16-18 °C, lo que permite obtener vinos con un mayor contenido aromático. Temperaturas superiores a 20°C implican una pérdida de compuestos volátiles y una formación de menor cantidad de ésteres etílicos y acetatos de alcoholes superiores (Ribéreau-Gayon, P, et al.; 1998). En nuestro caso, las temperaturas siguieron una tendencia similar descendente en todos los depósitos, durante los días que duró la fermentación, con una media que osciló entre los 19,8-20,1°C, algo por encima de lo deseable. En el gráfico 4 podemos apreciar la evolución de las temperaturas promedio de los dos tipos de uvas elaboradas.

La fermentación de los depósitos A1, A2 y A3 se decidió parar con una densidad de 1080, mientras que los depósitos C1, C2 y C3 se detuvieron con una densidad de

1050. El objetivo era buscar una graduación alcohólica final similar, entre 9 y 10 % alcohol. Para llegar a este punto, la duración de la fermentación fue de unos 13 días de media en la mayoría de los depósitos.

DEPÓSITOS	A1	A2	A3	C1	C2	C3
$\rho$ FINAL gr/cm <sup>3</sup>	1085	1078	1070	1044	1046	1052

Tabla 8. Densidades finales antes de filtración y embotellado.

## 4.3 EVOLUCIÓN DE LOS MOSTOS Y VINOS

### 4.3.1. Ácidos

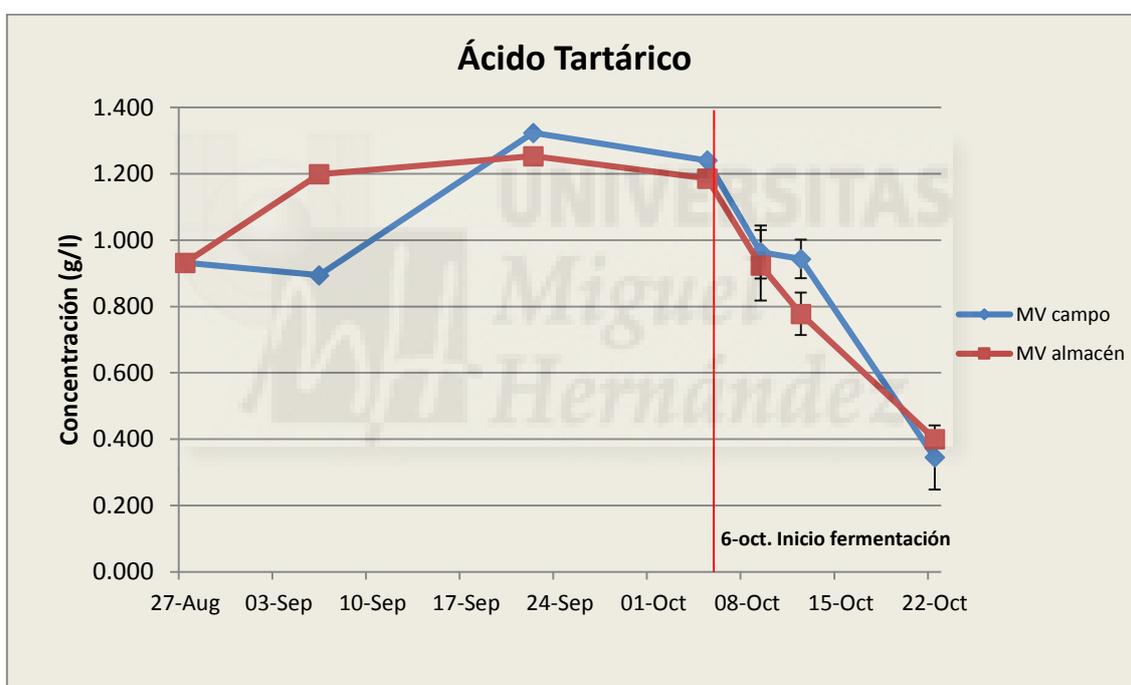


Gráfico 5. Evolución del ácido tartárico en Malvasía (MV) campo y Malvasía (MV) almacén

Tanto la acidez como el pH son dos aspectos fundamentales para la calidad sensorial del vino, modificando de manera significativa su estructura y equilibrio. La acidez total del vino está representada por el ácido tartárico, que es el mayoritario en la uva y el vino, aunque también contribuyen en menor medida el ácido málico, el ácido cítrico y el ácido láctico. Algunos de estos ácidos proceden de la uva (tartárico, málico y cítrico), mientras que otros son sintetizados durante la fermentación (láctico, acético, succínico, pirúvico), (Moreno Vigar, J.J. et al., 2010).

El contenido total de ácidos orgánicos en el vino dependen del grado de maduración de la uva (*Moreno-Arribas y Polo, 2009*). Los vinos obtenidos a partir de uvas sobremaduras suelen tener menos de 5 gr/L de ácidos orgánicos totales.

El ácido tartárico es el ácido más importante de la uva y del vino, y aunque se encuentra en otros vegetales, solo la uva lo contiene en cantidades considerables. La concentración normal en los vinos oscila entre 1,2 y 4,8 g/l. (*Flanzy, 2000*).

La concentración de ácido tartárico de **MV campo** (uva Malvasía sobremadura en campo) sufre un descenso hasta la fecha normal de vendimia, es decir, hasta su punto adecuado de madurez. A partir de ese momento, y durante la primera etapa de sobremaduración en la cepa, se incrementa notablemente su concentración, para ir descendiendo paulatinamente hasta el momento de su vendimia tardía. En el caso de **MV almacén** (uva Malvasía sobremadura en almacén) la concentración de este ácido se incrementa de forma notable desde el momento de su vendimia temprana (26 de agosto), especialmente en los primeros diez días de su pasificación a cubierto, aumentando de forma más moderada dicha concentración en las siguientes dos semanas. Finalmente en los últimos días antes de ser procesada sufre un ligero descenso. En ambos casos una vez iniciada la fermentación alcohólica, y a medida que el contenido en etanol aumenta, se produce una caída constante y acentuada del contenido en ácido tartárico gracias a la disminución de la solubilidad de su sal, el bitartrato potásico, hasta llegar, al final de la misma, a una concentración similar, sin diferencias estadísticamente significativas, para ambos tipos de vinos, siendo algo más elevada en el vino procedente de las uvas de almacén. En condiciones normales, la concentración de ácido tartárico permanece relativamente constante una vez finalizado el envero y hasta la vendimia, aunque es posible observar fluctuaciones de sus contenidos durante la maduración (*Moreno Vigara, J.J. et al., 2010*). En nuestro caso, la deshidratación de las uvas durante su pasificación tanto en campo como en almacén, determina de forma clara el aumento de la concentración, especialmente en la primera fase de pasificación, adelantada en el caso de la uva vendimiada de forma anticipada, para descender algo durante los últimos días antes de ser procesada.

La concentración de ácido tartárico al final de la maduración suele estar comprendida entre 3,5 y 11 g/l, dependiendo de la variedad y sobre todo del aporte hídrico de la vid, quedando baja, en las Malvasías estudiadas, dicha concentración.

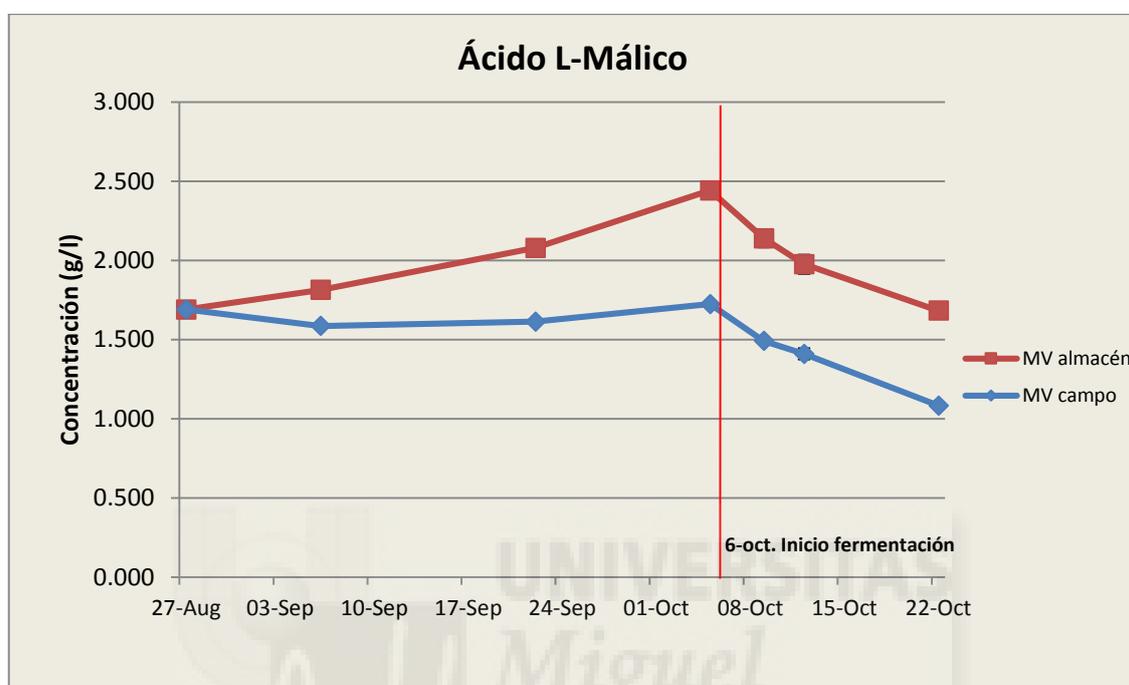


Gráfico 6. Evolución del ácido L-Málico en Malvasía (MV) campo y Malvasía (MV) almacén

La concentración de ácido málico en uvas maduras depende en gran medida de la variedad y de la temperatura. En zonas frías puede superar los 8 g/l, mientras que en zonas cálidas se encuentra entre 1 y 2 g/l. En el caso de los vinos la concentración normal puede oscilar entre 0,16 y 5,20 g/l (Flanzy, 2000). El ácido málico en principio alcanza un máximo en el invierno disminuyendo durante la maduración. En esta disminución tiene gran influencia la temperatura, ya que a medida que esta aumenta lo hacen también las necesidades energéticas y las células de la uva recurren al ácido málico almacenado (Moreno Vigara, J.J. et al., 2010).

El ácido orgánico más afectado por las altas temperaturas es el ácido málico que se consume durante la respiración de la planta (Huglin y Schneider, 1998; Jones, 2007).

En **MV almacén** la concentración de ácido málico se va incrementando desde su vendimia temprana hasta el momento del procesado de la uva. La deshidratación que se produce a lo largo de su estancia en el almacén determina su aumento.

En **MV campo** la concentración va disminuyendo en la última fase de maduración en campo, debido, como se indica antes, a las necesidades energéticas, fundamentalmente por parte del proceso de respiración. Durante el tiempo que la uva permanece en la cepa la tendencia del ácido málico es a irse consumiendo, siendo esta caída compensada en parte por la pasificación de las uvas que determinan un aumento de la concentración del mismo.

Se comprueba que las altas temperaturas inducen una mayor tasa de respiración en la planta (*Pallioti et al., 2005*), lo que intensifica la degradación de ácidos orgánicos (*Hidalgo, 2006*). Efectivamente al incrementarse la temperatura, la demanda evaporativa de la atmósfera hace que las bayas se deshidraten (Keller, 2009).

En ambos casos, arrancada la fermentación, se inicia un descenso continuo y similar de málico, siendo en todo momento, la concentración, primero en mosto y luego en vino, una vez analizada la desviación estándar, significativamente mayor en las uvas pasificadas en almacén.

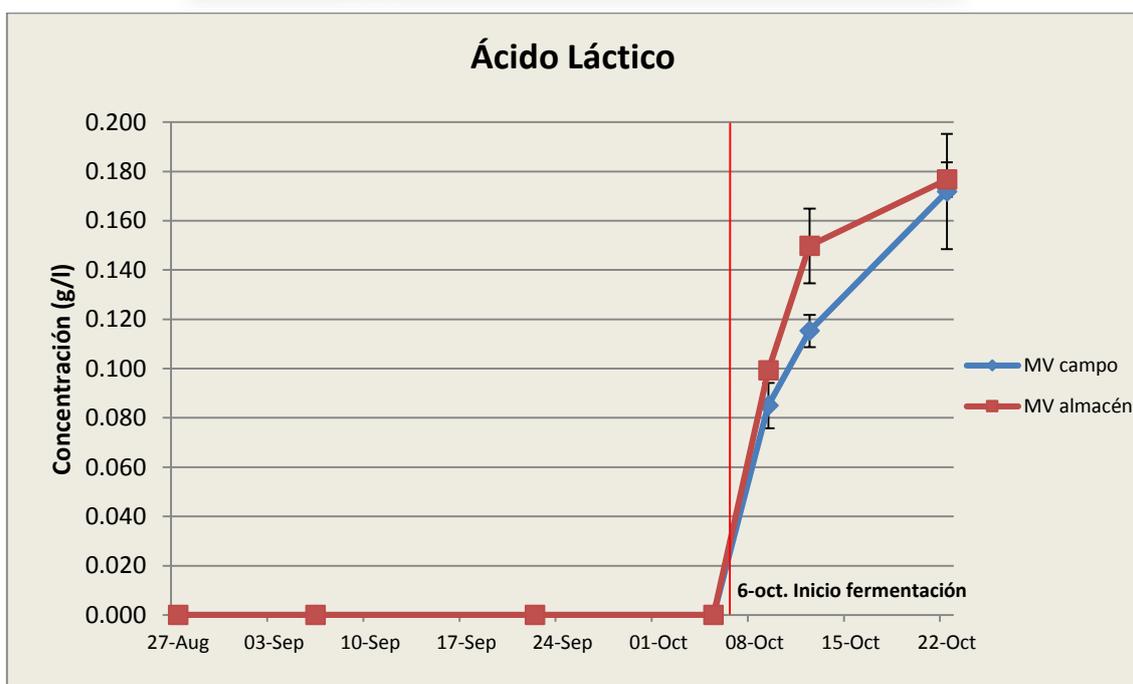


Gráfico 7. Evolución del ácido láctico en Malvasía (MV) campo y Malvasía (MV) almacén

El ácido láctico se produce en pequeñas cantidades durante la fermentación alcohólica. Sus contenidos son importantes en los vinos tintos como consecuencia de la fermentación maloláctica. Sin embargo, en los vinos blancos, por regla general, no es deseable la fermentación maloláctica ya que el ácido málico que aporta frescor, se sustituiría por el ácido láctico, un ácido más suave y cálido al paladar. La aparición del láctico es debida principalmente a la acción de las bacterias lácticas que pueden metabolizar la glucosa mediante la fermentación homoláctica o mediante la fermentación heteroláctica. (Moreno Vigara, J.J. et al., 2010). La concentración normal de láctico en los vinos varía entre  $4 \cdot 10^{-2}$  y  $4,2$  g/l (Flanzy, 2000).

En el gráfico 7 se observa como en ambos casos, el láctico aparece a partir del comienzo de la fermentación alcohólica, siguiendo un incremento similar, con una mayor velocidad de formación en el mosto de **MV almacén** en la fase inicial fermentativa, quizás debido a una mayor actividad de las bacterias lácticas, pero sin diferencias estadísticamente significativas finales con respecto a **MV campo** obteniéndose a la parada de fermentación valores casi iguales para los dos tipos de vinos.

Algunos autores señalan que concentraciones de ácido L (+) láctico superiores a 100 mg/L, pueden indicar la existencia de fermentación maloláctica (Suarez Lepe J.A. et al., 2004)

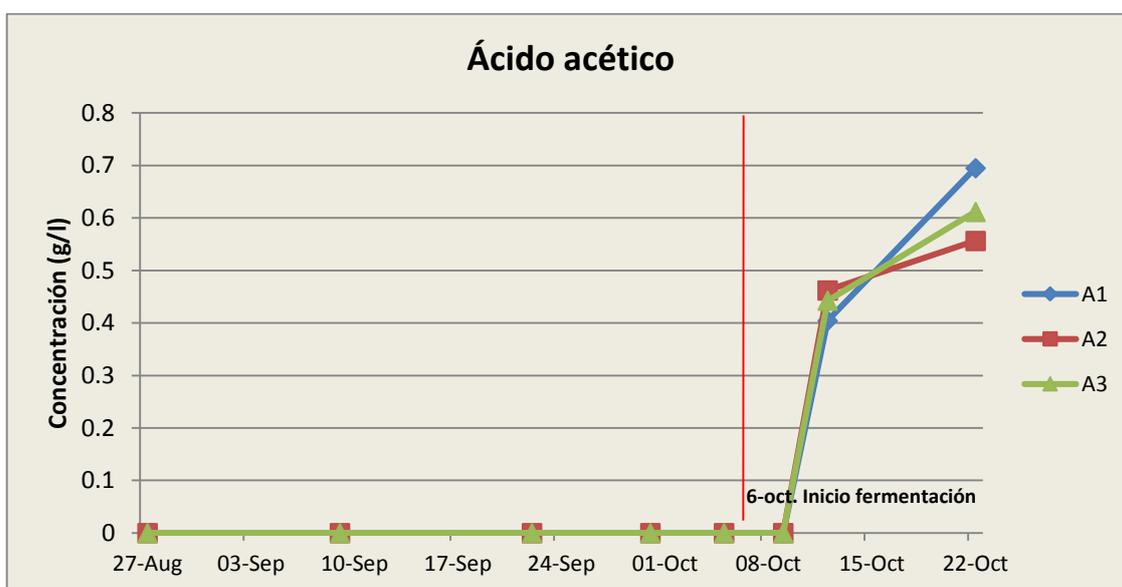


Gráfico 8. Evolución del ácido acético en uvas y mostos procedentes de Malvasía almacén; Depósitos A1, A2 y A3

El ácido acético es el componente principal de la acidez volátil y ejerce una gran influencia sobre la calidad del vino (*Vilela-Moura et al., 2008*). Es considerado un defecto sensorial cuando supera los 0,8 g/L (*Maicas et al., 1999*). Su concentración en los vinos secos normalmente varía entre 0,1-0,5 g/L, mientras que en los vinos dulces puede llegar a ser considerablemente más elevada. Su umbral de percepción varía en el rango 0,7-1.0 g/L (*Lambrechts y Pretorius, 2000*). Una de sus principales contribuciones es la de generar ésteres afrutados que mejoran el perfil aromático del vino (*Jackson, 2008*). En las vinificaciones a partir de uvas sanas, sin contaminación por *Botrytis cinerea*, este ácido es producido por las levaduras durante la fermentación alcohólica, en diferentes concentraciones dependiendo de la especie y la cepa de levadura empleada (*Shimazu y Watanabe, 1981*). Aunque también es sintetizado por las bacterias lácticas y acéticas (*Moreno-Arribas y Polo, 2009*).

Los mostos que contienen concentraciones de azúcares superiores a 300 g/l, presentan una elevada presión osmótica la cual influye negativamente sobre el crecimiento y la capacidad fermentativa de las levaduras. Este efecto se ve incrementado con la formación de alcohol, ya que éste inhibe el crecimiento de las levaduras y en ciertas ocasiones se incrementa la formación de ácido acético por estos microorganismos. La tolerancia a altas concentraciones varía de una especie a otra. (*Moreno Vigara J. J. et al., 2010*)

Los altos valores de acidez volátil encontrados son normales en la elaboración de vinos dulces, ya que las levaduras producen mayores cantidades de ácido acético como resultado del proceso de mantener el equilibrio redox en respuesta al estrés osmótico impuesto por los altos niveles de azúcar (*Nurgel et al., 2004*). De este modo, el mayor valor encontrado en los vinos producidos a partir de la uva de almacén pudo ser debido al mayor contenido en azúcares.

Bajo estas condiciones de estrés osmótico, las levaduras expresan los genes que regulan la glucólisis y la ruta de las pentosas fosfato, incrementándose así la síntesis de subproductos de la fermentación como la glicerina y el ácido acético (*Erasmus et al., 2004*).

Existe también la posibilidad de que una parte de ese ácido acético tenga un origen accidental debido a la presencia de bacterias lácticas en el mosto y sobre todo de bacterias acéticas en la uva, aunque hay autores que indican, por ejemplo, la existencia de muchos vinos de Sauternes cuya acidez volátil, comprendida entre 1,1 y 1,6 g/L en ácido acético, ha sido formada únicamente por la levadura, sin intervención de las bacterias.

DEPÓSITOS	A1	A2	A3	C1	C2	C3
<b>Acidez Volátil (gr/L ácido acético)</b>	1,26	1,15	1,08	0,62	0,82	0,51
<b>Acidez Total (gr/L ácido tartárico)</b>	5,70	6,10	5,54	5,31	5,64	5,39

Tabla 9. Datos de acidez volátil y total en vinos

Previo al embotellado, con los vinos ya terminados, se analizó la acidez volátil y la acidez total de los seis depósitos (Tabla 9)

Durante la fermentación se produce la formación de ácido acético en los depósitos A1, A2 y A3, que se va incrementando hasta el final de la misma (Gráfico 8) Sin embargo en los depósitos C1, C2 y C3, no hay presencia detectable de acético. Estos datos se confirman posteriormente con los resultados de acidez volátil, que en los vinos procedentes de la uva de almacén es bastante elevada, mientras que en los vinos elaborados con las uvas sobremaduradas en campo, se encuentra dentro de unos límites adecuados. No hay diferencias significativas entre los distintos depósitos.

En lo referente a la acidez total, se comprueba que la vendimia temprana de las uvas permite obtener vinos con una acidez más elevada (la excepción sería el depósito C2), debido a que al separar el racimo de la cepa, detenemos el proceso de combustión de ácido málico empleado por la planta en la respiración.

### 4.3.2. Azúcares

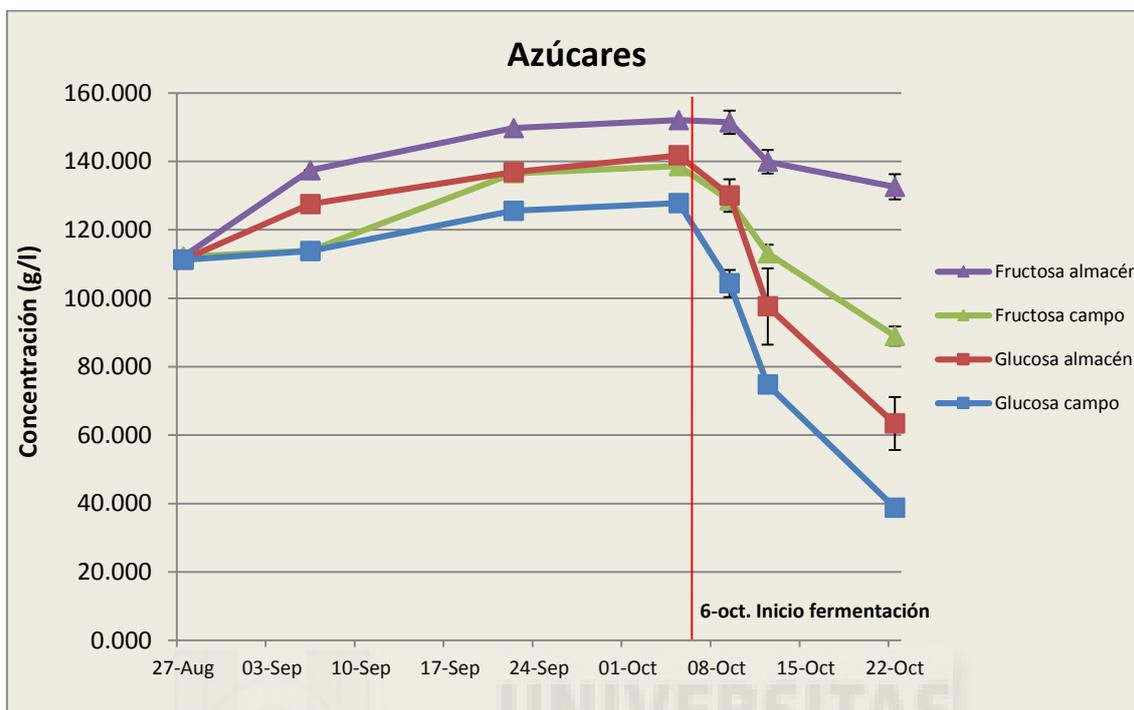


Gráfico 9. Evolución de azúcares en uvas y mostos procedentes de Malvasía de almacén y campo

Los azúcares simples fácilmente metabolizables por levaduras y bacterias son los que pertenecen al grupo de las hexosas (azúcares fermentables). Las pentosas y otros polialcoholes no son metabolizados normalmente por los microorganismos y se conocen como azúcares no fermentables.

Entre las hexosas fermentables destacan glucosa y fructosa y también manosa, mientras que la galactosa es fermentada con dificultad únicamente por ciertas levaduras. Los azúcares proceden de la fotosíntesis, proceso que se realiza en los órganos verdes que contienen clorofila. La sacarosa es la forma bajo la cual se produce, fundamentalmente, la migración desde los órganos fotosintéticos al resto de la planta. Los azúcares elaborados en las hojas se utilizan para, primero satisfacer sus necesidades y los que sobran se distribuyen a los demás órganos (yemas, pámpanos, raíces y bayas), siguiendo un orden de prioridad que es distinto según las distintas fases del ciclo vegetativo en el que se encuentre la planta. Así en la fase de crecimiento, el órgano prioritario es la extremidad de los pámpanos, mientras que desde el envero la principal prioridad se sitúa en las uvas.

Antes del envero, el contenido en azúcares de la baya no supera los 20 gramos/kg de peso fresco. Los azúcares son utilizados en la baya para el desarrollo de la misma pero sobre todo para el crecimiento de las semillas. Cerca del envero se produce una rápida acumulación de los azúcares en la baya. Durante la maduración la baya sigue acumulando azúcares, estando relacionada la concentración final con la actividad fotosintética, aunque otros factores como una elevada pluviometría, o las bajas temperaturas influyen de forma negativa en dicha acumulación (*Moreno Vigarra J. J. et al., 2010*)

Como se ha indicado anteriormente, la sacarosa es la forma en la que los azúcares migran por la planta. Sin embargo esta es hidrolizada en la baya debido a la acción de la enzima invertasa. La baya cuando funciona como órgano verde presenta una relación glucosa/fructosa G/F=4-5, (hexosas D-glucosa y D-fructosa) debido a que la fructosa es metabolizada en mayor proporción que la glucosa. Sin embargo, a medida que se aproxima el envero, la relación se aproxima a dos y disminuye a medida que la uva madura, en una relación de concentración aproximada 1:1 cuando la uva está madura, existiendo algo más de fructosa (Madurez industrial: glucosa/fructosa = 0,92-0,95).

Los altos contenidos de azúcares alcanzados en la uva durante la maduración y posteriormente en la sobremaduración, no se deben exclusivamente al proceso fotosintético, puesto que por encima de 25°C las tasas fotosintéticas disminuyen (*Huglin y Schneider, 1998*). Los incrementos en las graduaciones Brix por encima de 24 grados (aproximadamente 13% de grado alcohólico probable), son principalmente resultado de los fenómenos de evaporación que conducen a la deshidratación y consecuente concentración de la baya (*Keller, 2009*)

En los mostos estudiados se observa que, efectivamente, en la fase final de madurez de las uvas, y durante todo el proceso de sobremaduración, la cantidad de fructosa ya es algo superior a la de glucosa. El incremento de la concentración durante la sobremaduración tanto de glucosa como de fructosa es significativamente mayor en **MV almacén** que en **MV campo** así como su cantidad final al dar por terminada la

pasificación. Asimismo se mantiene para ambos tipos de mostos a lo largo del proceso una relación Glucosa/Fructosa inferior a 1.

Con el incremento de las temperaturas de los últimos años, la proporción de fructosa en las uvas es considerablemente mayor (Jones et al., 2005). Esto se relaciona con la mayor sensibilidad de la glucosa a la respiración celular, proceso metabólico que se ve potenciado precisamente por esas temperaturas más elevadas (*Pallioti et al., 2005*)

Con el inicio de la fermentación los azúcares son transformados en etanol, disminuyendo por lo tanto su concentración, con caídas mayores de la glucosa tanto en **MV almacén** como en **MV campo** debido a que es metabolizada preferiblemente por las levaduras frente a la fructosa durante la fase fermentativa.

Se observa en nuestras muestras que, en el caso de la fructosa, la caída de la concentración no es tan acentuada, observándose una mayor disminución de fructosa en **MV campo** con respecto a **MV almacén** en los últimos días antes de la parada fermentativa (Gráfico 9).

Los vinos finalmente obtenidos son catalogados como naturalmente dulces porque parte de los azúcares han sido fermentados por las levaduras, pero no totalmente. En este caso la paralización de las fermentaciones antes de que las levaduras consumieran por completo las hexosas, se consiguió mediante enfriamiento del vino hasta aproximadamente los 4°C y mediante trasiegos periódicos para eliminar las lías de fermentación. Como se ha indicado antes, dado que la glucosa es más fácilmente metabolizable, la hexosa responsable en mayor medida del sabor dulce de estos vinos será la fructosa (*Moreno Vigara J. J. et al., 2010*). Efectivamente en el gráfico 8 se observa que los contenidos de fructosa, una vez parada la fermentación, son considerablemente superiores a los de glucosa, y esto se cumple para **MV almacén** y para **MV campo**.

Cuanto mayor haya sido el período de fermentación la relación G/F será más baja. En los vinos estudiados, una vez terminados, la relación Glucosa /Fructosa para **MV almacén** ha sido de 0,48, mientras que para **MV campo** es de 0,43.

DEPÓSITOS	A1	A2	A3	C1	C2	C3
GRADO ALCOHÓLICO (% volumen)	9,71	10,34	10,77	9,50	9,38	8,76
AZÚCARES REDUCTORES (g/l)	222,9	203,7	188,6	134	130,9	133,8

Tabla 10: Análisis vinos terminados. Laboratorio Enológico de Jumilla (IMIDA)

### 4.3.3. Alcohol

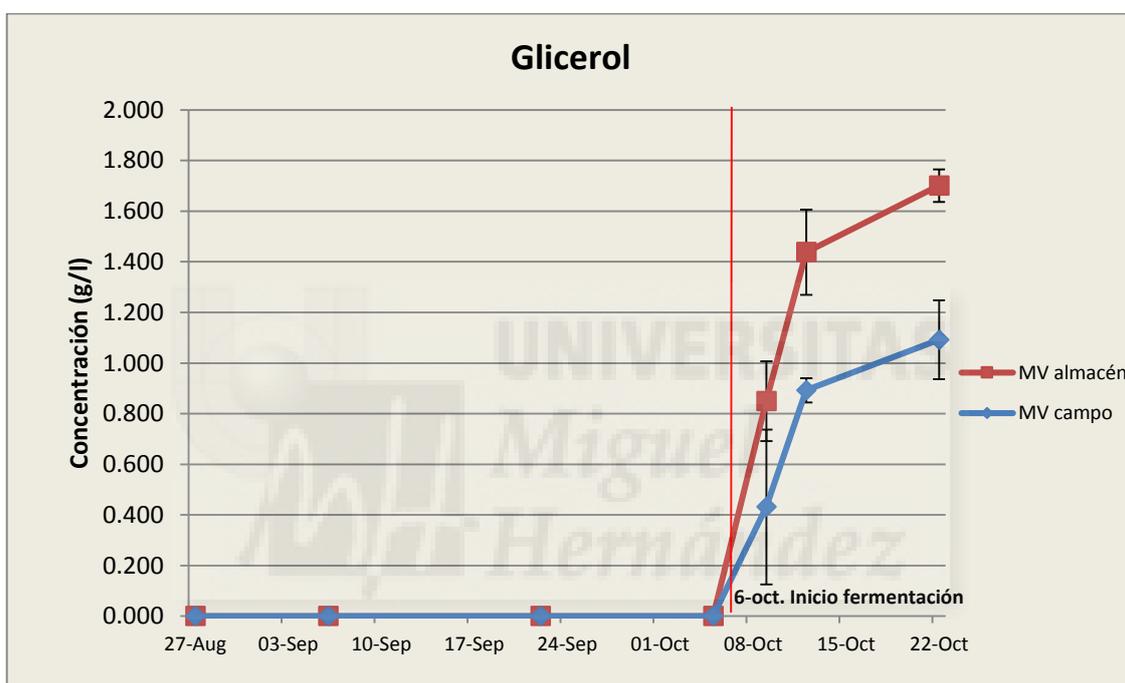


Gráfico 10. Evolución de glicerol en uvas y mostos procedentes de Malvasía de almacén y campo

El glicerol es un compuesto no volátil sin propiedades aromáticas, pero que contribuye significativamente a la calidad del vino al proporcionarle dulzor y cuerpo (Ribéreau-Gayon et al. 1972). Es el subproducto más importante de la fermentación alcohólica en cantidad, después del etanol y del dióxido de carbono. Tiene un efecto positivo en la calidad del vino. No es aromático, debido a su naturaleza no volátil, pero contribuye a la suavidad, textura y volumen de los vinos (Moreno-Arribas y Polo, 2009). Las concentraciones normales oscilan entre 6 y 10 g/L (Flanzy, 2000).

En el gráfico 10 se muestra la concentración de glicerol en vinos, que aparece procedente de la fermentación glicero-pirúvica, empezando a apreciarse diferencias

estadísticamente significativas entre los dos tipos de vinos mediada la fermentación, siendo mayor la concentración final de glicerol en **MV almacén**. La producción de glicerol es mayor cuanto más elevada sea la temperatura de fermentación. Una mayor producción de glicerol se debe también al estrés osmótico al que se ven expuestas las levaduras durante la fermentación de altos niveles de azúcar, al pH y a la cepa de levadura empleada (*Ough et al., 1972; Radler y Schutz, 1982; Gardner et al., 1993*). En ambos casos los niveles quedan por debajo de los valores considerados como normales.

#### **4.3.4. Dióxido de azufre (SO<sub>2</sub>)**

El sulfuroso molecular (SO<sub>2</sub>) y el ión bisulfito (HSO<sub>3</sub><sup>-</sup>) constituyen lo que se conoce como sulfuroso libre. La forma molecular del dióxido de azufre es la que presenta mayor carácter antiséptico, antioxidásico (protección frente a las enzimas oxidantes), y antioxidante (protección frente al oxígeno) y es conocido como sulfuroso activo.

El ión bisulfito tiene la propiedad de combinarse con moléculas que contienen grupos carbonílicos. Esta forma de sulfuroso se conoce como sulfuroso combinado, no es activo desde un punto de vista enológico y representa un elevado porcentaje en relación con el sulfuroso total. Como consecuencia de esta combinación disminuye el contenido en sulfuroso activo (*Ribéreau-Gayon P. et al., 1998*).

Los azúcares poseen la capacidad de combinarse con el dióxido de azufre. En el caso de la glucosa se admite que un gramo de glucosa combina 0,3 mg de SO<sub>2</sub>, cuando el contenido en SO<sub>2</sub> libre es aproximadamente 50 mg/L. La combinación de SO<sub>2</sub> con la fructosa es prácticamente nula (*Moreno Vígara J. J. et al., 2010*). En los vinos estudiados la cantidad de glucosa presente es muy importante por lo que las cantidades de sulfuroso que pueden combinarse deben ser tenidas en cuenta pues intervienen en la disminución del SO<sub>2</sub> libre tras el sulfitado. Las cantidades de sulfuroso empleado en todo el proceso se iniciaron con la adición de 25 mg/L de Bisulfito potásico al 15% (Bisulfite 15 de Laffort), en los mostos recién obtenidos. Finalizada la fermentación, se controlaba la evolución de las concentraciones de sulfuroso de los vinos de los seis depósitos (Tabla 11), siendo necesario corregirlos en tres ocasiones

(17, 23 y 26 de octubre) con dosis de 50 mg/L de bisulfito potásico en cada aplicación. Se comprueba, por lo tanto, que la presencia de una elevada cantidad de azúcar residual disminuye de forma considerable, las cantidades de sulfuroso libre, por combinación del mismo, necesarias para una adecuada protección de los vinos.

DEPÓSITOS						
	A1	A2	A3	C1	C2	C3
FECHA	SO <sub>2</sub> LIBRE/ TOTAL					
ANÁLISIS	(mg/L)	(mg/L)	(mg/L)	(mg/L)	(mg/L)	(mg/L)
23/10	6/56	6/53	6/53	4/62	5/60	5/56
26/10	14/100	14/104	7/93	8/95	9/102	8/98

Tabla 11. Niveles de SO<sub>2</sub> libre y total

#### 4.3.5. Compuestos volátiles

Con el análisis cromatográfico de las muestras de vino estudiadas en este Trabajo se obtienen los datos de una serie de compuestos volátiles, detallados en la **Tabla 12**, donde se indican las concentraciones (µg/L) de los volátiles identificados en los cromatogramas, así como sus promedios..

Se determinaron un total de 35 compuestos volátiles, que son los que marcan el perfil odorante de los dos tipos de vinos de Malvasía elaborados. En ambos vinos aparecen los 35 compuestos identificados, aunque con diferencias significativas en sus concentraciones.

El cálculo promedio de compuestos odorantes de las muestras analizadas fue de 7631 µg/L para los vinos elaborados con uva pasificada en almacén (A1, A2 y A3), y de 1957,6 µg/L para los vinos elaborados con uva sobremadurada en campo (C1, C2 y C3). Si se omite el etanol en nuestra valoración, que resulta más elevado en los vinos tipo A, con 2442,8 µg/L por 525,5 µg/L en los vinos tipo C, el promedio sería de 5189 µg/L y de 1432 µg/L, respectivamente (Ver tabla 12). Por lo tanto la concentración de compuestos volátiles desde el punto de vista cuantitativo es notablemente superior en los vinos cuyas uvas fueron pasificadas en almacén.

<b>COMPUESTOS</b>	<b>DEPÓSITOS MALVASÍA ALMACÉN</b>			<b>DEPÓSITOS MALVASÍA CAMPO</b>			<b>PROMEDIO A</b>	<b>±SD</b>	<b>PROMEDIO C</b>	<b>±SD</b>
	<b>A1</b>	<b>A2</b>	<b>A3</b>	<b>C1</b>	<b>C2</b>	<b>C3</b>				
<b>ALCOHOLES</b>										
3-METIL-1-BUTANOL (ISOAMIL ALCOHOL)	658,3	626,4	377,4	157,6	102,2	155,1	554,0	125,6	138,3	25,6
2,3-BUTANODIOL	84,1	32,7	28,3	3,7	4,0	8,4	48,4	25,4	5,4	2,1
1-HEXANOL	4,3	7,8	7,1	1,3	0,8	1,7	6,4	1,5	1,3	0,4
2-FENILETANOL	576,7	1006,1	787,2	206,8	101,0	167,4	790,0	175,3	158,4	43,7
1-NONANOL	3,1	7,1	5,1	0,2	1,4	2,1	5,1	1,6	1,2	0,8
<b>TOTAL ALCOHOLES</b>	<b>1326,4</b>	<b>1680,0</b>	<b>1205,1</b>	<b>369,6</b>	<b>209,3</b>	<b>334,7</b>	<b>1403,9</b>	<b>201,4</b>	<b>304,5</b>	<b>68,8</b>
<b>ÉSTERES</b>										
ACETATO DE ETILO	109,0	82,0	53,6	18,2	14,4	32,2	81,5	22,6	21,6	7,6
BUTIRATO DE ETILO	5,7	3,2	2,4	1,0	0,7	0,7	3,8	1,4	0,8	0,1
LACTATO DE ETILO	17,1	7,5	8,4	1,5	1,7	1,8	11,0	4,3	1,7	0,1
ACETATO DE ISOAMILO	130,1	63,2	34,2	22,5	10,3	6,6	75,8	40,1	13,1	6,8
HEXANOATO DE ETILO	201,6	182,7	112,7	63,7	27,4	36,8	165,7	38,2	42,6	15,4
ACETATO DE HEXILO	16,0	5,3	4,3	1,7	1,0	0,3	8,5	5,3	1,0	0,6
HEPTANOATO DE ETILO	8,0	10,4	7,0	3,2	2,5	3,1	8,5	1,4	2,9	0,3
OCTANOATO DE ETILO	1653,0	1512,7	773,9	536,1	167,2	254,4	1313,2	385,6	319,2	157,4
SUCCINATO DE DIETILO	1,6	23,2	19,5	4,5	4,5	8,8	14,8	9,5	5,9	2,0
NONANOATO DE METILO	62,7	23,0	11,0	15,3	3,8	5,6	32,2	22,1	8,2	5,0
HEPTANOATO DE ALILO	11,8	28,0	15,8	2,0	1,2	3,9	18,5	6,9	2,4	1,2
ACETATO DE FENILETILO	160,0	84,3	47,6	32,0	10,3	16,4	97,3	46,8	19,6	9,2
NONANOATO DE ETILO	13,9	10,6	16,7	2,4	1,1	3,0	13,8	2,5	2,1	0,8
DECANOATO DE ETILO	905,6	851,3	547,1	632,2	198,6	176,8	768,0	157,8	335,9	209,7
LAURATO DE ETILO	190,0	833,0	619,0	124,3	41,1	100,5	547,3	267,4	88,6	35,0
ETIL 9-DECENOATO	140,4	56,9	46,9	274,7	46,8	31,1	81,4	41,9	117,5	111,3
<b>TOTAL ÉSTERES</b>	<b>3626,3</b>	<b>3777,3</b>	<b>2320,2</b>	<b>1735,2</b>	<b>532,5</b>	<b>681,9</b>	<b>3241,3</b>	<b>654,2</b>	<b>983,2</b>	<b>535,2</b>
<b>TERPENOS</b>										
MYRCENE	4,1	8,6	4,4	1,4	1,1	1,5	5,7	2,0	1,3	0,2
LIMONENO	243,1	453,3	180,0	88,8	77,2	71,3	292,2	116,8	79,1	7,3
OCIMENE	0,1	4,6	3,5	0,8	0,2	0,3	2,8	1,9	0,5	0,2
GAMMA-TERPINEOL	16,3	35,0	15,2	7,7	6,4	5,2	22,2	9,1	6,4	1,0
TERPINOLENO	4,0	12,3	7,0	3,1	1,4	2,2	7,8	3,4	2,2	0,7
OXIDO DE LINALOL	1,1	3,5	2,2	0,0	0,1	0,4	2,2	1,0	0,2	0,2
LINALOL	37,3	66,2	40,0	13,5	7,0	14,1	47,8	13,1	11,5	3,2
HOTRIENOL	23,7	49,5	28,4	8,0	4,6	9,3	33,9	11,2	7,3	2,0
OXIDO DE NEROL	5,1	13,3	5,8	1,8	2,0	3,4	8,1	3,7	2,4	0,7
ALFA-TERPINEOL	2,7	21,9	13,8	1,3	2,1	4,0	12,8	7,9	2,5	1,1
CITRONELOL	12,6	63,7	10,1	6,0	3,9	16,6	28,8	24,7	8,8	5,6
GERANIOL	13,7	39,4	21,6	6,4	2,4	6,5	24,9	10,8	5,1	1,9
<b>TOTAL TERPENOS</b>	<b>363,9</b>	<b>771,1</b>	<b>332,0</b>	<b>138,9</b>	<b>108,4</b>	<b>134,7</b>	<b>489,0</b>	<b>199,9</b>	<b>127,3</b>	<b>13,5</b>
<b>NORISOPRENOIDES</b>										
DAMASCENONA	7,5	27,5	14,3	18,4	1,1	5,1	16,4	8,3	8,2	7,4
<b>TOTAL NORISOPRENOIDES</b>	<b>7,5</b>	<b>27,5</b>	<b>14,3</b>	<b>18,4</b>	<b>1,1</b>	<b>5,1</b>	<b>16,4</b>	<b>8,3</b>	<b>8,2</b>	<b>7,4</b>

<b>TOTAL µg/L</b>	<b>5350</b>	<b>6303</b>	<b>3914</b>	<b>2270</b>	<b>861</b>	<b>1166</b>
<b>PROMEDIO</b>	<b>5189</b>			<b>1432</b>		

Tabla 12. Resultados de las muestras analizadas.

Si se expresan los resultados en base a la concentración de cada una de las familias de compuestos ( $\mu\text{g/L}$ ), según su pertenencia a grupos químicos específicos, se comprueba que aparecen alcoholes, ésteres, terpenos y norisoprenoides, siendo mayor el porcentaje de alcoholes en los vinos tipo A y de ésteres, terpenos y norisoprenoides en los vinos tipo C (Gráfico 11), aunque sin diferencias estadísticas significativas.

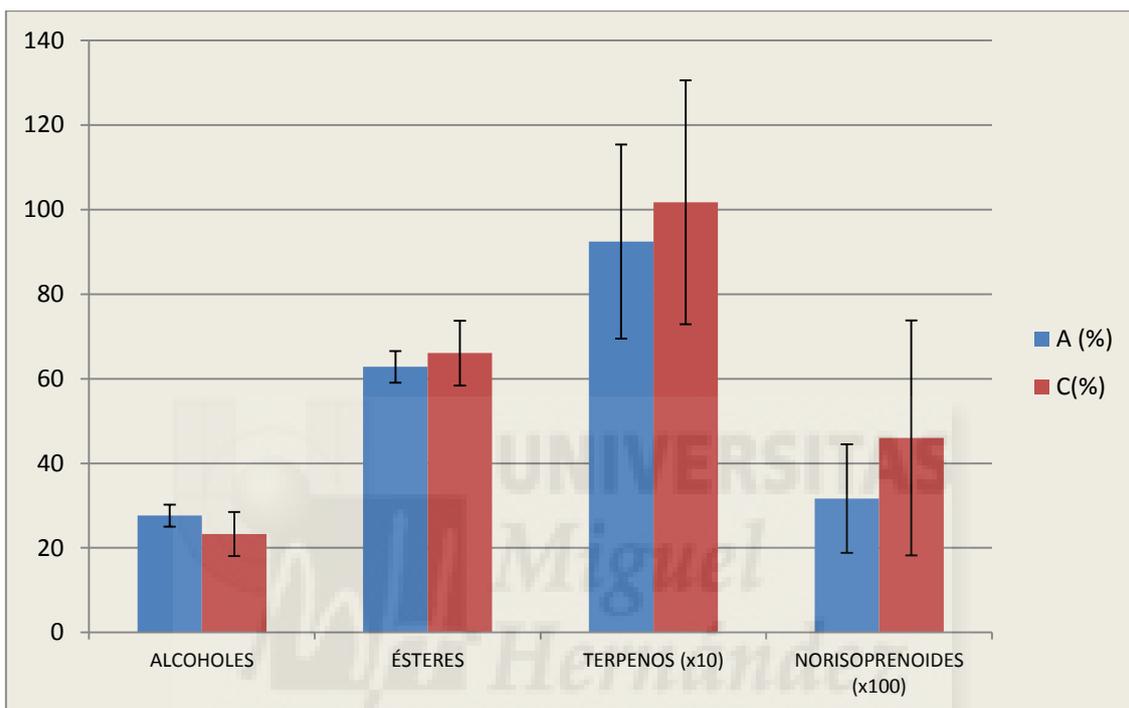


Gráfico 11. % de la fracción volátil, agrupada por familias químicas

En vinos dulces de Malvasía delle Lipari, elaborados tradicionalmente en Sicilia (Italia), con uvas pasificadas mediante la técnica de deshidratación por el sol, los compuestos mayoritarios identificados fueron por este orden, los alcoholes, los ésteres, los ácidos, y los terpenos, (*Piombino P. et al., 2009*). Dentro de los alcoholes destacó la presencia de 3-Metil-1-Butanol, seguido del 2-Feniletanol. Sin embargo, en el caso de nuestras muestras, se invirtió este dato siendo el 2-Feniletanol el mayoritario, y a continuación el 3-Metil-1-Butanol (o alcohol isoamílico).

En los vinos de Malvasía bianca objeto de este Trabajo, del grupo de los alcoholes, que son producto de la fermentación, y obviando el etanol como se ha indicado, el 2-feniletanol fue el mayoritario en ambos tipos de vinos; este alcohol se caracteriza por un agradable aroma a rosa (*Swieger&Pretorius, 2005*) y procede de la

variedad de uva y del metabolismo de las levaduras durante la fermentación (*Gómez-Plaza et al., 1999*).

El siguiente alcohol con mayor concentración fue el isoamil alcohol (o 3-metil-1-butanol), con un descriptor aromático de amargor penetrante (*Guth, H., 1997*).

Se encontraron diferencias significativas entre las muestra analizadas para estos compuestos (Tabla 12), aunque su concentración, en cualquier caso, está por debajo del umbral de percepción en los dos tipos de vinos.

Aparecen también alcoholes C6 como el 1-hexanol, que derivan de la actividad de la lipoxigenasa y son desfavorables para la calidad del vino ya que aportan notas herbáceas (*Joslin&Ough, 1978*), pero también se encuentran en cantidades por debajo del umbral de percepción. Este tipo de alcohol, sin embargo, sí se detecta en cantidades más elevadas, de 1117 µg/L, en vinos de Madeira elaborados con Malvasía (*Pereira V. et al, 2014*), en el Vin Santo italiano, con 1810 µg/L, (*Bucelli et al., 1998*), o en vinos de Malvasía canaria, con 1343 µg/L, (*Rodríguez-Bencomo J.J., et al., 2011*), aunque siempre por debajo de sus umbrales de percepción (8000 µg/L).

Asimismo, se identifican en las muestras aquí estudiadas, también en el grupo de los alcoholes, el polialcohol 2,3-butanodiol que suele aparecer en cantidades apreciables en mostos procedentes de uvas afectadas por botrytis (*Moreno Vigara J. J. et al., 2010*), y el 1-nonanol, pero en concentraciones bajas y poco significativas.

*Pereira V. et al., (2014)* encontraron que en vinos de Madeira elaborados con Malvasía, los compuestos volátiles más representativos fueron los ésteres (más del 38% del total), y alcoholes (más del 15%).

También en ensayos realizados con vinos de Malvasía canaria las familias de compuestos que presentaron contenidos más altos fueron los alcoholes (270 mg/L) y los ésteres (88,5 mg/L), (*Rodríguez-Bencomo J. J. et al., 2011*).

Los ésteres contribuyen al gusto afrutado, especialmente en los vinos jóvenes. Algunos de ellos tienen un bajo umbral de percepción y proceden principalmente de la fermentación, resultando de la reacción de una función alcohol sobre una función ácido, con eliminación de una molécula de agua, por lo que suele ser común una alta

presencia de los mismos en los vinos. Precisamente las condiciones de fermentación son muy importantes para la producción de estos ésteres (condiciones anaerobias estrictas, bajada de la temperatura de fermentación y adecuada clarificación del mosto que permita la no presencia de fangos residuales).

Sus umbrales de percepción pueden ir desde unos pocos  $\mu\text{g/L}$  como en el hexanoato de etilo con  $14 \mu\text{g/L}$  hasta los  $150.000 \mu\text{g/L}$  del lactato de etilo.

Para los vinos tipo A sobresale especialmente el octanoato de etilo, (aromas relacionados con albaricoques, florales, pera, piña), seguido del decanoato de etilo (aromas a uva, pera, manzana) el laurato de etilo (dulce, floral, afrutado), y el hexanoato de etilo (manzana, plátano, piña), por este orden en cuanto a sus concentraciones en  $\mu\text{g/L}$ , mientras que para los vinos tipo C en primer lugar se encuentra el decanoato de etilo, seguido del octanoato de etilo, el etil 9-decanoato (graso a fruta), y el laurato de etilo. (Tabla 12). Las concentraciones de los principales ésteres identificados en los dos tipos de vinos son mayores para los vinos tipo A, con diferencias estadísticamente significativas (Ver Gráfico 12 y Tabla 13).

La única excepción se encuentra en el etil 9-decanoato, que es el único éster que aparece en mayor concentración en los vinos procedentes de uvas sobremaduradas en la cepa ( $117,5 \mu\text{g/L}$ ), con respecto a los de uvas pasificadas en al macén ( $81,4 \mu\text{g/L}$ ).

El acetato de etilo suele ser uno de los principales ésteres encontrados en el vino y en cantidades elevadas puede ser un defecto (olor a barniz para uñas). En el caso de los vinos analizados las concentraciones no se acercan a niveles que pudieran desvirtuar la calidad del vino, aunque bien es cierto que aparece en mayor cantidad en los vinos tipo A.

Durante la conservación del vino los procesos de esterificación van formando nuevos ésteres donde participan los ácidos orgánicos como el lactato de etilo (a partir del ácido láctico), que aparece en las muestras aquí analizadas en concentraciones muy bajas (Tabla 12), y por tanto al estar en cantidades inferiores al umbral de percepción, contribuyen poco al aroma final del vino (*Shinohara, 1984*).

El desarrollo de los ésteres depende del metabolismo de los aminoácidos, de este modo el diferente contenido de ésteres en los vinos de Malvasía puede ser debido a la diferente composición aminoacídica de los mostos, los cuales dependen de la composición de la uva, la acción de las levaduras y de las condiciones medioambientales (*Spranger et al., 2004*).

*Del Caro A., et al., (2012)*, encontraron que vinos dulces de Malvasía di Bosa, se caracterizaban por la presencia de hexanoato de etilo y octanoato de etilo, aunque el éster más abundante era el succinato de dietilo (afrutado suave, dulce). En nuestros vinos los dos primeros tienen una importante presencia, mientras que el succinato de dietilo se encuentra a muy baja concentración, por debajo del umbral de percepción. En ese mismo estudio comprobaron que este tipo de Malvasía tenía un mayor contenido de ésteres que Moscatel, en particular lactato de etilo, octanoato de etilo y 3-metilbutil acetato.

*Bucelli et al., (1998)* establecieron mediante diversos estudios que en el Vin Santo, elaborado en algunas zonas de Italia con porcentajes variables de Malvasía del Chianti o Malvasía nera, que podían oscilar entre el 50 y el 90%, dependiendo de los vinos, los ésteres mayoritarios eran el octanoato de etilo (456 µg/L), el hexanoato de etilo (335 µg/L), el acetato de isoamilo (228 µg/L), el acetato de feniletilo (197 µg/L) y el butirato de etilo (196 µg/L).

Los ésteres más representativos identificados en vinos de Malvasía de Madeira, (*Pereira V. et al., 2014*), fueron por este orden el succinato de dietilo (691 µg/L) , el lactato de etilo (290 µg/L), el piruvato de etilo (34 µg/L), el hexanoato de etilo (33 µg/L), y el octanoato de etilo (20 µg/L).

Los terpenos libres se encuentran en las partes sólidas de las bayas, especialmente en el hollejo (*Bayonove 1992*), y casi sin transformaciones llegan al vino. Los terpenoles o alcoholes monoterpénicos son los más importantes y abundantes. Tienen un poder odorífero muy elevado relacionado con flores, fruta, cítricos, miel y cera, interviniendo en la tipicidad aromática amoscatelada de numerosos cepajes aromáticos (entre los que se incluye la Malvasía blanca aquí estudiada). Son compuestos aromáticos catalogados como primarios al proceder de la variedad de uva.

Los más importantes son el linalol, el geraniol, el citronelol, el alfa-terpineol y el hotrienol.

En las muestras analizadas están presentes los terpenos antes mencionados, en distintas concentraciones (Tabla 12), pero además hay que destacar como terpeno principal en ambos tipos de vino el limoneno, con concentraciones que en el caso de los tipo A superan ampliamente el umbral de percepción. Aunque estos umbrales no están en todos los casos por debajo de los contenidos encontrados en los vinos, la mezcla de los principales monoterpenos de la uva tiene un umbral de percepción olfativa más bajo que el de los monoterpenos tomados aisladamente, lo que muestra una acción sinérgica de estos compuestos (*Marais 1983, Ribéreau-Gayon, P., et al., 2000*). Para los vinos tipo A, tras el limoneno y el linalol, se detecta la presencia de hotrienol, citronelol y geraniol, por este orden, mientras que en los vinos tipo C, destacando también como mayoritarios el limoneno y el linalol, nos encontramos con el citronelol, hotrienol, y gamma-terpineol, de mayor a menor concentración.

Aparecen también en menores concentraciones terpenos como el myrcene, ocimene, óxido de linalol y óxido de nerol.

En el caso de las uvas moscateles y malvasías existe un aumento constante de los compuesto terpénicos desde el envero, luego se llega a una meseta y posteriormente, como en casi todos los aromas, se llega a una fase de decrecimiento cualitativo disminuyendo algunos como el linalol y el alfa-terpineol, y aumentando los aromas de geraniol y nerol, produciendo un cambio notable en el perfil aromático del vino (*Bayonove 1992*). En general comienzan a disminuir los aromas antes de que se alcance el grado de azúcar buscado. Esto podría explicar en parte, la mayor concentración cuantitativa en  $\mu\text{g/L}$  de terpenos en las uvas pasificadas en almacén, ya que al ser vendimiadas de forma anticipada, se consiguió una mayor conservación de estos compuestos terpénicos, que en el caso de las uvas que sobremaduraron en las cepas, fueron decreciendo durante todo ese tiempo.

En vinos dulces de Malvasía di Bosa (*Del Caro A., et al., 2012*) destacaron terpenos como el Terpene 4-ol, el 2,6-dimetil-3,7-octadien-2,6-diol, , el alfa-terpineol, el linalol, el hotrienol, y el geraniol, por este orden, sin presencia detectable de

limoneno, con lo que el perfil aromático de esta variedad es diferente con respecto a la aquí estudiada.

También en vinos canarios de Malvasía (*Rodriguez-Bencomo J. J. et al., 2011*), destacan en concentraciones superiores a nuestros vinos de Malvasía, terpenos como el linalol (72 µg/L), el alfa-terpineol (38 µg/L), y el geraniol (40 µg/L), pero no aparece el limoneno, cuya presencia diferencia de forma clara los vinos elaborados para este Trabajo.

*Perestrelo R. et al., (2014)*, determinaron que terpenos como el linalol, el hotrienol y el alfa-terpineol identificados en uvas de Malvasía Cándida y Malvasía Branca, representaban en promedio el 74% y el 65% de su perfil volátil varietal respectivamente. En otra variedad blanca tradicional de Portugal, la Bual, empleada en la producción de vinos de Madeira, sí aparece el limoneno, que junto al geraniol resultaron ser los más importantes, representando el 58% de la fracción monoterpénica.

Asimismo en vinos de la variedad blanca aromática Torrontés (*Lamothe-Ablet-Pinosa, Bodega La Agrícola, 2000*), se observó que el perfil terpénico se caracterizó por la presencia mayoritaria de linalol, seguido de hotrienol y alfa-terpineol, por este orden, estando presentes también en menores cantidades los terpenos geraniol, nerol y citronelol.

Hay que resaltar que los procesos de transformación de los monoterpénicos ocurren en medio ácido a través de una serie de reacciones químicas. Los monoterpénicos como el nerol, linalol y geraniol van desapareciendo y a sus expensas se forman terpenos cíclicos de impacto aromático desconocido y generalmente de altos umbrales de percepción, como el óxido de nerol, los óxidos furánicos del linalol y el alfa-terpineol. De esta manera los aromas florales que aparecen en nuestros vinos de Malvasía estudiados van disminuyendo con el tiempo. Estas transformaciones además se aceleran con el aumento de la temperatura (*Williams et al., 1982*).

Los norisoprenoides son compuestos que se encuentran como precursores en forma glicosídica en la uva (*Strauss et al., 1987*). Se producen por degradación

oxidativa de los carotenoides, compuestos que pertenecen a la familia de los terpenos. En efecto a medida que avanza la madurez disminuyen los carotenoides y se forman los isoprenoides (*Bayonove 1992*).

Los norisoprenoides tienen propiedades odoríferas muy interesantes y con un importante impacto olfativo, y en el caso de los vinos de Malvasía de este Trabajo, el análisis cromatográfico nos determina la presencia de un norisoprenoide C13 como es la  $\beta$ -damascenona que debido a un umbral de percepción muy bajo (0,05  $\mu\text{g/L}$ ) aporta a nuestros vinos un aroma complejo de flor, fruta exótica y compota de manzana (Tabla 12), siendo la concentración promedio en los procedentes de uva pasificada en almacén, el doble de la existente en los vinos elaborados con uva sobremadurada en las cepas.

En la gran mayoría de las Malvasías estudiadas en bibliografía no se identifica la presencia de  $\beta$ -damascenona, a excepción de en un ensayo efectuado con Malvasía de Madeira (*Pereira V. et al., 2014*), en donde mediante la técnica empleada en la elaboración de vinos fortificados denominada “estufagem” que consiste en calentar el vino durante un mes a una temperatura media de 70°C, se produjo la aparición de este compuesto a una concentración de 14,9  $\mu\text{g/L}$ , donde antes no se había detectado.

Este importante norisoprenoide sí aparece sin embargo en otras variedades blancas, aunque de perfiles aromáticos diferentes a la Malvasía aquí estudiada, como en Albariño (6,9  $\mu\text{g/L}$ ), Loureira (2,4  $\mu\text{g/L}$ ), Treixadura (1,9  $\mu\text{g/L}$ ) o Torrontés (2,5  $\mu\text{g/L}$ ), (*Vilanova M. et al., 2013*), cultivares autóctonos presentes principalmente en zonas del norte de España, pero en cualquier caso, en concentraciones más bajas que las detectadas en nuestros dos tipos de vinos Malvasía.

Asimismo, *Escudero A. et al., (2004)*, caracterizaron los aromas de un vino elaborado con uvas Macabeo, cultivadas en Somontano (Huesca), variedad catalogada como poco aromática, y encontraron concentraciones de 5  $\mu\text{g/L}$  de  $\beta$ -damascenona, también por debajo de los Malvasía de este Trabajo.

Hay diversos autores que en sus estudios y publicaciones reflejan la presencia de numerosos compuestos volátiles identificados en nuestros vinos de Malvasía aquí

analizados, asociados a vinos elaborados con uvas botritizadas. Por ejemplo, *Genovese et al., (2007)* en el vino italiano Sweet Fiano, destacan terpenos como el nerol, el geraniol y el linalol. *Sarrazin et al., (2007)* detectan en vinos de Sauternes el alcohol 2-feniletanol, mientras que *Bailly et al., (2009)*, también para vinos de Sauternes destacan la presencia de hexanoato de etilo y de  $\beta$ -damascenona.

La Malvasía blanca con la que se ha realizado este Trabajo Fin de Máster, se suele asimilar con la variedad aromática más representativa, como es la Moscatel, aunque dentro de esta denominación se engloban diversos cultivares con perfiles odoríferos similares, en donde destaca por encima de cualquier otro el terpeno linalol, que en concentraciones entre 20 y 50  $\mu\text{g/L}$  ya tiene potencia suficiente para ser percibido independientemente de la presencia de otros compuestos. Sin embargo a estas concentraciones sigue comunicando al vino una nota floral dulce que es uno de sus descriptores genéricos. Entre 50 y 120  $\mu\text{g/L}$  ya es capaz de comunicar al vino una nota floral clara. Por encima de esta concentración la nota aromática ya comienza a ser identificada como Moscatel, y por tanto es a partir de esta concentración cuando puede decirse que el linalol se comporta como un compuesto impacto genuino ya que transmite al vino sus notas aromáticas más específicas (*Ferreira V. , 2007*).

En los dos tipos de vinos elaborados con Malvasía blanca está presente el linalol (ver tabla 12) en concentraciones para los elaborados con uvas pasificadas en almacén (tipo A), cercanas a esos 50  $\mu\text{g/L}$  que, como señalamos, aportan claramente una nota floral, pero sin llegar a las cantidades que normalmente aparecerían en un vino Moscatel. En los vinos procedentes de uvas sobremaduradas en la cepa (tipo C), estas concentraciones bajan hasta los 11,5  $\mu\text{g/L}$ , con lo que su aportación al perfil aromático de estos vinos sería una nota dulce y floral genérica mediante la asociación con algunos otros compuestos que tengan alguna similitud en aroma.

Es precisamente esa importante diferencia en las concentraciones cuantitativas de compuestos volátiles entre los dos tipos de vinos Malvasía elaborados, lo que más hay que resaltar y que, evidentemente, viene condicionada por las distintas técnicas empleadas para pasificar las uvas. Como se refleja en la Tabla 12, el cálculo promedio total de compuestos odorantes fue de 5189  $\mu\text{g/L}$  para el caso de las muestras tipo A y

de 1432  $\mu\text{g/L}$  para las muestras tipo C. Las diferencias son estadísticamente significativas, y es probable que esto sea principalmente como consecuencia del proceso de pasificación, que al ser más intenso en las uvas de almacén, con unos mayores niveles de deshidratación, ocasionaron una gran concentración de los compuestos aquí identificados.

Desglosándolos por familias, se comprueba que las concentraciones son claramente superiores en todas ellas (Gráfico 12), y calculando su desviación estándar se comprueba que hay diferencias estadísticamente significativas, excepto en los norisoprenoides, aunque para estos compuestos cuantitativamente se observa una tendencia a una concentración más elevada de  $\beta$ -damascenona, con sus aportes florales, de fruta exótica y compota de manzana, en los vinos elaborados con uva pasificada en almacén.

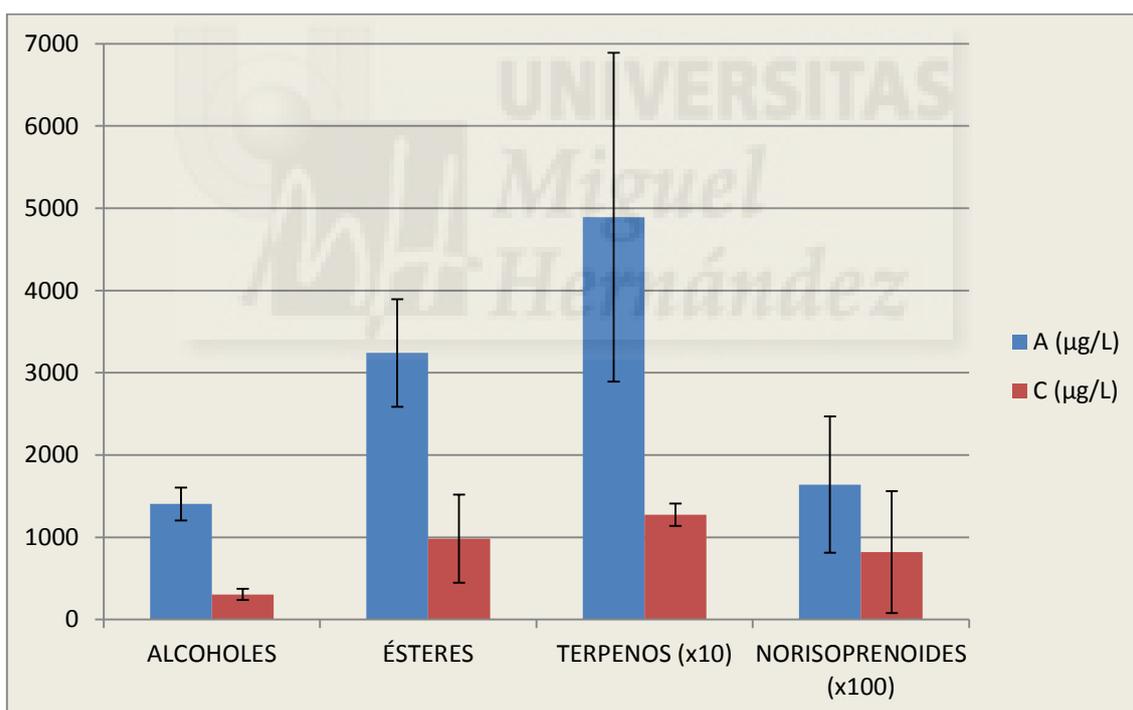


Gráfico 12. Familias químicas en concentración cuantitativa ( $\mu\text{g/L}$ )

Si se centra el estudio en los compuestos que aparecen en mayor cantidad, en  $\mu\text{g/L}$ , en ambos tipos de vinos, se comprueba mediante análisis de la varianza Anova y el test de rangos múltiples de Tukey, que sí existen diferencias significativas entre sus valores promedio (Tabla 13), estando representados estos volátiles mayoritarios por dos alcoholes, tres ésteres y un terpeno.

TIPOS DE VINO	Alcohol isoamílico	Hexanoato de etilo	Limoneno	2-Feniletanol	Octanoato de etilo	Decanoato de etilo
ANOVA						
	**	*	*	**	*	*
Test de Rangos Múltiples de Tukey						
<b>A</b>	554,03 a	165,68 a	292,17 a	789,98 a	1313,19 a	768,02 a
<b>C</b>	138,29 b	42,62 b	79,09 b	158,39 b	319,19 b	335,89 b

Tabla 13. Análisis de varianza ANOVA

Por tanto, el perfil aromático de ambos vinos viene determinado fundamentalmente por la presencia mayoritaria de ésteres, donde los aromas dominantes son las notas frutales y matices florales (Ver Tabla 14)

COMPUESTOS	UPO (µg/l)	DESCRIPTOR OLFATIVO
<b>ALCOHOLES</b>		
3-METIL-1-BUTANOL	<b>30000</b>	aceitoso, fusel, amargo penetrante
1-HEXANOL	<b>8000</b>	alcohol de fusel, olor a fruta verde, herbáceos, picante
2-FENILETANOL	<b>10000</b>	floral, miel
1-NONANOL	<b>15</b>	floral fresco, graso, rosa limpio, polvo húmedo
<b>ÉSTERES</b>		
ACETATO DE ETILO	<b>12300</b>	barniz, esmalte de uñas, afrutado
BUTIRATO DE ETILO	<b>20</b>	afrutado
LACTATO DE ETILO	<b>150000</b>	coco, notas mantecosas, frutas
ACETATO DE ISOAMILO	<b>1600</b>	banana o pera
HEXANOATO DE ETILO	<b>14</b>	manzana, plátano, piña, vino.
ACETATO DE HEXILO	<b>670</b>	ciruelas, manzanas
OCTANOATO DE ETILO	<b>258-580</b>	albaricoque, floral, pera, piña
SUCCINATO DE DIETILO	<b>1200</b>	afrutado suave, manzana cocida
ACETATO DE FENILETILO	<b>250</b>	miel, milflores, floral, balsámico, matices de levaduras
DECANOATO DE ETILO	<b>500</b>	uva, pera, manzana
LAURATO DE ETILO	<b>700</b>	dulce, floral, afrutado
ETIL 9-DECENOATO		grasos a fruta
<b>TERPENOS</b>		
LIMONENO	<b>200</b>	limón, naranja, cítrico, dulce
LINALOL	<b>25</b>	floral, cítrico
HOTRIENOL	<b>100</b>	tilo, jacinto
ALFA-TERPINEOL	<b>400</b>	coníferas, aceite de pino
CITRONELOL	<b>40</b>	cítrico
GERANIOL	<b>30</b>	floral, cítrico
<b>NORISOPRENOIDES</b>		
DAMASCENONA	<b>0,05</b>	floral, fruta exótica, compota de manzana

Tabla 14. Principales compuestos volátiles identificados, descriptores y umbrales de percepción olfativa (UPO)

Los terpenos representan también un grupo de compuestos importantes en las muestras estudiadas, que, procedentes de las bayas, aportan aromas frutales, florales y en nuestro caso, especialmente cítricos. Tal y como se ha comentado anteriormente, los aromas de este tipo de uvas suelen estar marcados por el toque floral del linalol, que efectivamente aparece en concentraciones significativas, pero es superado por la elevada presencia del limoneno, destacando como diferenciador de nuestros vinos, con su aporte olfativo claramente cítrico, fresco y algo dulce.

Si se analizan nuestros vinos porcentualmente respecto a los compuestos volátiles que presentan cada uno de ellos, se observa que en los vinos tipo C la concentración es significativamente mayor para dos compuestos, los ésteres etil 9-decenoato y decanoato de etilo (Gráfico 13).

Precisamente el único compuesto que está presente en mayor cantidad en  $\mu\text{g/l}$  en los vinos procedentes de uva sobremadurada en las cepas con respecto a los elaborados con uva pasificada en almacén es el etil 9-decenoato. (Ver tabla 12).

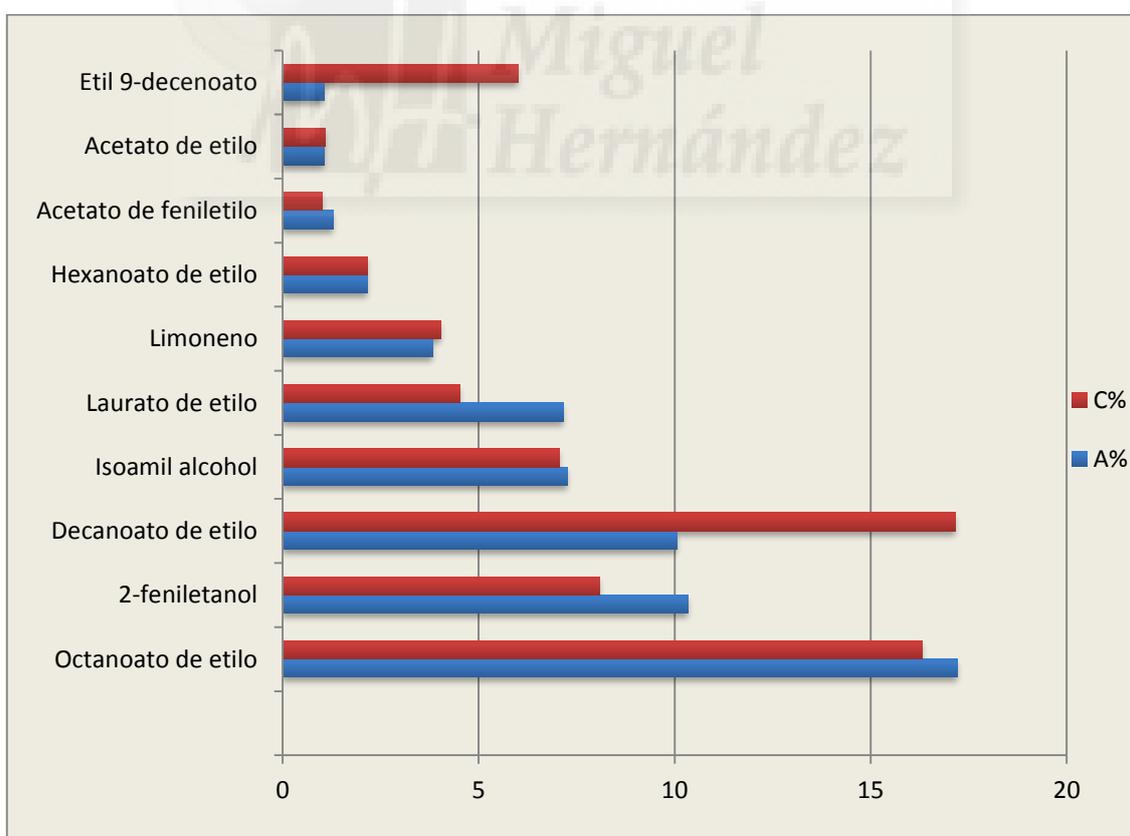


Gráfico 13. Compuestos mayoritarios en los vinos Malvasía estudiados

El etil 9-decenoato es un éster etílico producido durante la fermentación por las levaduras, y se forma por la reacción del etanol con un ácido graso. Su perfil odorífero nos da un agradable aroma dulce, y sus concentraciones tienden a disminuir en el tiempo debido a la hidrólisis espontánea.

El decanoato de etilo es un éster de ácido graso formado a partir del ácido decanoico y el etanol, siendo también un producto frecuente de la fermentación especialmente a temperaturas superiores a 15°C, que aporta especialmente aromas afutados (uva, pera, manzana).

Por lo tanto en el perfil odorífero de los vinos elaborados con uva sobremadurada en campo, prevalecen estos compuestos aromáticos, responsables fundamentalmente de aromas florales y frutales, más que en los vinos basados en las uvas pasificadas en almacén.

#### 4.3.6 OTA en vinos

Las técnicas de sobremaduración o pasificación empleadas sobre las uvas estudiadas conllevan riesgos microbiológicos de cierta importancia, como la aparición de micotoxinas nocivas para la salud humana, especialmente la Ocratoxina A, producida por hongos de especies *Aspergillus*, siendo las que quedan en las cepas sobremadurando, las más expuestas a sufrir infecciones debido a los posibles daños ocasionados por las condiciones climáticas, ataques de insectos que pueden dañar la piel de las bayas, etc. En los análisis realizados sobre muestras de los dos tipos de vino elaborados, no se detecta la presencia de Ocratoxina A (tabla 12).

Muestra	Referencia	Determinaciones	Resultado	Unidad
Vino Malvasía almacén	Q1	Ocratoxina A	<1	µg/Kg
Vino Malvasía campo	Q4	Ocratoxina A	<1	µg/Kg

Tabla 15. Resultados análisis OTA en vinos

## 4.4 ANÁLISIS SENSORIAL

En las catas descriptivas a las que se sometieron los seis vinos elaborados, se analizaron por un lado los caracteres aromáticos y visuales, (Gráficos 14 y 15), y por otro los caracteres en boca (Gráficos 16 y 17), con los siguientes resultados:

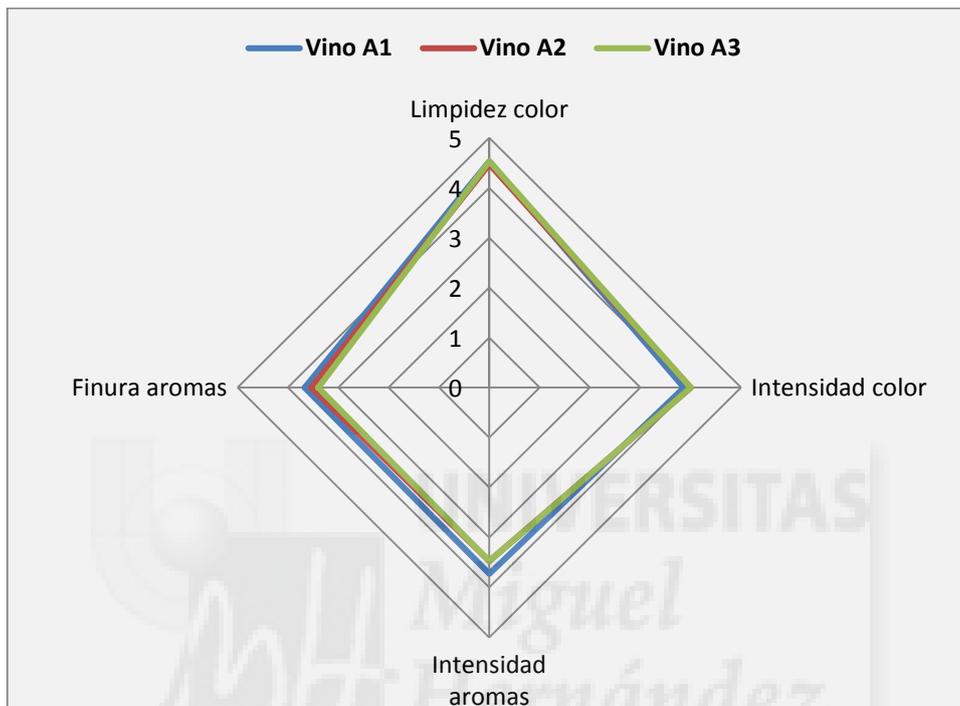


Gráfico 14. Resultados cata caracteres aromáticos y visuales de los vinos Malvasía de almacén

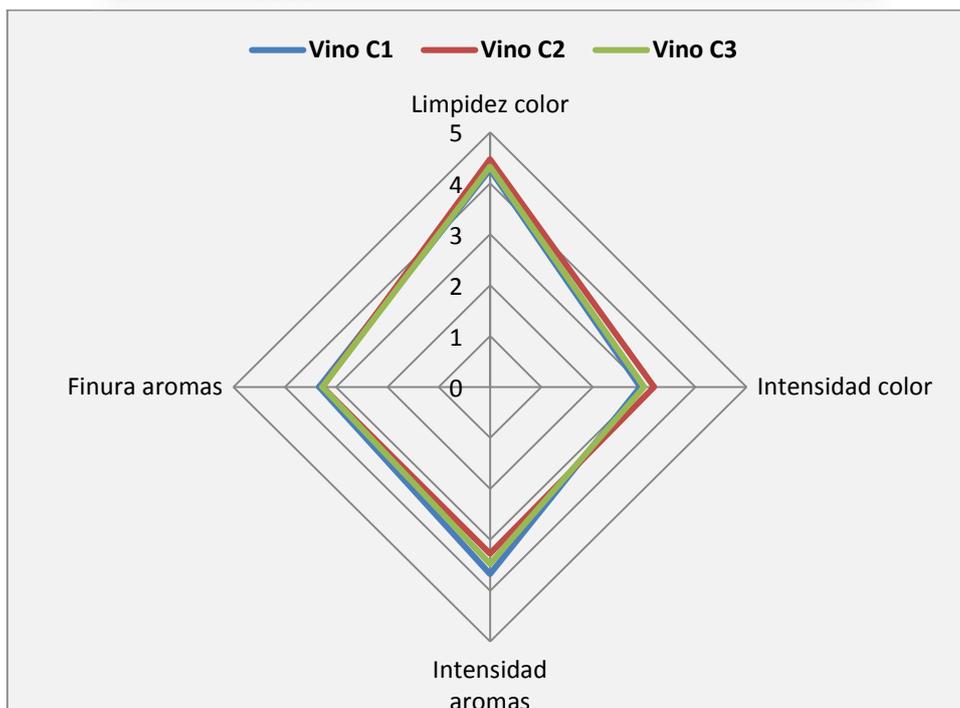


Gráfico 15. Resultados cata caracteres aromáticos y visuales de los vinos Malvasía de campo

En lo referente a los caracteres visuales como limpidez e intensidad de color, los vinos A1, A2 y A3, procedentes de las uvas sobremaduradas en almacén, son mejor valorados que los vinos C1, C2 y C3. Se destaca la mayor intensidad de color en los vinos tipo A con apreciación de tonalidad que oscila entre el amarillo verdoso y el amarillo pajizo, mientras que en los vinos tipo C predomina el amarillo entre pajizo y dorado. Con respecto a la influencia de la mayor o menor turbidez del mosto de partida en el resultado final, hay una valoración más favorable de los vinos A, procedentes de mostos más limpios, en intensidad y finura de aromas mientras que en los vinos de uvas sobremaduradas en campo las diferencias no son tan notables pero se valora mejor C1 procedente del mosto más limpio.

En general, en la fase visual y olfativa, comparando los dos tipos de uva de origen, se valoran mejor los vinos tipo A que los tipo C.

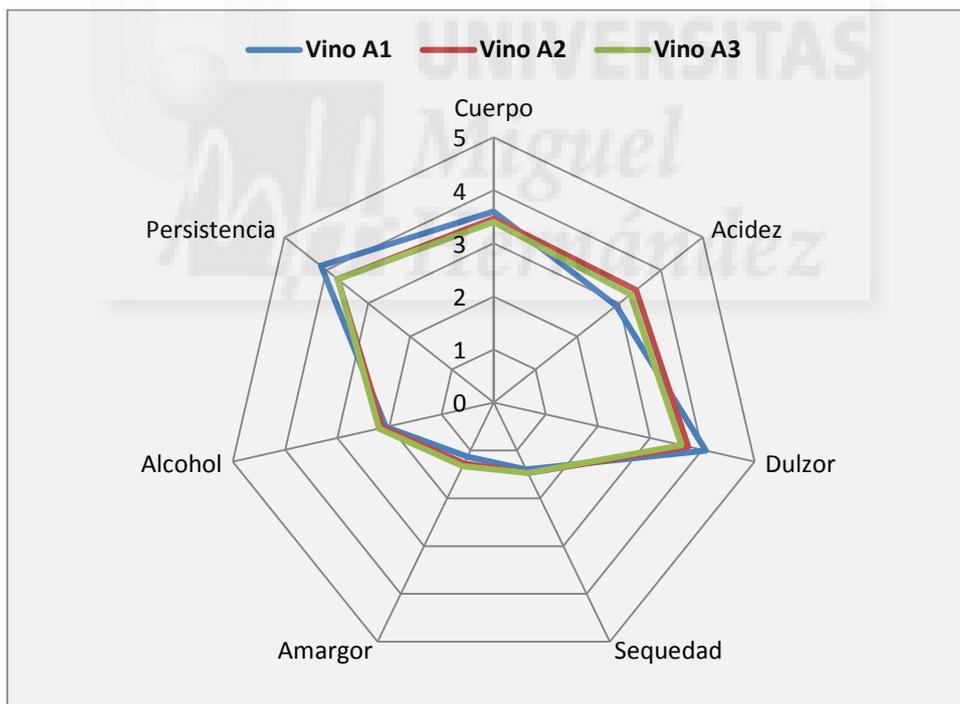


Gráfico 16. Resultados cata caracteres en boca de los vinos Malvasía de almacén

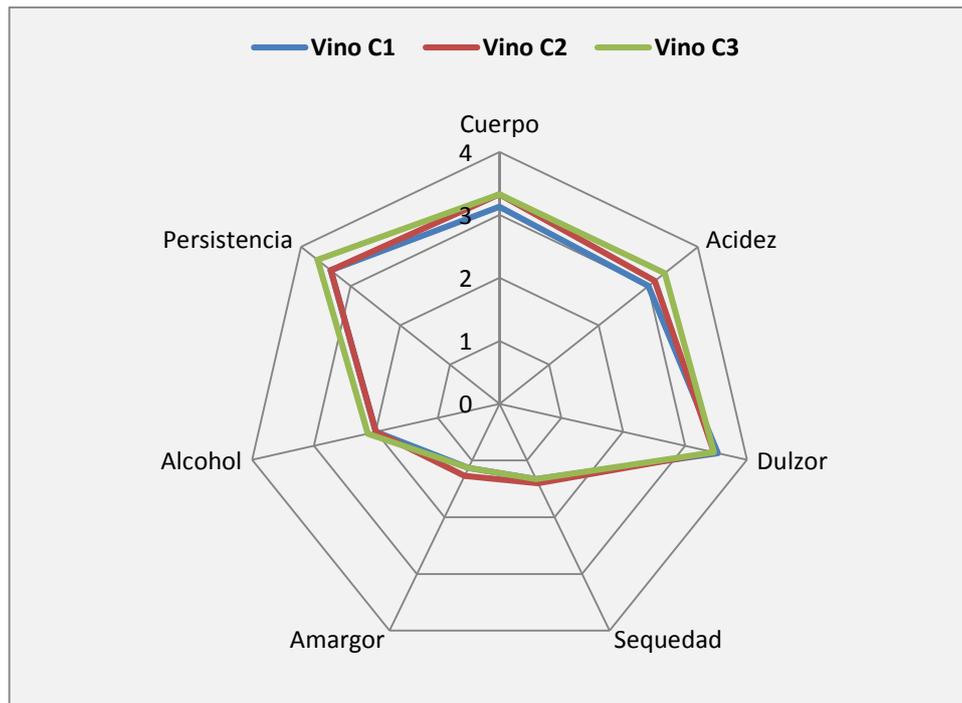


Gráfico 17. Resultados cata caracteres en boca de los vinos Malvasía de campo

Con respecto a los caracteres en boca, en los vinos tipo A, aspectos como sequedad, amargor y alcohol, presentan una percepción baja, algo normal tratándose de vinos con un elevado contenido de azúcar residual, siendo las diferencias entre A1, A2 y A3, poco significativas. Sin embargo en atributos como cuerpo, dulzor y persistencia se valora más favorablemente A1, mientras que en acidez el más destacado es A2.

En los vinos tipo C, también la sequedad, el amargor y el alcohol se describen como muy bajos, sin diferencias apreciables entre C1, C2 y C3, mientras que en aspectos como la acidez y la persistencia C3 presenta una mayor valoración, aunque similar a la de los otros dos vinos.

Si comparamos los dos tipos de vinos, la percepción de dulzor es mayor en los vinos tipo A, lo que coincide con sus mayores niveles de azúcares residuales. También destacan estos vinos, con respecto a los de tipo C, en cualidades como cuerpo y persistencia. Sin embargo, siendo en general la acidez algo mayor en los vinos tipo A, no se destaca así por parte de muchos catadores, probablemente debido a que la elevada sensación de dulzor la enmascare algo, aunque es importante reseñar que

precisamente por esos niveles altos de acidez, los vinos más dulces no resultan empalagosos en boca, y se beben con facilidad.

En lo que se refiere a la influencia de la mayor o menor turbidez del mosto de partida en el resultado final en boca, parece que los vinos tipo A procedentes de los mostos más limpios se valoran algo más en cuanto a cuerpo y persistencia, mientras que en los vinos tipo C la turbidez del mosto de origen no ocasiona diferencias reseñables en los principales atributos percibidos en boca.

En el apartado de observaciones de las fichas de cata destacamos comentarios positivos como la sensación de sorpresa y novedad ante unos vinos definidos en varias ocasiones como “originales” y “diferentes”, y expresiones repetidas como “nunca había probado un vino de este tipo”, pero, por otro lado, aparecen también opiniones que resaltan la dificultad para encajar este tipo de vinos en un consumo habitual, más bien se percibe como algo esporádico, debido entre otras cosas al desconocimiento de los maridajes que pueden ir bien con el perfil de los mismos, dudando entre consumirlos como vinos de postre o aperitivo, y la poca predisposición a pagar precios más elevados con respecto a vinos blancos de gama media, pese a la explicación dada durante las catas, del proceso de elaboración costoso y de bajos rendimientos.

También se mencionó por parte de varios catadores la sugerencia de presentar este tipo de vinos con un punto de carbónico o aguja que los haría llegar a una mayor cantidad de consumidores potenciales, especialmente mujeres y jóvenes no iniciados.



Imagen 89. Cata de los vinos de Malvasía procedentes de los seis depósitos

## 5 CONCLUSIONES

---

1. La técnica de pasificación en almacén, tras vendimia anticipada, produjo un mayor grado de deshidratación y por lo tanto de pérdida de peso de las uvas, con respecto a la técnica de sobremaduración en campo.
2. Aunque en este Trabajo, el estado de las bayas, desde el punto de vista fitosanitario, fue bueno para ambos tipos de técnicas, las uvas sobremaduradas en las cepas presentan el inconveniente de la dependencia de las condiciones ambientales, estando por lo tanto expuestas a mayores riesgos de afectación de enfermedades fúngicas, especialmente *Botrytis* y *Aspergillus*, lo que podría comprometer la calidad en campañas donde las condiciones meteorológicas fueran adversas.
3. En los mostos obtenidos de las uvas pasificadas en almacén (tipo A) se obtuvo una mayor concentración de azúcares y acidez total, mientras que en los mostos de uvas sobremaduradas en campo (tipo C), aumentó la concentración de azúcares en menor proporción, y disminuyó la acidez total.
4. Se produjeron diferencias notables en la evolución del pH durante la fermentación, con tendencia a incrementarse en los mostos tipo A, y a disminuir en los mostos tipo C.
5. Se determinó la necesidad de utilizar levaduras específicas tolerantes a las altas concentraciones de azúcares de nuestros mostos, para facilitar los arranques de fermentación y evitar los riesgos de parada fermentativa anticipada.
6. Las técnicas de sobremaduración utilizadas en este Trabajo influyeron en los niveles de acidez volátil de los vinos, siendo significativamente más elevada en los elaborados con las uvas pasificadas en almacén.

7. Se obtuvieron mayores niveles de azúcares residuales en los vinos tipo A, con una relación glucosa/fructosa muy similar en los dos tipos de vinos, siendo mayor las cantidades totales de fructosa en ambos vinos.
8. En este Trabajo se determinó la importancia de utilizar elevadas dosis de SO<sub>2</sub>, dentro de los límites legales, pues la combinación de éste con la glucosa, presente en grandes cantidades en nuestros vinos, dejó unos niveles de sulfuroso libre muy bajos que expusieron a los vinos a mayores riesgos de desviaciones microbiológicas, aumentando también las posibilidades de refermentaciones posteriores en botella.
9. Con respecto a los compuestos volátiles de los vinos aquí estudiados, se comprueba que la técnica de pasificación en almacén permitió obtener vinos con una concentración total en µg/L, significativamente mayor con respecto a los vinos procedentes de uvas sobremaduradas en las cepas, probablemente determinado por la mayor deshidratación final de estas uvas.
10. En ambos tipos de vinos el perfil aromático viene determinado fundamentalmente por la presencia de ésteres y terpenos donde los aromas dominantes son las notas frutales y los matices florales, destacando también la influencia de la pasificación en la aparición de notas compotadas y dulzonas.
11. En la variedad Malvasía blanca utilizada en este Trabajo, destacó notablemente como factor diferenciador con respecto a otras Malvasías estudiadas, la elevada presencia del terpeno Limoneno.
12. Desde el punto de vista gustativo, los vinos tipo A, tienen un considerable mayor grado de dulzor con respecto a los tipo C, debido a una significativa concentración más elevada de azúcares residuales. Visualmente también se apreciaron diferencias, con mayor intensidad de color en los vinos procedentes de las uvas pasificadas en almacén.

13. Puede resultar conveniente adelantar unos días la vendimia anticipada de las uvas destinadas a ser pasificadas en almacén, con respecto al momento que se efectuó en este Trabajo, con el objetivo de conseguir mayores niveles de acidez que equilibren aún más el dulzor de este tipo de vinos.
14. En una variedad aromática como la Malvasía blanca, sería interesante, en posteriores elaboraciones, el empleo de técnicas como la maceración prefermentativa en frío, para aumentar la extracción de compuestos volátiles.
15. Ambos tipos de vinos tienen una baja graduación alcohólica. Es posible que una prolongación de la fermentación nos permita obtener vinos más complejos, con unas mejores características organolépticas.



# 6 BIBLIOGRAFÍA

---

1. Alves, R.F., Nascimento, A.M.D., Nogueira, J.M.F. (2005). Characterization of the aroma profile of Madeira wine by sorptive extraction techniques. *Analytica Chimica Acta*, 546, 11-21.
2. Asenjo J. (2001). Propuesta de clasificación de los vinos dulces y de licor. [www.elmundovino.com](http://www.elmundovino.com)
3. Bellincontro, A., De Santis, D., Botondi, R., Villa, I., Mencarelli, F. (2004). Different postharvest dehydration rates affect quality characteristics and volatile compounds of Malvasia, Trebbiano and Sangiovese grapes for wine production. *Journal of Food Science and Agriculture*, 1791-1800.
4. Bonino, M., Schellino, R., Rizzi, C., Aigotti, R., Delfini, C., Baiocchi, C. (2003). Aroma compounds of an Italian wine by HS-SPME analysis coupled with GC-ITMS. *Food Chemistry*, 80, 125-133.
5. Burdaspal, P.A.; Legarda, T.M. (1999). Ocratoxina A en vinos, mostos y zumos de uva elaborados en España y otros países europeos. *Alimentaria* 36: 107-114.
6. Cabello Sáenz de Santa María F., y otros. (2011). Variedades de vid en España. Editorial Agrícola Española, S.A., Madrid, España, 133-136.
7. Campo, E.; Cacho, J.; Ferreira, V. (2008). The chemical characterization of the aroma of dessert and sparkling white wines (Pedro Ximénez, Fino, Sauternes, and Cava) by gas chromatography-olfactometry and chemical quantitative analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 2477-2484.

8. Carbonell-Barrachina, Á. A., Memmi, H., Noguera-Artiaga, L., Gijón-López, M. d. C., Ciapa, R., & Pérez-López, D. (2015). Quality attributes of pistachio nuts as affected by rootstock and deficit irrigation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(14), 2866-2873. doi: 10.1002/jsfa.7027
9. Costantini V.; Bellincontro, A.; De Santis, D.; Botondi, R.; and Mencarelli, F.(2006) Metabolic Changes of Malvasia Grapes for Wine Production during Postharvest Drying. *J. Agric. Food Chem.*, 2006, 54 (9), pp 3334–3340. Department of Food Science and Technology, University of Viterbo, Italy.
10. Coulter, A.P., Henschke, P.A., Simos, C.A. and Pretorius, I.S. (2008). When the heat is on, yeast fermentation runs out of puff. *Australian and New Zealand Wine Industry Journal*, 26-30.
11. De Rosa T. (1998). *Tecnología de los vinos blancos*. Ediciones Mundi-Prensa, 193-209.
12. Del Caro, A., Fanara, C., Genovese, A., Moio, L., Piga, A., Piombino, P. (2012). Free and enzymatically hydrolysed volatile compounds of sweet wines from Malvasia and Muscat grapes grown in Sardinia. *S. Afr. J. Enol. Vitc.*, 33, 15-121.
13. Del Pozo Bayón, M. (2011). Descifrando las claves químicas que explican el aroma del vino. [www.acenología.com](http://www.acenología.com)
14. Domizio, P., Lencioni, L. (2011). Vin Santo. *Food and Nutrition Research*, 63, 41-100.
15. Erasmus, D.J., van der Merwe, G.K. and van Vuuren, H.J. (2003). GEnome-wide expression analyses: Metabolic adaptation of *Saccharomyces cerevisiae* to high sugar stress. *FEMS Yeast Research*, 375-399.

16. Escudero, A., Gogorza, B., Melús, A. Ortin, N., Cacho, J. and Ferreira, V. (2004). Characterization of the aroma of a wine from Macabeo. Key role by compounds with low odor activity values. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 3516-3524.
17. Flanzy, C. (2000). *Metabolismo anaerobio de la uva. Enología: Fundamentos científicos y tecnológicos*. Ediciones AMV-Mundi-Prensa, Madrid, España.
18. Franco, M., Peinado, R.A., Medina, M., Moreno, J. (2004). Off-wine grape drying effect on volatile compounds and aromatic series in must from Pedro Ximénez grape variety. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 3905-3910.
19. Gambuti, A.; Strollo, D.; Genovese, A.; Ugliano, M.; Ritieni, A.; Moio, L.; (2005). Influence of enological practices on ochratoxin A concentration in wine. *Am. J. Enol. Vitic.* 56: 155-162.
20. García Martínez, M.T. (2012). *Uso de levaduras seleccionadas osmotolerantes, libres y coinmovilizadas, para la producción de vinos dulces*. Tesis Doctoral. Universidad de Córdoba.
21. Gardner, N., Rodriguez, N. and Champagne, P.C. (1993). Combined effects of sulfites, temperatura and agitation time on production of glycerol in grape juice by *Saccharomyces cerevisiae*. *Appl. Environ. Microbiol*, 2022-2028.
22. Gómez, C.; Bragulat, M.R.; Abarca, M.L.; Minguez, S.; Cabañes, F.J. (2006). Ochratoxin A producing fungi from grapes intended for liqueur wine production. *Food Microbiol.* 23: 541-545.
23. Hale, C.R. (1981). Interaction between temperature and potassium and grape acids. In CSIRO division of horticultural research report. Glen Osmond, South Australia, 87-88.

24. Hidalgo Togados, J. (2003). Tratado de Enología. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, España, 995-1025.
25. Hidalgo, J. (2006). La calidad del vino desde el viñedo, 173. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid.
26. Hidalgo, L. (1999). Tratado de Viticultura General. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, España, 853-859.
27. Hugling, P. and Schneider, C. (1998). Biologie et écologie de la vigne. Cachan, France: Editions Tec&Doc Lavoisier.
28. Irena BUDIĆ-LETO, I.; HUMAR, I. ; ZDUNIĆ, G.; HRIBAR, J. and ZLATIĆ, E. (2015). Volatile Compounds in Prošek Dessert Wines Produced from White and Red Grapes. Food Analysis, Food Quality and Nutrition. Czech J. Food Sci., 33, (4): 354–360.
29. Jackson, R.S. (2008). Wine Science. Principles and Applications. Ed. Academic Press. London, UK.
30. Jones, G.U., Duchene, E., Tomasi, D., Yuste, J., Braslavksa, O., Schultz, H. (2005). Changes in european winegrape phenology and relationships with climate. GESCO 2005.
31. Keller, M. (2009). Managing grapevines to optimise fruit development in a challenging environment. Australian Journal of grape and wine Research, 56-69.
32. Loira Calvar, I. (2014). Optimización de parámetros fermentativos de calidad en vinos tintos de zonas cálidas. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Madrid.

33. Loizzo, M. R., Bones, M., Di Lecce, G. (2013). Phenolics aroma profile and in vitro antioxidant activity of Italian dessert passito wine from Saracena (Italy). *Journal of Food Science*, 78, 703-708.
34. López, R., Ortin, N., Pérez-Trujillo, J.P., Cacho, J., Ferreira, V. (2003). Impact odorants of different Young White wines from the Canary Islands. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 3419-3425.
35. Maicas, S., Gil, J.V., Pardo, I. and Ferrer, S. (1999). Improvement of volatile composition of wines by controlled addition of malolactic bacteria. *Food Research International*, 491-496.
36. Marín, S.; Valero, A.; Ramos, A.J.; Sanchis, V. (2007). Universidad de Lleida. Presencia de Ocratoxina A (OTA) en vinos especiales europeos. La pasificación y su repercusión en el contenido de OTA en los vinos. *International Symposium Microbiology and Food Safety of Wine*. Villafranca del Penedés.
37. Márquez Valle A. (2012). Estudio del secado en condiciones controladas y proceso de vinificación de uvas tintas destinadas a la obtención de vinos dulces andaluces de calidad. Tesis Doctoral. Universidad de Córdoba.
38. Márquez, A.; Serratos, M.P.; and Mérida, J. (2013). Quality Improvement in Sweet Red Wines Through an Alternative Grape-Drying System. *S. Afr. J. Enol. Vitic.*, Vol. 34, No. 2.
39. Marquez, A; Serratos, M.P.; Mérida J. (2013). Color y composición antociánica de vinos tintos dulces elaborados con distintas técnicas de vinificación y deshidratación de las uvas. Departamento Química Agrícola y Edafología. Universidad de Córdoba.
40. Moreno Arribas, M.V. and Polo, M.C. (2009). *Wine chemistry and biochemistry*. Ed. Springer ,USA.

41. Moreno Pérez, A.A. (2013). Técnicas enológicas de frío y enzimáticas aplicadas a la extractabilidad de Syrah, Cabernet sauvignon y Monastrell. Tesis Doctoral. Universidad de Murcia.
42. Moreno Vigar, J.J.; Peinado Amores, R.A. (2010). Química Enológica. AMV Ediciones, Madrid, España, 55, 117-131, 207-219, 242, 266, 288.
43. NIST (National Institute of Standards and Technology), <http://webbook.nist.gov/chemistry/name-ser.html> [visitada en mayo de 2016].
44. Nurgel, C.; Pickering, G. J. (2006). Modeling of sweet, bitter and irritant sensations and their interactions elicited by model ice wines. *Journal of Sensory Studies*, 21, 505-519.
45. Olarte García, A. (2012). Diseño y automatización del proceso de elaboración del vino dulce. Proyecto Fin de Carrera. Universidad de La Rioja.
46. Ollat, N., Diakou-Verdin, P., Carde, J.P., Barrieu, F., Gaudillere, J.P., and Moing, A. (2002). Grape berry development. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, 109-131.
47. Otamendi J. J. y El Grifo S.A. (2010). La Malvasía atlántica. Dudas, errores, y algunas certezas. [www.elgrifo.com](http://www.elgrifo.com)
48. Ough, C.S., Fong, D. and Amerine, M.A, (1972). Glycerol in wine: determination and some affecting. *Am. J. Enol. Vitic.*, 1-5.
49. Palliotti, A., Cartecini, A., Silvestroni, O. and Mattiolo, S. (2005). Respiration activity in different above-ground organs of *Vitis vinifera* L. in response to temperature and developmental stage. *Acta Hort (ISHS)*, 159-166.

50. Peinado, J., López de Lerma, N., Moreno, J. Peinado, R., (2009). Antioxidant activity of different phenolics fraction isolated in must from Pedro Ximénez grapes at different stages off the off-vine drying process. *Food Chemistry*, 1050-1055.
51. Pereira, V., Cacho, J., Marques, J.C. (2014). Volatile profile of Madeira wines submitted to traditional accelerated ageing. *Food Chemistry*, 162, 122-134.
52. Perestrelo, R., Barros, A.S., Rocha, S.M., Cámara, J.S.. (2014). Establishment of the varietal profile of *Vitis vinífera* L. grape varieties from different geographical regions based on HS-SPME/GC-qMS combined with chemometrics tools. *Microchemical Journal*, 116, 110-117.
53. Perestrelo, R., Caldeira, M., Cámara, J.S. (2012). Solid phase microextraction as a reliable alternative to conventional extraction techniques to evaluate the pattern of hydrolytically released components in *Vitis vinifera* L. grapes. *Science Direct, Talanta*, 95, 1-11.
54. Piernicola Masella, Lorenzo Guerrini, Fabio Baldi, Paolo Spugnoli, and Alessandro Parenti.(2014) Comparison of two grapes shrivels techniques: mechanical ventilation and dehumidification. *GESAAF – Università degli Studi di Firenze*.
55. Piombino, P., Genovese, A., Gambuti, A., Lamorte, S.A., Lisanti, M.T. and ;oio, L. (2010). Effects of off-vine bunches shading and cryomaceration on free and glycosilated flavours of Malvasía delle Lipari wine. *International Journal of Food Science and Technology*, 45, 234-244.
56. Radler, F. and Schutz, H. (1982). Glycerol production of various strains of *Saccharomyces*. *Am. J. Enol. Vitic.*, 36-40.

57. Ribéreau-Gayon, P.; Dubourdieu, D.; Donéche B.; Lonvaud, A. (1998). Tratado de Enología. Tomo 1. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, España, 239-244, 258, 317-324, 361-376, 384-385, 591-603, 621-626.
58. Rizzini, F.M. and Bonghi, C. (2010). Effects of Postharvest Partial Dehydration and Prolonged Treatments with Ethylene on Transcript Profiling in Skins of Wine Grape Berries. Department of Environmental Agronomy and Crop Science University of Padova, Italy.
59. Rodríguez-Bencomo, J.J., Cabrera-Valido, H.M.; Pérez-Trujillo, J.P., Cacho, J. (2011). Bound aroma compounds of Marmajuelo and Malvasia grape varieties and their influence on the elaborated wines. *European Food Research and Technology*, 233, 413-426.
60. Rodríguez-Torres, I. Cabello, F., Zerolo, J., y otros. (2009). La Malvasía en las Denominaciones de Origen españolas. Homonimias y sinonimias. En Tercer Simposio Internacional "Malvasía". La Palma.
61. Rolle L.; Torchio, F.; Zeppa, G.; Bertolino, M.; Cagnasso, E.; Gerbi, V. (2010). Secado en la vid: parámetros físicos y mecánicos de las variedades de uva como marcadores varietales para la estimación de su comportamiento en la elaboración de vinos de hielo. *ACE: Revista de enología*, 119.
62. Rosáenz Oroz, D.; Martínez Ruiz, R.; Vaquero Fernández, L. (2012). Elaboración de vinos de hielo en La Rioja: Impacto de la congelación natural y artificial. *Zubía, revista de ciencias. Gobierno de La Rioja*. 30: 199-223.
63. SAFC (Sigma Aldrich Flavors & Fragrances). (2011). [http://www.sigmaaldrich.com/content/dam/sigmaaldrich/docs/SAFC/General\\_Information/1/safc\\_flavors\\_and\\_fragrances\\_catalog.pdf](http://www.sigmaaldrich.com/content/dam/sigmaaldrich/docs/SAFC/General_Information/1/safc_flavors_and_fragrances_catalog.pdf) (Visitada en mayo de 2016).

64. Shimazu, Y. and Watanabe, M. (1981). Effects of yeast strains and environmental conditions on formation of organic acid in must during fermentation. *Journal of Fermentation Technology*, 27-32.
65. Sotomayor Soler J.P. (1982). Efecto de diferentes grados de ataque de Botrytis en frutos de vid cv. Sauvignonasse sobre las características del vino. *Agricultura Técnica (Chile)*. 42 (3): 223-226.
66. Suarez Lepe J.A. (1997). Levaduras vínicas. Funcionalidad y uso en bodega. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, España, 93-11, 151-166.
67. Suarez Lepe J.A.; Iñigo Leal, B. (2004). *Microbiología Enológica. Fundamentos de vinificación*. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, España, 611-629.
68. Teberio Domaica, D. (2014). *Vinificación con uvas sobremaduras de la variedad Tempranillo*. Trabajo Fin de Grado. Universidad de la Rioja.
69. Vilanova, M., escuderos, A., Graña, M., Cacho, J. (2013). Volatile composition and sensory properties of North West Spain White wines. *Food Research International*, 54, 562-568.
70. Vilela-Moura, A., Schuller, D., Mendes-Faia, A. and Corte-Real, M. (2008). Reduction of volatile acidity of wines by selected yeast strains. *Appl. Microbiol Biotechnol*, 881-890.
71. Vitivinícola del Ribeiro, S.C.G. (2003). Proyecto de recuperación del Tostado do Ribeiro. Informe técnico para Denominación de Origen Ribeiro.
72. Wesley Esdras, S.; Janet Teruel, B.; Galdino Figueredo, D. (2014). Postharvest dehydration of Syrah grapes under controlled temperatura conditions with real-time monitoring of mass loss. *Academic Journals*, Vol. 10 (4), 229-234.

# 7 ANEJOS

<b>Máster Universitario Oficial en Viticultura y Enología</b> VINOS MALVASÍA ELABORADOS CON UVAS SOBREMADURAS	<b>UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ DE ELCHE</b> ESCUELA POLITÉCNICA SUPERIOR DE ORIHUELA <b>EVALUACIÓN SENSORIAL DEL VINO</b> (Valoración Creciente)	 UNIVERSITAS Miguel Hernández																																																			
<b>Fecha:</b> _____ <b>Catador:</b> _____																																																					
<b>Muestra:</b> _____																																																					
	<b>APRECIACIÓN</b>	<b>COMENTARIOS – Puntuación</b>																																																			
<b>VISTA</b>	<b>Aspecto:</b> <table border="1" style="width: 100%;"> <tr> <td>Limpidez</td> <td>Turbio</td> <td>Velado</td> <td>Limpio</td> <td>Brillante</td> </tr> <tr> <td>Intensidad</td> <td>Baja</td> <td>Media</td> <td>Alta</td> <td>Muy alta</td> </tr> </table> <b>Matiz:</b> Blanco <table border="1" style="width: 100%;"> <tr> <td>Acerado</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Amarillo verdoso</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Amarillo pajizo</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Amarillo dorado</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Caoba</td> <td></td> </tr> </table>	Limpidez	Turbio	Velado	Limpio	Brillante	Intensidad	Baja	Media	Alta	Muy alta	Acerado		Amarillo verdoso		Amarillo pajizo		Amarillo dorado		Caoba		<b>Nota:</b> _____ /10																															
Limpidez	Turbio	Velado	Limpio	Brillante																																																	
Intensidad	Baja	Media	Alta	Muy alta																																																	
Acerado																																																					
Amarillo verdoso																																																					
Amarillo pajizo																																																					
Amarillo dorado																																																					
Caoba																																																					
<b>NARIZ</b>	<table border="1" style="width: 100%;"> <tr> <td></td> <td style="text-align: center;">Poca</td> <td style="text-align: center;">Media</td> <td style="text-align: center;">Alta</td> <td style="text-align: center;">Muy alta</td> </tr> <tr> <td>Intensidad</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Finura</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </table> <b>Matices Aromáticos:</b> <table border="1" style="width: 100%;"> <tr> <td>Florales</td> <td>Minerales</td> <td>Alcohólico</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Fruta fresca</td> <td>Maderas frescas</td> <td>Láctico</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Fruta del bosque</td> <td>Maderas viejas</td> <td>Animal/Cuero</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Fruta madura</td> <td>Confitura</td> <td>Químico</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Fruta pasa</td> <td>Especias</td> <td>Humedad</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Frutos secos</td> <td>Balsámicos</td> <td>Oxidado</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Herbáceos</td> <td>Tostados</td> <td>Volátil</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Vegetales</td> <td>Ahumado</td> <td>Sulfurado</td> <td></td> </tr> </table>		Poca	Media	Alta	Muy alta	Intensidad					Finura					Florales	Minerales	Alcohólico		Fruta fresca	Maderas frescas	Láctico		Fruta del bosque	Maderas viejas	Animal/Cuero		Fruta madura	Confitura	Químico		Fruta pasa	Especias	Humedad		Frutos secos	Balsámicos	Oxidado		Herbáceos	Tostados	Volátil		Vegetales	Ahumado	Sulfurado		<b>Nota:</b> _____ /30				
	Poca	Media	Alta	Muy alta																																																	
Intensidad																																																					
Finura																																																					
Florales	Minerales	Alcohólico																																																			
Fruta fresca	Maderas frescas	Láctico																																																			
Fruta del bosque	Maderas viejas	Animal/Cuero																																																			
Fruta madura	Confitura	Químico																																																			
Fruta pasa	Especias	Humedad																																																			
Frutos secos	Balsámicos	Oxidado																																																			
Herbáceos	Tostados	Volátil																																																			
Vegetales	Ahumado	Sulfurado																																																			
<b>BOCA</b>	<b>Elementos del sabor:</b> <table border="1" style="width: 100%;"> <tr> <td></td> <td style="text-align: center;">Nada</td> <td style="text-align: center;">Poco</td> <td style="text-align: center;">Medio</td> <td style="text-align: center;">Alto</td> <td style="text-align: center;">Excesivo</td> </tr> <tr> <td>Cuerpo</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Acidez</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Dulzor</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Sequedad</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Amargor</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Alcohol</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </table> <b>Persistencia:</b> <table border="1" style="width: 100%;"> <tr> <td>--</td> <td>-</td> <td>=</td> <td>+</td> <td>++</td> </tr> </table> <b>Impresión general:</b> <table border="1" style="width: 100%;"> <tr> <td>Desequilibrado</td> <td>Equilibrado</td> <td>Armonioso</td> <td></td> </tr> </table>		Nada	Poco	Medio	Alto	Excesivo	Cuerpo						Acidez						Dulzor						Sequedad						Amargor						Alcohol						--	-	=	+	++	Desequilibrado	Equilibrado	Armonioso		<b>Nota:</b> _____ /60
	Nada	Poco	Medio	Alto	Excesivo																																																
Cuerpo																																																					
Acidez																																																					
Dulzor																																																					
Sequedad																																																					
Amargor																																																					
Alcohol																																																					
--	-	=	+	++																																																	
Desequilibrado	Equilibrado	Armonioso																																																			
<b>CONCLUSIÓN</b>	<b>Calidad:</b> <table border="1" style="width: 100%;"> <tr> <td>Defectuoso</td> <td>Mediocre</td> <td>Bueno</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Muy bueno</td> <td>Gran vino</td> <td>Excepcional</td> <td></td> </tr> </table>	Defectuoso	Mediocre	Bueno		Muy bueno	Gran vino	Excepcional		<b>Nota:</b> _____ /100																																											
Defectuoso	Mediocre	Bueno																																																			
Muy bueno	Gran vino	Excepcional																																																			

## ANEJO I. FICHA DE CATA EVALUACIÓN SENSORIAL





**Cooperativa Agro-Vinícola "Nuestra Señora del Rosario de Bullas"**

Avenida Libertad, S/N  
30180 Bullas Murcia (ESPAÑA)  
Interlocutor: Juan José

Muestreo: 23/07/2015 - 13:00 Fitosoil - PTS-MU/001\*

Recogida: 23/07/2015 - 13:00 Fitosoil

Entrada: 23/07/2015 - 18:10 Inicio: 23/07/2015 Finalización: 05/08/2015

Análisis solicitados : SC - Suelo estándar

Ref.: Suelo Malvasía

Descripción: Suelo (2Kg. aprox.)

Matriz: Suelo

Obs. :

**ANÁLISIS DE SUELO** (físico-químico)

GRANULOMETRÍA (fracción <2mm)		Resultado		Textura (U.S.D.A)		Metodología	
* Arena	(2-0,05 mm)	36,0	% (p/p)	Franco arcilloso		Densímetro de Bouyoucos	
* Limo	(0,05-0,002)	32,0	% (p/p)			Densímetro de Bouyoucos	
* Arcilla	(<0,002 mm)	32,0	% (p/p)			Densímetro de Bouyoucos	
* Densidad aparente		1,436	g/cc			Cálculo matemático	

SALINIDAD		Resultado		M.BAJO**	BAJO**	MEDIO**	ALTO**	M.ALTO**	
Conductividad elec. (25°C) ext. acuoso 1/5 (p/v)		0,160	mS/cm						PTA-FQ/005, conductímetro
Cloruro sol. en extracto acuoso 1/5 (p/v)	Cl	< 0,070	meq/100g						PTA-FQ/012, c. iónica
Sulfato sol. en extracto acuoso 1/5 (p/v)	Yeso	0,013	% (p/p)						PTA-FQ/012, c. iónica
Sodio asimilable	Na	0,209	meq/100g						PTA-FQ/009, BaCl2-TEA, ICP-AES

REACCIÓN DEL SUELO		Resultado		Escala de reacción					
pH en KCl 1M extracto 1/2 (v/v)		7,14	Ud. pH	[Barra de escala]					PTA-FQ/004, pH-metro
* Caliza total	CaCO3	53,4	% (p/p)	[Barra de escala]					PTA-FQ/013, calcímetro Bernard
* Caliza activa	CaCO3	8,7	% (p/p)	[Barra de escala]					PTA-FQ/013, ext. oxal. amónico

MATERIA ORGÁNICA		Resultado		Escala de materia orgánica					
* Materia orgánica total	MOT	1,31	% (p/p)	[Barra de escala]					PTA-FQ/014, ox. dicromato
* Carbono orgánico total	C	0,76	% (p/p)	[Barra de escala]					PTA-FQ/014, ox. dicromato
* Relación carbono/nitrógeno	C/N	13,8		[Barra de escala]					Cálculo matemático

**ANEJO IV. ANÁLISIS SUELO PARCELA MALVASÍA**

MACRONUTRIENTES PRIMARIOS		Resultado	M.BAJO**	BAJO**	MEDIO**	ALTO**	M.ALTO**	Metodología
Nitrógeno total	N	0,055 % (p/p)						PTA-FQ/036, analizador
Nitrógeno nítrico sol. en ext. acuoso 1/5 (p/v)	N	12,3 mg/kg						PTA-FQ/012, c. iónica
Fósforo asimilable	P	15,9 mg/kg						PTA-FQ/015, Olsen, ICP-AES
Potasio asimilable	K	1,13 meq/100g						PTA-FQ/009, BaCl2-TEA, ICP-AES
MACRONUTRIENTES SECUNDARIOS								
Calcio asimilable	Ca	15,8 meq/100g						PTA-FQ/009, BaCl2-TEA, ICP-AES
Magnesio asimilable	Mg	0,71 meq/100g						PTA-FQ/009, BaCl2-TEA, ICP-AES
MICRONUTRIENTES								
Hierro asimilable	Fe	3,73 mg/Kg						PTA-FQ/010, ext. DPTA, ICP-AES
Manganeso asimilable	Mn	9,1 mg/Kg						PTA-FQ/010, ext. DPTA, ICP-AES
Zinc asimilable	Zn	0,441 mg/Kg						PTA-FQ/010, ext. DPTA, ICP-AES
Cobre asimilable	Cu	0,77 mg/Kg						PTA-FQ/010, ext. DPTA, ICP-AES
* Boro asimilable	B	0,193 mg/Kg						PTA-FQ/011, ext. acuosa, ICP-AES
ESTUDIO DE LOS CATIONES ASIMILABLES								
Proporciones relativas		% Cat. asimilables						
* Proporción relativa de sodio (PSI)		1,2						Cálculo matemático
* Proporción relativa de potasio		6,3						Cálculo matemático
* Proporción relativa de calcio		88,5						Cálculo matemático
* Proporción relativa de magnesio		4,0						Cálculo matemático
Interacciones		Resultado						
* Relación calcio/magnesio	Ca/Mg	22,2						Cálculo matemático
* Relación potasio/magnesio	K/Mg	1,58						Cálculo matemático

Resultados obtenidos sobre muestra seca al aire y fracción <2mm.

p/p: peso/peso.

p/v: peso/volumen.

Responsable Técnico Dpto. FÍSICO QUÍMICO  
Bernardo Marín Romero

Director Técnico  
Antonio Abellán Caravaca

## ANEJO IV. ANÁLISIS SUELO PARCELA MALVASÍA



**Región de Murcia**  
Consejería de Agua, Agricultura y Medio Ambiente

**Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agrario y Alimentario**  
**LABORATORIO ENOLÓGICO DE JUMILLA**  
Avda Asunción nº 24 - 30520 Jumilla (Murcia)  
Tel: 968 75 75 80, Fax: 968 71 60 26



## INFORME DE ENSAYO



(\*) Los ensayos marcados no están amparados por la acreditación de ENAC.

<b>Cliente :</b> BODEGA COOP. NUESTRA SEÑORA DEL ROSARIO	<b>Núm.Boletín:</b> 201505612	<b>Reg. Salida:</b> 1503044
<b>NIF :</b> F30003412	<b>Nº Muestra :</b> 201503542	
<b>Domicilio :</b> Avenida de la Libertad s/n	<b>Registro muestra :</b> 09/12/2015	
<b>Población :</b> 30180 Bullas (MURCIA)	<b>Inicio análisis :</b> 11/12/2015	
<b>Contacto :</b> Luis Javier Pérez Prieto	<b>Finalización análisis :</b> 14/12/2015	
<b>Muestra :</b> VINO - BLANCO DULCE		
<b>Lacre :</b> Precintada		

**Marca :** A 1

Ac	Nombre Determinación	Resultado	Método
	Grado alcohólico adquirido 20°C (%volumen)	9.71 ±0.15 % vol.	PTM-02. Destilac-Densim.Electr
*	Azúcares reductores (g/L)	222.9 g/L	PTM-11. Flujo continuo
*	Azúcares totales (g/L)	217.1 g/L	PTM-12. Flujo continuo

**OBSERVACIONES:** El resultado informado para los azúcares reductores es superior al resultado de los azúcares totales debido a que ambos parámetros se analizaron en dilución 1:20 vol/vol.

La muestra fue facilitada por el propio cliente. El análisis sólo da fe de la muestra recibida. Este boletín no se puede reproducir parcialmente sin la aprobación por escrito de la entidad emisora.  
Las Incertidumbres están calculadas con un nivel de confianza del 95 %.

Emitido por: Laboratorio Enológico de Jumilla  
en Jumilla a 14 de Diciembre de 2015

Responsable Técnico.

JUAN ANTONIO BLEDA SÁNCHEZ

Este es una copia auténtica imprimible de un documento electrónico administrativo archivado por la Comunidad Autónoma de Murcia, según el artículo 305 de la Ley 11/2007, de 22 de junio. Su autenticidad puede ser contrastada accediendo a la siguiente dirección: <https://sede.cerma.es/verificadocumento> e introduciendo el código seguro de verificación (CSV) 61145de0a03-4338-0a4057103846



### ANEJO V(i). ANÁLISIS GRADO ALCOHÓLICO Y AZÚCARES DEPÓSITO A1



**Región de Murcia**  
Consejería de Agua, Agricultura y Medio Ambiente

**Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agrario y Alimentario**  
**LABORATORIO ENOLÓGICO DE JUMILLA**  
Avda Asunción nº 24 - 30520 Jumilla (Murcia)  
Tel: 968 75 75 60, Fax: 968 71 60 26



## INFORME DE ENSAYO



(\*) Los ensayos marcados no están amparados por la acreditación de ENAC.

<b>Ciente :</b> BODEGA COOP. NUESTRA SEÑORA DEL ROSARIO <b>NIF :</b> F30003412	<b>Núm.Boletín:</b> 201505613	<b>Reg. Salida:</b> 1503044
<b>Domicilio :</b> Avenida de la Libertad s/n	<b>Nº Muestra :</b> 201503543	
<b>Población :</b> 30180 Bullas (MURCIA)	<b>Registro muestra :</b> 09/12/2015	
<b>Contacto :</b> Luis Javier Pérez Prieto	<b>Inicio análisis :</b> 11/12/2015	
	<b>Finalización análisis :</b> 14/12/2015	
<b>Muestra :</b> VINO - BLANCO DULCE		
<b>Lacre :</b> Precintada		

**Marca :** A 2

Ac	Nombre Determinación	Resultado	Método
	Grado alcohólico adquirido 20°C (%volumen)	10.34 ±0.15 % vol.	PTM-02. Destilac-Densim.Electr
*	Azúcares reductores (g/L)	203.7 g/L	PTM-11. Flujo continuo
*	Azúcares totales (g/L)	201.4 g/L	PTM-12. Flujo continuo

**OBSERVACIONES:** El resultado informado para los azúcares reductores es superior al resultado de los azúcares totales debido a que ambos parámetros se analizaron en dilución 1:20 vol/vol.

La muestra fue facilitada por el propio cliente. El análisis sólo da fe de la muestra recibida. Este boletín no se puede reproducir parcialmente sin la aprobación por escrito de la entidad emisora.  
Las Incertidumbres están calculadas con un nivel de confianza del 95 %.

Emitido por: Laboratorio Enológico de Jumilla  
en Jumilla a 14 de Diciembre de 2015

Responsable Técnico.

JUAN ANTONIO BLEDA SÁNCHEZ

Firmado: BLEDA SANCHEZ, JUAN ANTONIO  
 Este es una copia auténtica imprimible de un documento electrónico archivado por la Comunidad Autónoma de Murcia, según el artículo 30.5 de la Ley 11/2007, de 22 de junio. Su autenticidad puede ser contrastada accediendo a la siguiente dirección: https://sede.carm.es/verificadocumento e introduciendo el código seguro de verificación (CSV) 6141ba6c0d4121730720807166



### ANEJO V(ii). ANÁLISIS GRADO ALCOHÓLICO Y AZÚCARES DEPÓSITO A2



**Región de Murcia**  
Consejería de Agua, Agricultura y Medio Ambiente

**Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agrario y Alimentario**  
**LABORATORIO ENOLÓGICO DE JUMILLA**  
Avda Asunción nº 24 - 30520 Jumilla (Murcia)  
Tel: 968 75 75 80, Fax: 968 71 60 26



## INFORME DE ENSAYO



(\*) Los ensayos marcados no están amparados por la acreditación de ENAC.

<b>Cliente :</b> BODEGA COOP. NUESTRA SEÑORA DEL ROSARIO <b>NIF :</b> F30003412 <b>Domicilio :</b> Avenida de la Libertad s/n <b>Población :</b> 30180 Bullas (MURCIA) <b>Contacto :</b> Luis Javier Pérez Prieto	<b>Núm.Boletín:</b> 201505614 <b>Reg. Salida:</b> 1503044 <b>Nº Muestra :</b> 201503544 <b>Registro muestra :</b> 09/12/2015 <b>Inicio análisis :</b> 11/12/2015 <b>Finalización análisis :</b> 14/12/2015
<b>Muestra :</b> VINO - BLANCO DULCE <b>Lacre :</b> Precintada	

**Marca :** A 3

Ac	Nombre Determinación	Resultado	Método
	Grado alcohólico adquirido 20°C (%volumen)	10.77 ±0.15 % vol.	PTM-02. Destilac-Densim,Electr
*	Azúcares reductores (g/L)	188.6 g/L	PTM-11. Flujo continuo
*	Azúcares totales (g/L)	185.6 g/L	PTM-12. Flujo continuo

**OBSERVACIONES:** El resultado informado para los azúcares reductores es superior al resultado de los azúcares totales debido a que ambos parámetros se analizaron en dilución 1:20 vol/vol.

La muestra fue facilitada por el propio cliente. El análisis sólo da fe de la muestra recibida. Este boletín no se puede reproducir parcialmente sin la aprobación por escrito de la entidad emisora.

Las Incertidumbres están calculadas con un nivel de confianza del 95 %.

Emitido por: Laboratorio Enológico de Jumilla  
en Jumilla a 14 de Diciembre de 2015

Responsable Técnico.

JUAN ANTONIO BLEDA SÁNCHEZ

FEDOMINIO: BLEDA SANCHEZ, JUAN ANTONIO



Este es un copia auténtica imprimible de un documento electrónico administrativo archivado por la Comunidad Autónoma de Murcia, según artículo 37.5 de la Ley 11/2007, de 22 de junio. Su autenticidad puede ser comprobada accediendo a la siguiente dirección: <https://sede.carm.es/verificadocumen> e introduciendo el código seguro de verificación (CSV) 14172015178920

### ANEJO V(iii). ANÁLISIS GRADO ALCOHÓLICO Y AZÚCARES DEPÓSITO A3



**Región de Murcia**  
Consejería de Agua, Agricultura y Medio Ambiente

**Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agrario y Alimentario**  
**LABORATORIO ENOLÓGICO DE JUMILLA**  
Avda Asunción nº 24 - 30520 Jumilla (Murcia)  
Tel: 968 75 75 60, Fax: 968 71 60 26



## INFORME DE ENSAYO



(\*) Los ensayos marcados no están amparados por la acreditación de ENAC.

<b>Ciente :</b> BODEGA COOP. NUESTRA SEÑORA DEL ROSARIO <b>NIF :</b> F30003412	<b>Núm.Boletín:</b> 201505615	<b>Reg. Salida:</b> 1503044
<b>Domicilio :</b> Avenida de la Libertad s/n	<b>Nº Muestra : 201503545</b>	
<b>Población :</b> 30180 Bullas (MURCIA)	<b>Registro muestra :</b> 09/12/2015	
<b>Contacto :</b> Luis Javier Pérez Prieto	<b>Inicio análisis :</b> 11/12/2015	
	<b>Finalización análisis :</b> 14/12/2015	
<b>Muestra :</b> VINO - BLANCO DULCE		
<b>Lacre :</b> Precintada		

**Marca :** C 1

Ac Nombre Determinación	Resultado	Método
Grado alcohólico adquirido 20°C (%volumen)	9.50 ±0.15 % vol.	PTM-02. Destilac-Densim,Electr
* Azúcares reductores (g/L)	134.0 g/L	PTM-11. Flujo continuo
* Azúcares totales (g/L)	133.0 g/L	PTM-12. Flujo continuo

**OBSERVACIONES:** El resultado informado para los azúcares reductores es superior al resultado de los azúcares totales debido a que ambos parámetros se analizaron en dilución 1:20 vol/vol.

La muestra fue facilitada por el propio cliente. El análisis sólo da fe de la muestra recibida. Este boletín no se puede reproducir parcialmente sin la aprobación por escrito de la entidad emisora.  
Las Incertidumbres están calculadas con un nivel de confianza del 95 %.

Emitido por: Laboratorio Enológico de Jumilla  
en Jumilla a 14 de Diciembre de 2015

Responsable Técnico.

JUAN ANTONIO BLEDA SÁNCHEZ

14112063.1.P.18  
 Emitido por: BLEDA SANCHEZ, JUAN ANTONIO  
 Este es una copia auténtica imprimible de un documento electrónico administrativo emitido por la Comunidad Autónoma de Murcia, según el artículo 38.5 de la Ley 11/2007, de 27 de junio.  
 Su autenticidad puede ser contrastada accediendo a la siguiente dirección: <https://sede.carm.es/verificadocumentos> e introduciendo el código seguro de verificación (CSV) 01411206-0003-7720-30545768001



### ANEJO V(iv). ANÁLISIS GRADO ALCOHÓLICO Y AZÚCARES DEPÓSITO C1



**Región de Murcia**  
Consejería de Agua, Agricultura y Medio Ambiente

**Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agrario y Alimentario**  
**LABORATORIO ENOLÓGICO DE JUMILLA**  
Avda Asunción nº 24 - 30520 Jumilla (Murcia)  
Tel: 968 75 75 80, Fax: 968 71 60 26



## INFORME DE ENSAYO



(\*) Los ensayos marcados no están amparados por la acreditación de ENAC.

<b>Ciente :</b> BODEGA COOP. NUESTRA SEÑORA DEL ROSARIO <b>NIF :</b> F30003412	<b>Núm.Boletín:</b> 201505616	<b>Reg. Salida:</b> 1503044
<b>Domicilio :</b> Avenida de la Libertad s/n	<b>Nº Muestra : 201503546</b>	
<b>Población :</b> 30180 Bullas (MURCIA)	<b>Registro muestra :</b> 09/12/2015	
<b>Contacto :</b> Luis Javier Pérez Prieto	<b>Inicio análisis :</b> 11/12/2015	
	<b>Finalización análisis :</b> 14/12/2015	
<b>Muestra :</b> VINO - BLANCO DULCE		
<b>Lacre :</b> Precintada		

**Marca :** C 2

Ac	Nombre Determinación	Resultado	Método
	Grado alcohólico adquirido 20°C (%volumen)	9.38 ±0.15 % vol.	PTM-02. Destilac-Densim.Electr
*	Azúcares reductores (g/L)	130.9 g/L	PTM-11. Flujo continuo
*	Azúcares totales (g/L)	131.2 g/L	PTM-12. Flujo continuo

**OBSERVACIONES:** El resultado informado para los azúcares reductores es superior al resultado de los azúcares totales debido a que ambos parámetros se analizaron en dilución 1:20 vol/vol.

La muestra fue facilitada por el propio cliente. El análisis sólo da fe de la muestra recibida. Este boletín no se puede reproducir parcialmente sin la aprobación por escrito de la entidad emisora.

Las Incertidumbres están calculadas con un nivel de confianza del 95 %.

Emitido por: Laboratorio Enológico de Jumilla  
en Jumilla a 14 de Diciembre de 2015

Responsable Técnico.

JUAN ANTONIO BLEDA SÁNCHEZ

Firmante: B LEDA SANCHEZ, JUAN ANTONIO  
 Este es una copia auténtica imprimible de un documento electrónico archivado por la Comunidad Autónoma de Murcia, según el artículo 305 de la Ley 11/2007, de 22 de junio. Su autenticidad puede ser contrastada accediendo a la siguiente dirección: <https://sede.carm.es/verificadocumento> e introduciendo el código seguro de verificación (CSV) 6147261-cad846a1-10217955186



### ANEJO V(v). ANÁLISIS GRADO ALCOHÓLICO Y AZÚCARES DEPÓSITO C2



**Región de Murcia**  
Consejería de Agua, Agricultura y Medio Ambiente

**Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agrario y Alimentario**  
**LABORATORIO ENOLÓGICO DE JUMILLA**  
Avenida Asunción nº 24 - 30520 Jumilla (Murcia)  
Tel: 968 75 75 80, Fax: 968 71 60 26



## INFORME DE ENSAYO

<b>Ciente :</b> BODEGA COOP. NUESTRA SEÑORA DEL ROSARIO <b>NIF :</b> F30003412	<b>Núm.Boletín:</b> 201505617 <b>Reg. Salida:</b> 1503044
<b>Domicilio :</b> Avenida de la Libertad s/n <b>Población :</b> 30180 Bullas (MURCIA) <b>Contacto :</b> Luis Javier Pérez Prieto	<b>Nº Muestra : 201503547</b> <b>Registro muestra :</b> 09/12/2015 <b>Inicio análisis :</b> 11/12/2015 <b>Finalización análisis :</b> 14/12/2015
<b>Muestra :</b> VINO - BLANCO DULCE <b>Lacre :</b> Precintada	

**Marca :** C 3

Nombre Determinación	Resultado	Método
Grado alcohólico adquirido 20°C (%volumen)	8.76 % vol.	PTM-02. Destilac-Densim.Electr
Azúcares reductores (g/L)	133.8 g/L	PTM-11. Flujo continuo
Azúcares totales (g/L)	130.0 g/L	PTM-12. Flujo continuo

**OBSERVACIONES:** El resultado informado para los azúcares reductores es superior al resultado de los azúcares totales debido a que ambos parámetros se analizaron en dilución 1:20 vol/vol.

La muestra fue facilitada por el propio cliente. El análisis sólo da fe de la muestra recibida. Este boletín no se puede reproducir parcialmente sin la aprobación por escrito de la entidad emisora.  
Las Incertidumbres están calculadas con un nivel de confianza del 95 %.

Emitido por: Laboratorio Enológico de Jumilla  
en Jumilla a 14 de Diciembre de 2015

Responsable Técnico.

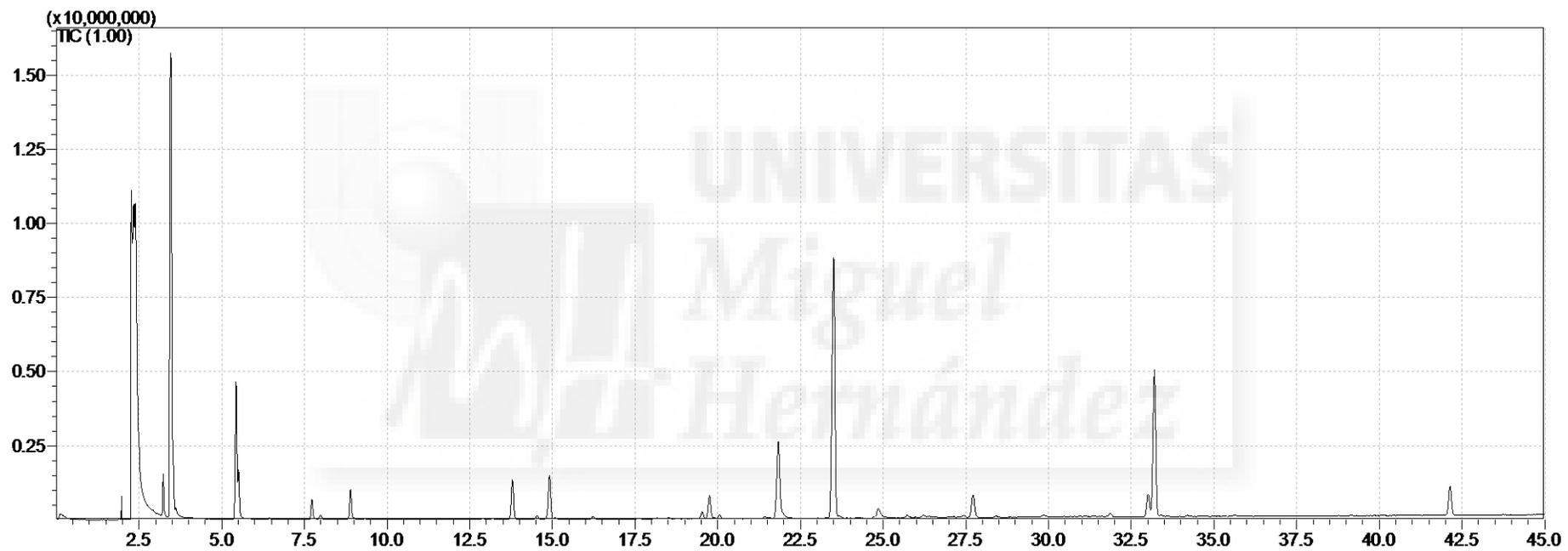
JUAN ANTONIO BLEDA SÁNCHEZ

Firmado por: JUAN ANTONIO BLEDA SÁNCHEZ, JUAN ANTONIO BLEDA SÁNCHEZ  
 Este es una copia auténtica imprimible de un documento electrónico administrativo archivado por la Comunidad Autónoma de Murcia, según el artículo 305 de la Ley 11/2007, de 22 de junio. Su autenticidad puede ser contrastada accediendo a la siguiente dirección: <https://sede.cerema.es/verificadocumento> e introduciendo un código seguro de verificación (CSV) 6141341-cad4-10ae-82323947962



VINO MALVASÍA														
Compound	RT (min)	A1 Area (%)	A1 Area (%)	A2 Area (%)	A2 Area (%)	A3 Area (%)	A3 Area (%)	C1 Area (%)	C1 Area (%)	C2 Area (%)	C2 Area (%)	C3 Area (%)	C3 Area (%)	
1 Sulfur dioxide	2,00	0,14	0,25	0,16	0,21	0,42	0,56	0,14	0,17	0,53	0,88	0,29	0,51	
2 Ethanol	2,34	42,75		24,22		22,70		14,95		30,87		35,38		
3 Ethyl acetate	3,26	1,14	2,04	0,97	1,30	1,02	1,37	0,64	0,80	1,00	1,67	1,60	2,76	
4 Isoamyl alcohol	5,43	6,88	12,30	7,38	9,94	7,21	9,64	5,58	6,94	7,11	11,87	7,72	13,31	
5 Ethyl butyrate	6,44	0,06	0,11	0,04	0,05	0,05	0,06	0,04	0,04	0,05	0,08	0,04	0,06	
6 2,3-Butanediol	7,65	0,88	1,57	0,38	0,52	0,54	0,72	0,13	0,16	0,28	0,47	0,42	0,72	
7 Ethyl lactate or 2,3-butanediol	7,90	0,18	0,32	0,09	0,12	0,16	0,21	0,05	0,07	0,12	0,19	0,09	0,16	
8 Isoamyl acetate	8,87	1,36	2,43	0,74	1,00	0,65	0,87	0,80	0,99	0,72	1,20	0,33	0,57	
9 1-Hexanol	9,31	0,04	0,08	0,09	0,12	0,14	0,18	0,05	0,06	0,05	0,09	0,09	0,15	
10 Myrcene	12,87	0,04	0,08	0,10	0,14	0,08	0,11	0,05	0,06	0,07	0,13	0,07	0,13	
11 Ethyl hexanoate	13,75	2,11	3,77	2,15	2,90	2,15	2,88	2,26	2,81	1,91	3,18	1,83	3,15	
12 Hexyl acetate	14,48	0,17	0,30	0,06	0,08	0,08	0,11	0,06	0,08	0,07	0,12	0,02	0,03	
13 Limonene	14,87	2,54	4,54	5,34	7,19	3,44	4,60	3,15	3,91	5,37	8,97	3,55	6,12	
14 Ocimene	15,56	0,00	0,00	0,05	0,07	0,07	0,09	0,03	0,04	0,02	0,03	0,02	0,03	
15 g-Terpinene	16,18	0,17	0,30	0,41	0,55	0,29	0,39	0,27	0,34	0,45	0,75	0,26	0,45	
16 Terpinolene	17,57	0,04	0,07	0,14	0,20	0,13	0,18	0,11	0,14	0,10	0,16	0,11	0,19	
17 Ethyl heptanoate	18,46	0,08	0,15	0,12	0,16	0,13	0,18	0,11	0,14	0,17	0,29	0,15	0,26	
18 Linalool oxide	18,94	0,01	0,02	0,04	0,05	0,04	0,06	0,00	0,00	0,01	0,01	0,02	0,03	
19 Linalool	19,48	0,39	0,70	0,78	1,05	0,76	1,02	0,48	0,60	0,49	0,82	0,70	1,21	
20 IS= Nonanal	19,69	1,38		1,56		2,52		4,67		9,19		6,57		
21 Hotrienol	20,00	0,25	0,44	0,58	0,78	0,54	0,73	0,28	0,35	0,32	0,53	0,46	0,80	
22 Linalyl formate (tentatively identified)	21,37	0,12	0,22	0,40	0,54	0,40	0,53	0,15	0,18	0,12	0,20	0,17	0,30	
23 Neroloxide	21,50	0,05	0,09	0,16	0,21	0,11	0,15	0,06	0,08	0,14	0,23	0,17	0,29	
24 Benzeneethanol= Phenethyl alcohol	21,79	6,02	10,78	11,85	15,96	15,05	20,11	7,32	9,11	7,03	11,73	8,34	14,36	
25 1-Nonanol	23,23	0,03	0,06	0,08	0,11	0,10	0,13	0,01	0,01	0,10	0,16	0,10	0,18	
26 Ethyl octanoate	23,43	17,27	30,92	17,82	24,00	14,79	19,77	18,98	23,61	11,64	19,42	12,67	21,77	
27 Diethyl butanedioate= Diethyl succinate	23,64	0,02	0,03	0,27	0,37	0,37	0,50	0,16	0,20	0,32	0,53	0,44	0,76	
28 a-Terpineol	24,68	0,03	0,05	0,26	0,35	0,26	0,35	0,05	0,06	0,14	0,24	0,20	0,34	
29 Methyl nonanoate	24,84	0,65	1,17	0,27	0,37	0,21	0,28	0,54	0,67	0,27	0,45	0,28	0,48	
30 Allyl heptanoate	25,67	0,12	0,22	0,33	0,44	0,30	0,40	0,07	0,09	0,08	0,13	0,19	0,34	
31 Citronellal	26,29	0,13	0,24	0,75	1,01	0,19	0,26	0,21	0,26	0,27	0,45	0,83	1,43	
32 Geraniol	27,38	0,14	0,26	0,46	0,63	0,41	0,55	0,23	0,28	0,17	0,28	0,32	0,55	
33 Phenylethyl acetate	27,65	1,67	2,99	0,99	1,34	0,91	1,22	1,13	1,41	0,72	1,20	0,82	1,41	
34 Ethyl nonanoate	28,34	0,15	0,26	0,13	0,17	0,32	0,43	0,08	0,10	0,07	0,12	0,15	0,25	
35 Ethyl 9-decenoate	32,94	1,47	2,62	0,67	0,90	0,90	1,20	9,73	12,10	3,26	5,44	1,55	2,67	
36 Ethyl decanoate	33,13	9,46	16,93	10,03	13,51	10,46	13,98	22,38	27,85	13,83	23,08	8,80	15,17	
37 Damascenone	34,12	0,08	0,14	0,32	0,44	0,27	0,37	0,65	0,81	0,08	0,13	0,25	0,44	
38 Ethyl dodecanoate	42,08	1,98	3,55	9,81	13,22	11,83	15,81	4,40	5,48	2,86	4,77	5,00	8,62	
		100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	

ANEJO VI. TABLA RESULTADOS CROMATOGRFÍA CON TIEMPOS DE RETENCIÓN Y ÁREAS



**ANEJO VII. RESULTADO DE UNO DE LOS CROMATOGRAMAS DE COMPUESTOS VOLÁTILES OBTENIDOS**



### INFORME DE ENSAYO

Reg. Lab.: 15101019

Rev.: 2

Cliente : 30854

Cooperativa Agro-Vinícola "Nuestra Señora del Rosario de Bullas"

Ref.: Q1

Avenida Libertad, S/N  
30180 Bullas Murcia (ESPAÑA)

Interlocutor: Juan José

Descripción: Vino Malvasía (0,75 l en botella de vidrio)

Muestreo : Cliente

Recogida: 14/10/2015 - 09:20 Fitosoil

Entrada: 14/10/2015 - 15:26 Inicio: 14/10/2015

Finalización: 28/10/2015

Matriz:

Obs. :

### ANÁLISIS DE ALIMENTOS (cromatografía)

Determinaciones	Resultado	Unidad	LoQ	Metodología
Ocratoxina A	< 1,0	µg/kg	1,0	LC-MS/MS

LoQ: Límite de Cuantificación. s.m.o. sobre muestra original.



Responsable Técnico Dpto. PLAGUICIDAS  
Marco Antonio Cano de la Torre

Director Técnico  
Antonio Abellán Caravaca



Este informe solo afecta a la muestra sometida a ensayo. El cálculo de incertidumbre está a disposición del cliente. Este informe no deberá reproducirse sin la aprobación por escrito del laboratorio. El laboratorio no se responsabiliza de las opiniones u interpretaciones emitidas con carácter meramente informativo. Es responsabilidad del cliente la correcta interpretación de los resultados.  
FITOSOIL LABORATORIOS, S.L. - CIF: ESB 30553085 - Inscrito en el Reg. Mercantil de Murcia, Tomo 1244, M.º 23384, Folio 111, Colgado por el CDB con el N.º 6862-J  
Pol. Ind. Oeste, c/ Alcalde Clemente García, par. 24/97, Mod. D-1 y D-2 - Envío Postal: Adco. Correo 200 - 30160 - San Ginés de Murcia (España)  
Formato PC-16/08 BMS  
Tel.: +34 968 826809 - +34 968 8327172 - Fax: +34 968 883278 - http://www.fitosoil.com - info@fitosoil.com

## ANEJO VIII. ANÁLISIS OCRATOXINA A EN VINO TIPO A



**INFORME DE ENSAYO**

Reg. Lab.: 15101020 Rev.: 2  
 Cliente : 30854

**Cooperativa Agro-Vinícola "Nuestra Señora del Rosario de Bullas"**

Ref.: Q4

Avenida Libertad, S/N  
 30180 Bullas Murcia (ESPAÑA)  
 Interlocutor: Juan José

Descripción: vino Marvasia (0,75 l en botella de vidrio)

Muestreo : Cliente

Recogida: 14/10/2015 - 09:20 Fitosoil

Matriz:

Entrada: 14/10/2015 - 15:26 Inicio: 14/10/2015 Finalización: 28/10/2015

Obs.:

**ANÁLISIS DE ALIMENTOS** (cromatografía)

Determinaciones	Resultado	Unidad	LoQ	Metodología
Ocratoxina A	< 1,0	µg/Kg	1,0	LC-MS/MS

LoQ: Límite de Cuantificación, s.m.o. sobre muestra original.



Responsable Técnico Dpto. PLAGUICIDAS  
 Marco Antonio Caro de la Torre

Director Técnico  
 Antonio Abellán Caravaca



Este informe solo afecta a la muestra sometida a ensayo. El cálculo de incertidumbres está a disposición del cliente. Este informe no deberá reproducirse sin la aprobación por escrito del laboratorio. El laboratorio no se responsabiliza de las opiniones y/o interpretaciones emitidas con carácter meramente informativo. Es responsabilidad del cliente la correcta interpretación de los resultados.  
 FITOSOIL LABORATORIOS, S.L. - CIF: ESB 30853085 Inscrito en el Reg. Mercantil de Murcia, Tomo-1344, MU-23384, Folio 111. Colegiado por el COB con el N° 6862-J  
 Pol. Ind. Oeste, c/ Alcalde Clemente García, parc. 24/37, Mod D-1 y D-2 - Envío Postal: Apdo. Correos 200 - 30169 - San Gines-Murcia(España)  
 Formato PC-16/06 BMP5 Tel.: +34 968 826800 - +34 968 833271/72 - Fax: +34 968 833278 - http://www.fitosoil.com - info@fitosoil.com

**ANEJO IX. ANÁLISIS OCRATOXINA A EN VINO TIPO C**