

Aplicación de métodos espectroscópicos al estudio de las características cromáticas de los componentes polifenólicos presentes en vinos

(Application of spectroscopic methods to the study of chromatic characteristics of polyphenic components in wines)

Elejalde Caravaca, Edurne
Univ. del País Vasco.
Fac. de Ciencias
Dpto. de Química Orgánica
Apdo. 644
48080 Bilbao

BIBLID [1137-4411 (1999), 5; 39-66]

El presente trabajo de investigación tiene como objetivo la determinación de los compuestos polifenólicos más representativos presentes en el Txakoli de Bizkaia, así como el estudio y su relación con las características cromáticas. La determinación de estos compuestos polifenólicos, se ha realizado mediante el empleo de técnicas espectroscópicas, llevándose a cabo el análisis en muestras de Txakoli Blanco, Rosado y Tinto de diversas variedades. Además, se ha efectuado una comparación de las metodologías aplicadas, contrastando los resultados obtenidos. Así mismo, se ha llevado a cabo un estudio sobre la influencia de las distintas variedades en los parámetros cromáticos y valores triestímulares.

Palabras Clave: Txakoli. Polifenoles. Parámetros cromáticos.

Txosten honetan deskribatutako ikerlanak, Txakolinaren polifenol osagai batzuren azterketa du helburutzat. Era berean, ezaugarri kromatikoaren azterketa burutu da. Ezaugarri hauen determinazioa egiteko, Bizkaiko Txakolinaren zurri, gorri eta beltz barietateko laginak erabili ditugu, metodo espektroskopiko desberdinak erabiliz. Aipatutako laginetan erabili diren metodologiaren gonbarazioa egin da, lortu diren emaitzak kontrastatuz. Horretaz gain, parametro kromatikoengan eta triestímularen balioengan, lagin ezberdinek duten influentzia burutu da.

Giltz-Hitzak: Txakolina. Polifenolak. Parametro kromatikoak.

L'objectif de ce travail est la détermination des composants polyphénoliques plus importants qui sont dans le Txakoli de Bizkaia. On a étudié aussi la relation avec les caractéristiques chromatiques. On a fait la détermination par techniques spectroscopiques. Nous avons analysé des échantillons de Txakoli blanc, rosé and rouge, dans différentes variétés. On a fait une comparaison des résultats obtenus par différentes méthodes.

Mots Clés: Txacoli. Polyphénols. Paramètres chromatiques.

INTRODUCCION

El estudio de la materia colorante de los vinos, constituye actualmente uno de los temas de trabajo tratados con más interés en muchos laboratorios de investigación enológica, debido a la gran influencia que dicha materia ejerce sobre la calidad de los productos elaborados, y en su aceptación organoléptica.

Este trabajo se enmarca dentro de un Proyecto más amplio que tiene por objeto la Caracterización Química del Txakoli de Bizkaia. El presente estudio se ha centrado en la determinación de los compuestos polifenólicos, por ser éstos los responsables de las características cromáticas de un vino.

Toda la materia colorante constituye un amplio grupo de sustancias químicas orgánicas con estructura y propiedades químicas y físicas parecidas. Son los denominados compuestos polifenólicos. La presencia de estas sustancias en el vino, tal y como se verá más adelante, es la responsable del color. Los compuestos polifenólicos aparecen durante la maduración, a partir del envero, es decir, durante el periodo de tiempo en el que el contenido de clorofila disminuye gradualmente para dar lugar al color rojizo típico de la baya.

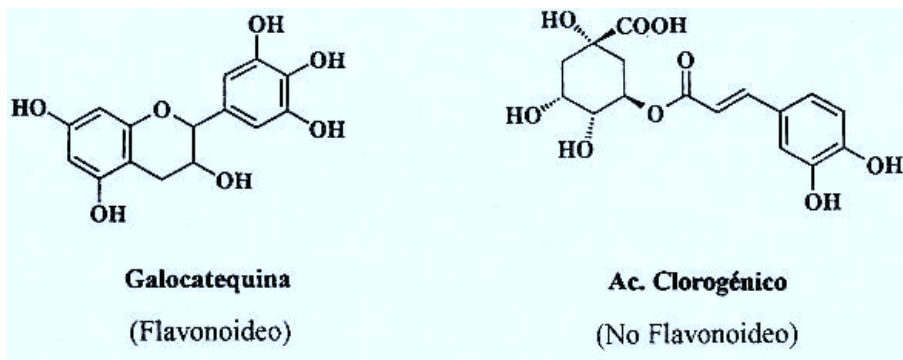
La materia colorante se encuentra distribuida fundamentalmente en el hollejo, el raspón o escobajo y en las pepitas del fruto.

Existen gran número de factores que influyen en la extracción y en la difusión de los compuestos polifenólicos de la uva al vino, sobre todo en lo que se refiere a la intensidad y duración de la maceración de las partes sólidas del racimo así como el grado alcohólico, el pH y la temperatura de fermentación. La fermentación producirá transformaciones posteriores en los polifenoles y con el tiempo, se seguirá produciendo una evolución de estos compuestos (Gómez E., 1995).

Debido a la gran diversidad de compuestos fenólicos encontrados en la uva y el vino, las clasificaciones hasta ahora empleadas han creado cierta confusión. Nosotros emplearemos la terminología según la cual, los compuestos fenólicos, basándose en su estructura orgánica, se clasifican en:

- FENOLES FLAVONOIDEOS
- FENOLES NO FLAVONOIDEOS

Los fenoles flavonoideos, se caracterizan por poseer un esqueleto estructural de 2-aril cromano, mientras que los fenoles no flavonoideos engloban a compuestos que poseen un único anillo bencénico, destacando los hidroxiacidos.



El conocimiento de la materia colorante, así como las transformaciones estructurales que experimenta durante el envejecimiento del vino, es imprescindible para explicar las características cromáticas y estabilidad. Además, existen una serie de factores que influyen en dichas características tales como: el sistema de elaboración, las condiciones de conservación, la climatología, la situación de la bodega, etc.

Antes de comenzar a realizar el estudio de cada uno de los grupos por separado, realizaremos la cuantificación del conjunto de todos los polifenoles encontrados.

1. DETERMINACION DE POLIFENOLES TOTALES

Medida directa de la absorbancia a 280 nm

Hasta el momento, diversos autores (González Larraina M., 1981; Glories Y., 1978; Somers T. C., 1985), han estimado que debido a que los anillos bencénicos presentan un máximo de absorbancia a 280 nm, la absorbancia a dicha longitud de onda, puede considerarse como un índice válido del conjunto de los polifenoles totales.

Efectivamente y como puede comprobarse, muestras de Txakoli Tinto, Rosado y Blanco muestran un máximo de absorbancia en dicho valor.

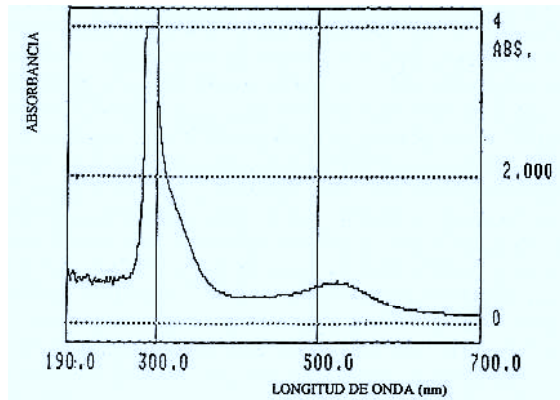


Figura 1. Espectro UV-visible correspondiente a una muestra de txakoli tinto

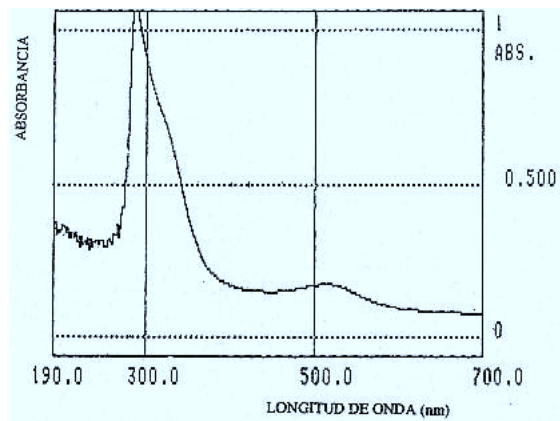


Figura 2. Espectro UV-visible correspondiente a una muestra de txakoli rosado

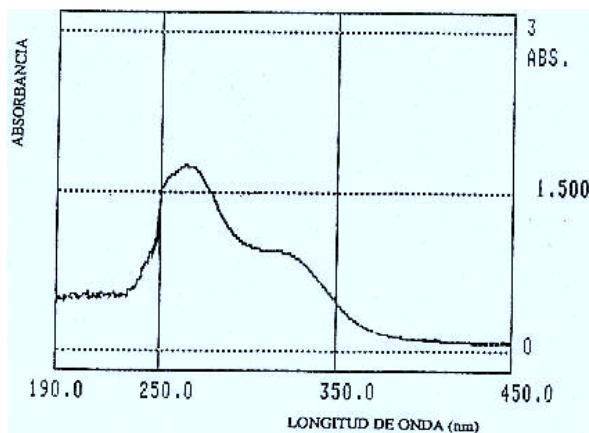


Figura 3. Espectro UV-visible correspondiente a una muestra de *txakoli blanco*

En los espectros correspondientes a muestras de Txakoli Tinto y Rosado, se considera que el máximo de absorbancia se encuentra a 280 nm, por la gran cantidad de compuestos fenólicos que presentan estas variedades. En el caso del Txakoli Blanco, como se explicará más adelante, el máximo de absorción no está tan bien definido por la contribución de los hidroxicinamatos a 320 nm (Somers T. C., 1972). No obstante, la absorbancia que se obtiene a la longitud de onda de 280 nm no deja de ser menos importante.

Como puede verse, los valores de absorbancia obtenidos a dicha longitud de onda, son muy diversos dependiendo de la variedad de Txakoli estudiada, y en muchos casos tan elevados, que no es posible registrarlos. Además, tal y como dicta la Normativa Europea, todos los valores de absorbancia obtenidos deben ser incluidos dentro del rango 0.3 - 0.7, para considerarlos como válidos.

Por tanto, se procedió a efectuar las medidas a 280 nm, previa dilución de las muestras, con el fin de incluir los valores de absorbancia dentro del intervalo dictado por la Normativa Europea.

Los resultados encontrados en el caso de las muestras de Txakoli Blanco se muestran a continuación. Las diluciones realizadas en este caso han sido de 1:20.

Txakoli Blanco

Muestras Analizadas	Valor Máximo	Valor Mínimo	Valor Medio	Desviación Estandar
11	13.22	9.68	11.78	1.14

Para el caso del Txakoli Rosado, consideraremos la dilución 1:40 como apropiada a la hora de efectuar el estudio

Txakoli Rosado

Muestras Analizadas	Valor Máximo	Valor Mínimo	Valor Medio	Desviación Estandar
7	27.12	20.08	24.07	2.75

Para el caso del Txakoli Tinto, indicar que la elevada dilución empleada no impide que los valores de absorbancia obtenidos sobrepasen el intervalo de absorbancia dictado por la Normativa Europea, por lo que no se considerarán los resultados obtenidos para hacer una valoración en el contenido en Polifenoles Totales por el método de la medida directa de la absorbancia a 280 nm. Como se verá a continuación, el estudio de los Polifenoles Totales en el caso del Txakoli Tinto se llevará a cabo mediante la aplicación del Método de Folin-Ciocalteu.

Las conclusiones que se llegan con este estudio se resumen diciendo que la dilución adecuada a la hora de efectuar la medida de absorbancia dentro del intervalo de absorbancias establecido por la Comunidad Europea que se dicta en 0.3 - 0.7, depende de la variedad de Txakoli analizada.

La Normativa Europea por su lado, enuncia el Método de Folin-Ciocalteu, como un método válido y adecuado a la hora de determinar el contenido en Polifenoles Totales, por lo que a continuación se pasó a realizar dicho estudio con el objetivo de comparar resultados obtenidos.

Método de Folin-Ciocalteu

Este método se basa en la oxidación de los compuestos fenólicos en el vino producida por un reactivo del mismo nombre. El reactivo de Folin-Ciocalteu, está constituido por una mezcla de ácido fosfowolfrámico ($H_3PW_{12}O_{40}$) y ácido fosfomolibdico ($H_3PMo_{12}O_{40}$), que se reduce por la oxidación de los fenoles existentes en el vino, para proporcionar una mezcla de óxidos azules de wolframio (W_8O_{23}) y de molibdeno (Mo_8O_{23}). La coloración azul producida, posee una absorción máxima en torno a 750 nm, por lo que se deduce que dicha absorbancia será proporcional al porcentaje de compuestos fenólicos presentes en la muestra.

Debido principalmente a que el ácido gálico ha sido a menudo considerado como producto standard en la determinación, los resultados obtenidos llevarán asociadas las unidades de mg/l de ácido gálico.

Tabla 1. Resultados correspondientes a variedades de *Txakoli Blanco*
(Grupo 1)

Variedad	A_{750}	FOLIN
Albariño	0.304	6.08
Chardonnay	0.221	4.42
Folle Blanche (1)	0.213	4.26
Folle Blanche (2)	0.202	4.04
Folle Blanche (3)	0.192	3.84
Hondarrabi Zuri (Bakio)	0.372	7.44
Hondarrabi Zuri (Zalla)	0.387	7.74
Petit Courbu (1)	0.363	7.26
Petit Courbu (2)	0.444	8.88
Pinot	0.190	3.80
Riesling	0.331	6.62
Sauvignon	0.188	3.76

(Grupo 2)

Variedad	A ₇₅₀	FOLIN
Albariño	0.450	9.0
Chardonnay	0.325	6.50
Pinot	0.353	7.06
Riesling	0.467	9.34
Sauvignon	0.333	6.66
Folle Blanche	0.375	7.50
Hondarrabi Zuri (1)	0.570	11.40
Hondarrabi Zuri (2)	0.523	10.46

Tabla 2. Resultados correspondientes a variedades de *Txakoli Rosado*

Variedad	A ₇₅₀	FOLIN
Cabernet Sauvignon (Larrabetzu)	0.331	16.65
Folle Blanche 80% + otro (Gamiz-Fika)	0.241	12.05
Hondarrabi Beltza (Bakio)	0.170	8.50
Hondarrabi Beltza + Pinot (Gatika)	0.297	14.85
Mexclas desconocidas (Muskiz)	0.249	12.45
Hondarrabi Beltza (Larrabetzu)	0.280	14.0
Cabernet Sauvignon (Larrabetzu)	0.299	14.95

Tabla 3. Resultados correspondientes a variedades de *Txakoli Tinto*

Variedad	Dilución	A ₇₅₀	FOLIN
Cabernet Sauvignon (Bakio)	1:5	0.386	38.60
Hondarrabi Beltza (Bakio)	1:5	0.427	42.70
Hondarrabi Beltza + Folle Blanche (Zalla)	1:5	0.247	24.70
Pinot Noir + Hondarrabi Zuri (Gatika)	1:5	0.418	41.80
Tempranillo + otros (Mungia)	1:4	0.314	25.12

Los valores obtenidos, del mismo modo que ocurría en el estudio de la A₂₈₀, varían mucho en función del tipo de Txakoli analizado.

En el caso del Txakoli Blanco los valores obtenidos se podrían agrupar de la siguiente forma:

Txakoli Blanco

Muestras Analizadas	Valor Máximo	Valor Mínimo	Valor Medio	Desviación Estandard
20	11.4	3.76	6.80	2.29

Se debe indicar sin embargo, que en el caso del Txakoli Blanco, la Normativa Europea indica que no debe realizarse ningún tipo de dilución en la muestra. Esto hace que en muchos casos el valor de absorbancia obtenido se encuentre por debajo del valor de 0.3, lo que provoca que algunos de los valores del Índice de Folin-Ciocalteu se encuentren muy por debajo de la media. En este caso, el único medio para hacer que la absorbancia aumentara y superara la barrera del 0.3, consistiría en el uso de cubetas de mayor paso óptico, considerando que la Ley de Lambert-Beer es aplicable.

En el caso de las variedades que provienen de la plantación frutícola de Zalla, los valores de Folin han sido muy superiores a la media, destacando los valores de la variedad autóctona Hondarrabi Zuri.

Para el caso del Txakoli Rosado

Txakoli Rosado

Muestras Analizadas	Valor Máximo	Valor Mínimo	Valor Medio	Desviación Estandard
7	16.65	8.50	13.07	2.57

La media, resulta ser superior a la encontrada en el caso del Txakoli Blanco, como es lógico.

La Normativa Europea recomienda en el caso de Muestras de Txakoli Rosado, realizar las diluciones oportunas para que el valor de absorbancia a 750 nm se encuentre próximo a 0.3. En nuestro caso, la dilución empleada ha sido la de 2:5. Únicamente en el caso de la variedad Hondarrabi Beltza (Bakio), no nos ha sido posible encontrar una dilución adecuada a la hora de aproximar la absorbancia a 0.3.

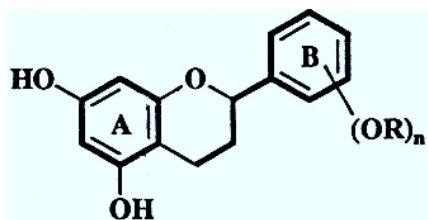
Para el caso del Txakoli Tinto, la Normativa dicta que la dilución necesaria para realizar el análisis debe ser la de 1:5. En nuestro caso, la muestra proveniente de la zona de Mungia presentó un valor de absorbancia a 750 nm tan bajo que nos vimos obligados a variar este factor de dilución. Los resultados como puede comprobarse son muy variados por lo que se concluye que el factor de dilución afecta directamente al resultado final del contenido en Polifenoles Totales.

Finalmente, se pasará a comparar los resultados del contenido en Polifenoles Totales, obtenidos a partir de la absorbancia a 280 nm y los obtenidos a partir del método de Folin-Ciocalteu, siendo este último método el recomendado por la Normativa Europea.

Como puede comprobarse por los resultados obtenidos, la correlación entre ambos métodos deja mucho que desear. Se pensó entonces que tomando el método dictado por la Normativa Europea como válido, los resultados obtenidos mediante la medida de la absorbancia a 280 nm debían ser erróneos. Teniendo en cuenta que la absorbancia directa a 280 nm requería de la dilución del Txakoli, se supuso que el error de cálculo debía encontrarse entonces en la dilución, y que de algún modo debía influir en los resultados obtenidos.

Finalmente, en el caso del Txakoli Tinto, la elevada dilución empleada a la hora de realizar un estudio comparativo entre las diferentes variedades tintas, proporcionaba valores de absorbancia que no podían ser incluidos dentro del intervalo establecido por la Normativa Europea, por lo que no fueron considerados.

2. FENOLES FLAVONOIDEOS



La gran familia de los compuestos fenólicos flavonoideos, viene caracterizada por la asociación $C_6-C_3-C_6$, en la que un anillo benzenico está unido por el carbono C2, a un benzodihidropirano.

Los fenoles flavonoideos se localizan en la pulpa, hollejo, raspón y pepitas, constituyendo el grupo más extenso de todos los compuestos fenólicos encontrados en la uva y el vino, debido a que suponen hasta el 95% de los polifenoles totales, en el caso de los vinos tintos (González Larraina M., 1988).

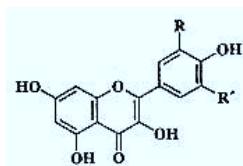
Distinguiremos dentro de los fenoles flavonoideos los siguientes grupos:

1. FLAVONAS, FLAVONOLES, FLAVANONAS, Y FLAVANONOLES
2. ANTOCIANOS
3. CATEQUINAS
4. TANINOS

Antes de pasar a estudiar cada grupo por separado, sería necesario apuntar que los métodos de determinación de estos compuestos bajo la denominación común de compuestos flavonoideos, se basan principalmente en la absorbancia UV-visible que presentan (Schneider V., 1995).

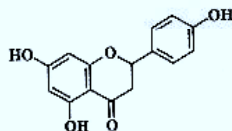
2.1. Flavonas, flavonoles, flavanonas, y flavanonoles

Este tipo de fenoles flavonoideos, se caracteriza por tener el grupo carbonilo en C4 del anillo piránico y se clasifican como flavanonas o flavonas, según se encuentren o no hidrogenadas las posiciones C2 y C3, respectivamente. Si existe un grupo hidroxilo en C3, se denominan así mismo flavonoles o flavonoles.



Flavonol

	R	R'
Kempferol	H	H
Miricetina	OH	OH
Quercetina	OH	H



Flavanona

Estos compuestos orgánicos, se localizan en la piel de la uva. Su presencia en los vinos blancos es baja, debido a que como es sabido, en su elaboración no se recurre a la maceración de las partes sólidas del racimo, particularmente ricas en estos compuestos. En la piel de las uvas blancas y tintas se encuentran monoglicosilados, mientras que en

el vino, pueden encontrarse los correspondientes aglicones o aglucones en estado libre (Ribéreau-Gayon J., 1976).

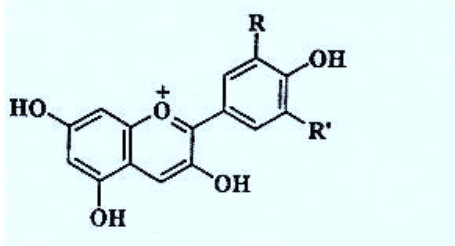
2.2. Antocianos

Los antocianos, tienen su origen biogenético en último término, en las flavanonas y son los principales responsables del típico color rojo violáceo de las uvas tintas así como de los zumos y vinos obtenidos a partir de ellas (Gao L., 1995).

Se localizan fundamentalmente en las vacuolas de las células epiteliales del hollejo, representando aproximadamente el 50% del total de los compuestos fenólicos presentes en el mismo. En las escasas variedades de pulpa coloreada, los pigmentos antociánicos, están presentes en la pulpa en una proporción de 5 a 15 veces menor que en el hollejo (Heredia F. J., 1993).

Desde un punto de vista estructural, se caracterizan por poseer un anillo bencénico unido a un grupo benzopiránico o benzopirílico. La molécula recibirá entonces el nombre de 2-fenil benzopirilio o catión flavilio.

Los antocianos, se presentan tanto en la uva como en el vino en forma de aglucones mono o diglicosilados denominándose antocianinas. Su hidrólisis conduce a las antocianidinas, derivados del 2-fenilbenzopirilio, cuyas metoxilaciones e hidroxilaciones dan lugar a las distintas antocianidinas que se presentan a continuación.

	Antocianidina	R	R'
	Delfinidina	OH	OH
	Cianidina	OH	H
	Petunidina	OCH ₃	OH
	Pelargonidina	H	H
	Peonidina	OCH ₃	H
<p>Antocianidina</p>	Malvidina	OCH ₃	OCH ₃

La presencia de unidades antociánicas mono o diglicosiladas depende de las cepas empleadas en la elaboración. La caracterización de vinos tintos procedentes de *Vitis vinifera* se realiza con la detección única y exclusiva en los vinos de antocianos monoglicosilados. La presencia de antocianos diglicosilados, particularmente del 3,5-diglucósido de malvidina (Valdehita M. T., 1983), por ser éste el más importante desde el punto de vista cuantitativo, indicaría que dicho vino proviene de cepas americanas.

En el caso del Txakoli de Bizkaia, la Denominación de Origen ha exigido la utilización única de cepas europeas por lo que el empleo de estas técnicas puede poner de manifiesto alteraciones o incluso fraudes en la elaboración de este vino (Escobal González A., 1996).

Los antocianos experimentan transformaciones estructurales en función del pH del medio tal y como sucede con otros muchos compuestos orgánicos (Martínez Layana J., 1989), podrían ser considerados como auténticos indicadores. En medio ácido, presentan

color rojo, adquieren un color azul violeta al acercarse al pH neutro, decreciendo la intensidad de su color con el aumento del pH. Se ha podido demostrar (Brouillard R., 1981), que en medio ácido, los antocianos se encuentran en equilibrio entre las cuatro estructuras que a continuación se indican :

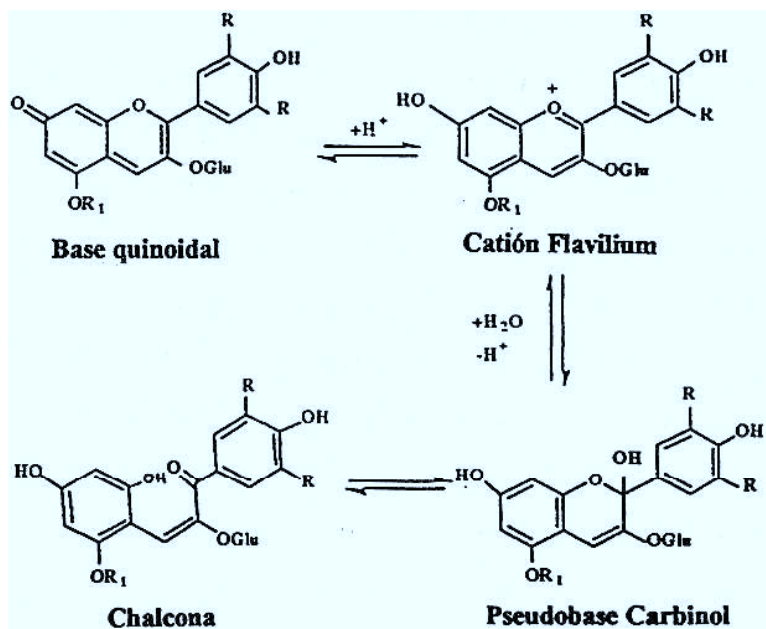


Figura 4. Esquema de equilibrio de los antocianos

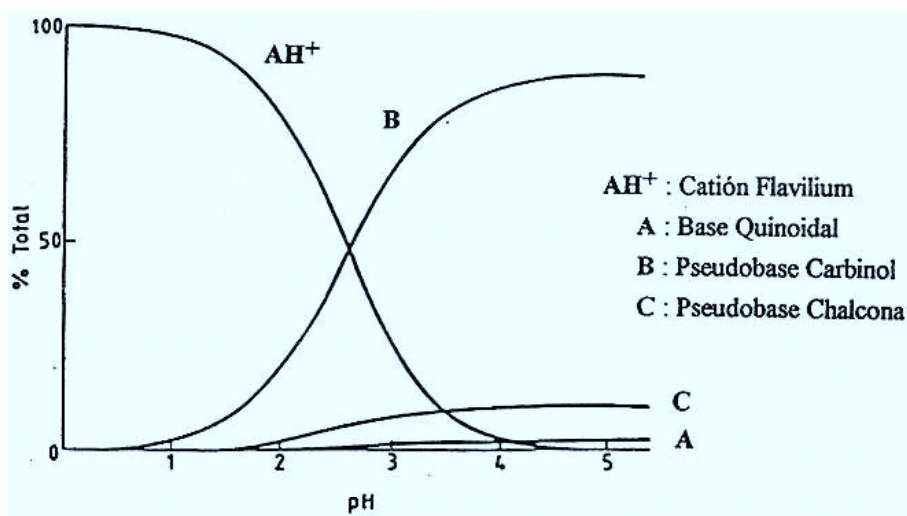


Diagrama de equilibrio para el 3-glucósido de malvidina

Así, a valores de pH muy ácidos el catión flavilium predomina sobre el resto de las estructuras orgánicas mientras que como puede verse, al pH del vino, 3-3,5, el catión flavilium se encuentra en equilibrio con las estructuras que se describen. Se considera que al pH del vino, únicamente 1/4 del contenido antociánico total se encuentra en forma flavilium con un máximo de absorbancia cercano a 520 nm.

Realmente, los pigmentos antociánicos, son inestables. Dependiendo de las condiciones del medio, pueden hidrolizarse, reaccionar con diferentes compuestos presentes también en el vino e incluso formar agrupaciones moleculares o polímeros que por su gran tamaño adquieren propiedades coloidales, evolucionando hasta la insolubilización. Así se explica la pérdida de brillo, de intensidad de color y la aparición de sedimentos de color pardo oscuro en los vinos, como resultado de un prolongado almacenamiento. Con el envejecimiento de los vinos tintos, se produce una desaparición progresiva de antocianos que puede ser prácticamente total al cabo de cuatro o cinco años (Ribéreau-Gayon P. y Stonestreet E., 1966), de ahí la importancia de tener un nivel de extracto de flavonoides totales relativamente elevado durante la vinificación del vino tinto.

Determinación cuantitativa de los antocianos

La determinación de los antocianos presentes en un vino, ha sido tradicionalmente realizada mediante el empleo de técnicas espectroscópicas.

Como ya se ha señalado anteriormente en medio ácido y dependiendo del pH, los antocianos existen en dos formas, coloreada e incolora. Admitiendo, que el resto de los compuestos polifenólicos no son afectados por el pH de la misma forma que los antocianos, se considera que la variación de la intensidad de color entre estos dos valores de pH, es proporcional al contenido de antocianos. En este razonamiento, se basa el *Método del pH*, estudiado por primera vez por Ribéreau-Gayon P. en 1965. Además, considerando que el ión bisulfito produce un efecto decolorante en estas moléculas antociánicas, se admitirá que la variación de color en este caso, es proporcional a la concentración del sulfito y de los antocianos presentes. Del mismo modo, se admite que los otros compuestos polifenólicos no resultan afectados por el bisulfito, hecho en el que se basa el *Método del sulfito*.

Estudios realizados (Glories Y., 1984), han demostrado que la determinación que se basa en la decoloración con bisulfito, resulta ser el método más sensible y el que proporciona resultados más reproducibles. A pesar de todo, existen diferentes variantes del método, propuestos por diferentes autores que proporcionan resultados muy variados (Ribéreau-Gayon P., 1965; Somers T. C., 1977 y Glories Y., 1984).

En el presente trabajo, se estudian los resultados obtenidos empleando el Método del pH. A continuación, se determinará el contenido antociánico mediante el Método del sulfito en las variantes de Ribéreau-Gayon P. y Stonestreet E., (1965) primero, y posteriormente mediante el Método de Somers T. C. y Evans M. E., (1977).

Los resultados reflejados en las tablas siguientes responden a un valor medio obtenido a partir de tres medidas tomadas para cada una de las variedades analizadas.

La media de la desviación estandar que se obtuvo a la hora de dar estos resultados medios osciló entre el 1.60 y el 12.24 para el caso del Método del cambio de pH y entre un 4.33 y 20.42 para el caso del Método del sulfito según Ribéreau-Gayon.

METODO DEL pHTabla 4. Resultados correspondientes a variedades de *Txakoli Tinto*

Variedad	ANTOCIANOS TOTALES (mg/l)
Cabernet Sauvignon (Bakio)	249.36
Desconocida (Lezama)	697.11
Desconocida (Muskiz)	952.88
Hondarrabi Beltza (Bakio)	195.0
Hondarrabi Beltza + Folle Blanche (Zalla)	208.20
Pinot Noir + Hondarrabi Zuri (Gatika)	255.58

METODO DEL SULFITO

(Método de Ribéreau-Gayon y Stonestreet / Método de Somers y Evans)

Tabla 5. Resultados correspondientes a variedades de *Txakoli Tinto*

Variedad	ANTOCIANOS TOTALES (mg/l)	ANTOCIANOS TOTALES (mg/l)
Cabernet Sauvignon (Bakio)	249.81	149.86
Desconocida (Lezama)	733.25	431.60
Desconocida (Muskiz)	882.22	372.10
Hondarrabi Beltza (Bakio)	186.37	618.84
Hondarrabi Beltza + Folle Blanche (Zalla)	234.94	205.76
Pinot Noir + Hondarrabi Zuri (Gatika)	319.08	1274.72

El *Método del pH* trata básicamente de medir la diferencia en el valor de absorbancia medida a 520 nm, longitud de onda a la que se obtiene el máximo de absorbancia para los antocianos. Esta diferencia de absorbancia se obtiene tras medir por un lado, la absorbancia del Txakoli a pH muy ácido (pH=0.6, que nos asegura que todos los antocianos están en forma de estructura flavilium) y la del Txakoli tamponado a pH=3.5 (valor de pH medio al que suelen encontrarse todos los vinos). A la diferencia de absorbancia obtenida para cada una de las muestras de Txakoli Tinto, se le aplica la ecuación obtenida por Ribéreau-Gayon, calculándose de este modo los mg de antocianos presentes por litro de Txakoli.

De los resultados obtenidos a partir del Método del pH, puede decirse por tanto, que han sido las dos muestras de variedad desconocida, las que mayor contenido en antocianos han mostrado, registrándose valores bastante superiores a la media. La variedad de menor contenido antociánico, ha sido la variedad Hondarrabi Beltza presentando, las otras tres variedades, resultados intermedios.

El *Método del sulfito* por su parte, se basa en la diferencia de absorbancia a 520 nm que se obtiene al tratar el Txakoli Tinto con bisulfito sódico respecto a la misma muestra en medio

ácido, es decir con todas las formas antociánicas en forma flavilium y por tanto con la máxima coloración. A mayor concentración de bisulfito empleada, mayor será el efecto decolorante producido.

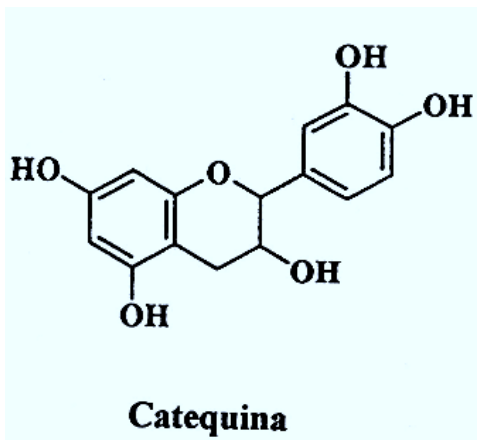
Los resultados obtenidos siguiendo el método de Ribéreau-Gayon, han sido máximos en el caso de las dos variedades desconocidas, mínimo en el caso de la variedad autóctona Hondarrabi Beltza e intermedia en los otros tres casos.

Además, los resultados obtenidos mediante el Método del pH y el del sulfito de Ribéreau han sido relativamente similares encontrándose una buena matriz de correlación.

Por último, falta por estudiar los resultados obtenidos por el Método de Somers y Evans (1977), que en principio parece proporcionan resultados poco concordantes con los obtenidos mediante los métodos anteriormente descritos. Este último método se basa en el efecto que el bisulfito provoca en los antocianos monoméricos respecto al efecto en los antocianos polimerizados. El principal problema que a nuestro entender presenta este método, reside en la pequeña cantidad de reactivo que se requiere y que resulta además poco reproducible.

2.3. Catequinas

Las catequinas o flavan-3-oles, así como sus polímeros, se caracterizan por no encontrarse glicosilados, por lo que se pueden extraer fácilmente con disolventes orgánicos tanto de la uva como del vino.

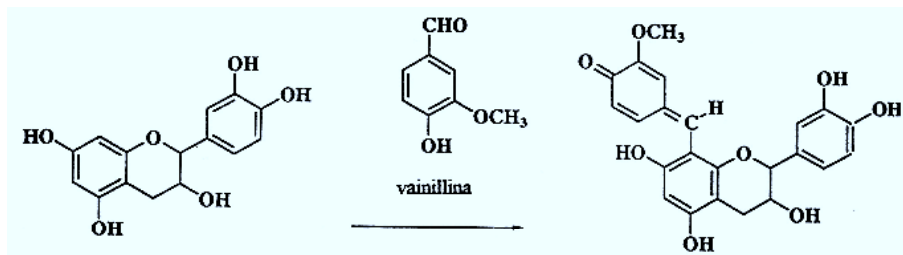


Su determinación se lleva a cabo tanto mediante técnicas cromatográficas como colorimétricas con la ayuda de la vainillina en medio ácido, tal y como se describe a continuación. En el caso de la espectrofotometría directa, la determinación de las catequinas ha presentado ciertas dificultades, puesto que presentan un máximo de absorción a 280 nm, mientras que las galocatequinas lo presentan a 271 nm.

Determinación cuantitativa de las Catequinas

La determinación de las catequinas, puede llevarse a cabo tanto por métodos cromatográficos como por métodos espectroscópicos. En nuestro caso, se empleará el método espectroscópico, basado en hacer reaccionar el Txakoli con la vainillina en medio ácido.

El agente vainillínico reacciona con la catequina dando lugar a un producto altamente conjugado cuya determinación se realiza espectroscópicamente a una longitud de onda de 500 nm (Schneider V., 1995).



Debido a la posibilidad de reacción de los antocianos con este agente, los valores que se obtienen en los vinos tintos suelen ser un poco más elevados que en el caso de los blancos (Thorngate J. M., 1994). Este hecho es debido a que la reacción con la vainillina se determina finalmente a 490-500 nm y el medio ácido empleado, favorece cierta absorbancia por parte de los antocianos. Además, los antocianógenos pueden ser parcialmente convertidos en cianidina por el medio ácido al que se someten, por lo que se considera que también pueden interferir en la medida.

A pesar de todo, la reacción con la vainillina es muy útil a la hora de cuantificar las catequinas, principalmente en el caso de los vinos blancos. Los resultados se resumen en las siguientes tablas:

METODO DE LA VAINILLINA

Tabla 6. Resultados correspondientes a variedades de *Txakoli Blanco* (Grupo 1)

Variedad	A ₅₀₀	(+)-CATEQUINA (mg/l)
Albariño	0.131	89.70
Chardonnay	0.126	86.28
Folle Blanche (1)	0.123	84.23
Folle Blanche (2)	0.115	78.75
Folle Blanche (3)	0.129	88.33
Hondarrabi Zuri (Bakio)	0.156	106.82
Hondarrabi Zuri (Zalla)	0.134	91.76
Petit Courbu (1)	0.142	97.24
Petit Courbu (2)	0.127	86.96
Pinot	0.140	95.87
Riesling	0.122	83.54
Sauvignon	0.139	95.18

Los valores de absorbancia, han sido tomados empleando cubetas de 10 mm de paso óptico y llevados a la recta de calibrado para obtener el contenido de catequina presente en cada una de las muestras analizadas.

Debe indicarse sin embargo, que los valores más altos en contenido de catequina la han presentado las variedades de Hondarrabi Zuri en ambos casos.

(Grupo 2)

Variedad	A ₅₀₀	(+)-CATEQUINA (mg/l)
Albariño	0.095	65.05
Chardonnay	0.087	59.57
Pinot	0.093	63.68
Riesling	0.084	57.52
Sauvignon	0.078	53.41
Folle Blanche	0.086	58.89
Hondarrabi Zuri (1)	0.103	70.53
Hondarrabi Zuri (2)	0.101	69.16

Txakoli Blanco

Muestras Analizadas	Valor Máximo	Valor Mínimo	Valor Medio	Desviación Estandar
20	106.82	53.41	79.12	15.69

Dada la gran amplitud del intervalo de los resultados obtenidos, dependiendo de la variedad de Txakoli elaborada, la desviación estandar ha superado el 15 %.

2.4. Taninos

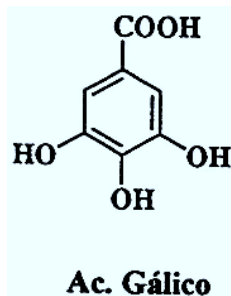
En este grupo se incluyen compuestos fenólicos muy diferentes entre sí. De todos modos, todos ellos presentan una propiedad en común puesto que precipitan a las proteínas.

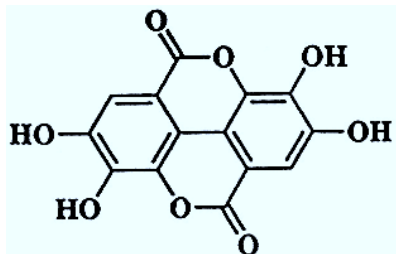
Los taninos pueden clasificarse en:

- Taninos hidrolizables o pirogálicos.
- Taninos condensados o pirocatéquicos.

Los *taninos hidrolizables* más importantes son los constituídos por ácido gálico y la lactona de su dímero, el ácido elágico, que se encuentran generalmente en forma de glucósidos. Estos taninos, no se consideran constituyentes naturales de la uva y el vino. Su presencia se debe en general al envejecimiento cuando éste se ha llevado a cabo en bodega de madera desde donde han podido pasar al vino mediante extracción. También pueden provenir del corcho de los tapones, del vino si ha sido tratado con ácido tánico o por el empleo de taninos comerciales, cuya adición constituye una práctica enológica autorizada (Ribéreau-Gayon J., 1976). El ácido gálico puede a veces encontrarse en forma de triglucósido en los raspones y las pepitas y en menores dosis en los hollejos.

Los taninos de la uva y el vino, *taninos condensados*, también denominados algunas veces flavolanos, son polímeros condensados de 3-flavanol o catequina (flavanoide con un grupo OH en el carbono C3) y sobre todo de 3,4-flavanodiol o leucoantocianidina o proantocianidina, (un grupo OH en el carbono C3 y otro en el





Ac. Elágico

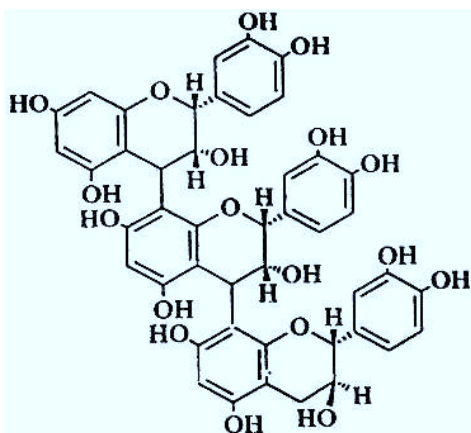
carbono C4), generalmente (-)-epicatequina, encontrándose dichas unidades enlazadas covalentemente desde el carbono C4 de un monómero, al carbono C8 ó C6 del siguiente, terminando normalmente en (+)-catequina.

Una propiedad diferenciadora de los taninos respecto a las unidades que los originan, es que dichas estructuras precipitan a las proteínas mientras que sus monómeros no lo hacen. Puesto que los taninos pueden ligarse al apoenzima de los enzimas, pueden afectar e inhibir la actividad enzimática de los vinos como ocurre con la inhibición de enzimas oxidantes. Esto explica la mayor

resistencia a la oxidación que presentan los vinos tintos respecto a los blancos, si tenemos en cuenta que la cantidad de taninos presentes en el vino tinto es bastante superior a la que puede encontrarse en el vino blanco (Dalas C., 1995). Se puede decir por tanto, que los taninos se comportan como antioxidantes protegiendo a los vinos tintos principalmente.

Los taninos además, pueden unirse a polímeros de tipo polisacárido, como celulosa y pectina, así como a otros fenoles (Cela R., 1982) y combinarse con el hierro para participar junto con los antocianos en la quiebra férrica por su grupo hidroxilo en posición orto. La astringencia atribuida a los taninos (Ishikawa T., 1995), puede ser definida como la pérdida de las propiedades lubricantes de la saliva que se produce al precipitar con los taninos las proteínas y glicoproteínas que contiene.

Los taninos, pueden llegar a tener un peso molecular de 8.000. En el mosto de yema, sólo están presentes dímeros o trímeros, mientras que en el vino de prensa, sus pesos moleculares se acercan a 1.500. Con el fin de que los taninos se combinen con las proteínas de forma estable, sus pesos moleculares deben ser superiores a 500, pero inferiores a 3.000, lo que equivale a diez unidades monoméricas aproximadamente. Si su estructura química es demasiado voluminosa, existe un impedimento estérico para la aproximación a los distintos puntos activos de las proteínas, evitándose la reacción.



Tanino

En los vinos jóvenes, se encuentran con mayor frecuencia dímeros y trímeros mientras que en los vinos más viejos (Gómez Cordovés C., 1995), los polímeros llegan hasta las 10 unidades monoméricas. Ya se ha dicho anteriormente que aunque estos compuestos están constituidos por unidades de catequina o de leucoantocianidina, debe indicarse que son estos últimos los monómeros más activos para la polimerización dada la actividad de su grupo hidroxilo en el carbono C4.

Así, en líneas generales puede decirse que el contenido en taninos en el caso de los vinos tintos oscila entre 1.5 y 3 g/l y en el caso de los blancos entre 40 y 200 mg/l. Sin embar-

go, dichos valores pueden verse afectados por otros factores como el despalillado del racimo, tiempo de maceración, temperatura de fermentación, grado alcohólico, intensidad de prensado, etc.

Los taninos pueden determinarse como antocianógenos mediante los métodos que se describirán a continuación.

Determinación cuantitativa de los Antocianógenos

Su determinación se basará en la conversión de los antocianógenos presentes en el Txakoli en cianidina, tras el tratamiento del Txakoli a 100°C en medio ácido, previa extracción de los antocianógenos con un adsorbente como la polivinilpirrolidona (PVPP). La cianidina obtenida, se determinará finalmente a través de su absorbancia a una longitud de onda de 550 nm, en el espectrómetro de UV-visible.

Este tratamiento con PVPP (Sims C. A., 1995), tiene como objetivo retener estos taninos, es decir, concentrar los antocianógenos que quedan adsorbidos en el polímero. De esta manera, se eliminan las interferencias de los azúcares o de los antocianos libres que podrían contribuir al color y se reduce además el contenido de agua que intensifica la reacción para producir la antocianidina.

El posterior calentamiento en medio ácido, hace que estos antocianógenos se descompongan y pasen a la disolución en forma de cianidina cuya absorbancia se medirá en el ultravioleta-visible.

Aunque Pompei C. y Peri C. (1971), apuntaron ciertas modificaciones al objeto de poder aplicar este método tanto a vinos tintos como blancos, finalmente se llegó a la conclusión de que únicamente debía ser empleado en el caso de muestras de vino blanco.

METODO DE POMPEI Y PERI

Tabla 7. Resultados correspondientes a variedades de *Txakoli Blanco*

(Grupo 1)

Variedad	A ₅₅₀	ANTOCIANOGENOS (mg/l cianidina)
Albariño	0.114	55.49
Chardonnay	0.084	40.89
Folle Blanche (1)	0.071	34.56
Folle Blanche (2)	0.101	49.17
Folle Blanche (3)	0.106	51.60
Hondarrabi Zuri (Bakio)	0.220	107.10
Hondarrabi Zuri (Zalla)	0.110	53.55
Petit Courbu (1)	0.093	45.27
Petit Courbu (2)	0.130	63.28
Pinot	0.077	37.48
Riesling	0.072	35.05
Sauvignon	0.091	44.30

(Grupo 2)

Variedad	A ₅₅₀	ANTOCIANOGENOS (mg/l cianidina)
Albariño	0.100	48.68
Chardonnay	0.109	53.06
Pinot	0.089	43.32
Riesling	0.097	47.22
Sauvignon	0.098	47.71
Folle Blanche	0.090	43.81
Hondarrabi Zuri (1)	0.157	76.43
Hondarrabi Zuri (2)	0.121	58.90

Como podrá deducirse de los resultados obtenidos, la variedad correspondiente a la Denominación de Origen, la variedad Hondarrabi Zuri, ha sido la variedad que mayor contenido en antocianógenos ha presentado.

Txakoli Blanco

Muestras Analizadas	Valor Máximo	Valor Mínimo	Valor Medio	Desviación Estandar
20	107.10	34.56	51.84	16.31

El elevado valor proporcionado por la variedad Hondarrabi Zuri, ha hecho que la desviación estandar haya sido tan marcada. Deben destacarse también los resultados obtenidos con la variedad Petit Courbu, también superiores a la media.

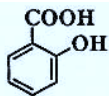
3. FENOLES NO FLAVONOIDEOS

Los fenoles no flavonoideos, han sido siempre considerados como los menos importantes desde el punto de vista cuantitativo. Se clasifican en:

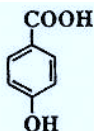
- *Derivados del ácido benzoico*, de los que Ribéreau-Gayon P. (1972), cita siete derivados.
- *Derivados del ácido cinámico*, de los que el mismo autor cita tres derivados y que en general se encuentran en mayor cantidad que los anteriores.

Los derivados de los ácidos cinámicos, raramente se encuentran en forma libre. Por regla general, están presentes en forma de ésteres.

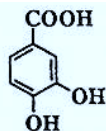
Según Peynaud E. (1972), una barrica de madera nueva puede ceder hasta 200-300 mg de fenoles no flavonoideos por año y por litro de vino, y únicamente hasta 50 mg en el caso de barricas viejas. Teniendo en cuenta por tanto, el papel que juega la barrica en el caso de los vinos viejos (Gómez Cordovés C., 1995), se deduce fácilmente que el contenido en fenoles no flavonoideos aumenta con el tiempo de crianza en barrica de madera. En el caso del Txakoli de Bizkaia, la barrica de madera está siendo sustituida por la barrica de acero inoxidable, por lo que este efecto es menos marcado en este caso.



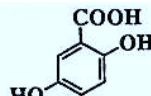
Ac. Salicílico



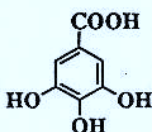
Ac. p-Hidroxibenzoico



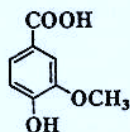
Ac. Protocatéquico



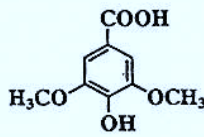
Ac. Gáltico



Ac. Gáltico

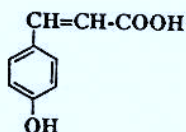


Ac. Vainílico

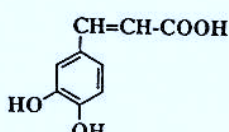


Ac. Siríngico

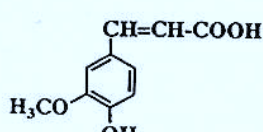
DERIVADOS DEL ACIDO CINAMICO



Ac. p-Cumárico



Ac. Cafeico



Ac. Ferúlico

Como describió González-Larraina M. (1988), los vinos de Rioja de crianza tienen unos contenidos en fenoles no flavonoideos (200-400 mg/l) que duplican al que presentan los vinos jóvenes de Rioja (100 mg/l).

Determinación cuantitativa de los Hidroxicinamatos

El estudio de los fenoles no flavonoideos presentes en las diferentes variedades de Txakoli, se llevará a cabo mediante la determinación cuantitativa de los hidroxicinamatos, pues son éstos, los compuestos polifenólicos más importantes de los vinos blancos.

Mientras que los vinos tintos presentan una absorbancia máxima a una longitud de onda de aproximadamente 280 nm, como se ha visto anteriormente, el espectro de absorbancia de un vino o Txakoli Blanco, difiere algo, encontrándose que no posee una longitud de onda característica de máxima absorbancia.

Existen trabajos, que relacionan el máximo de absorbancia de un vino blanco con el tratamiento que ha sufrido éste durante su elaboración Singleton V. L., (1976). Vinos que durante la fase de estrujado han estado en contacto con los hollejos como los Tintos, experimentan un máximo de absorbancia sobre los 280 nm, mientras que los demás vinos experimentan un máximo cercano a los 320 nm.

A continuación se muestran los espectros obtenidos para cada una de las variedades empleadas en la elaboración del Txakoli Blanco de Bizkaia.

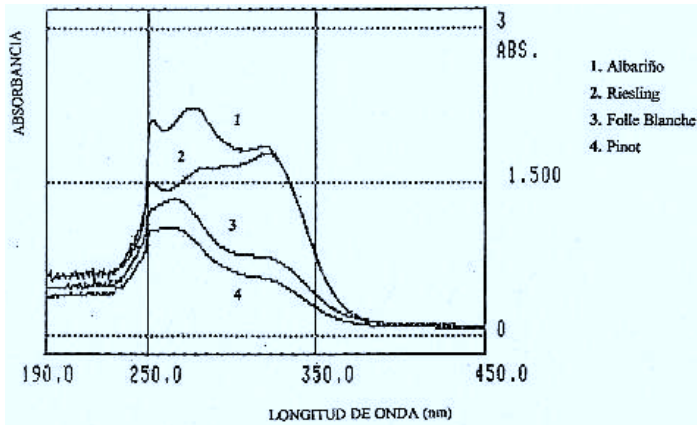


Figura 5 Espectros UV-visible correspondientes a diferentes variedades de Txakoli Blanco

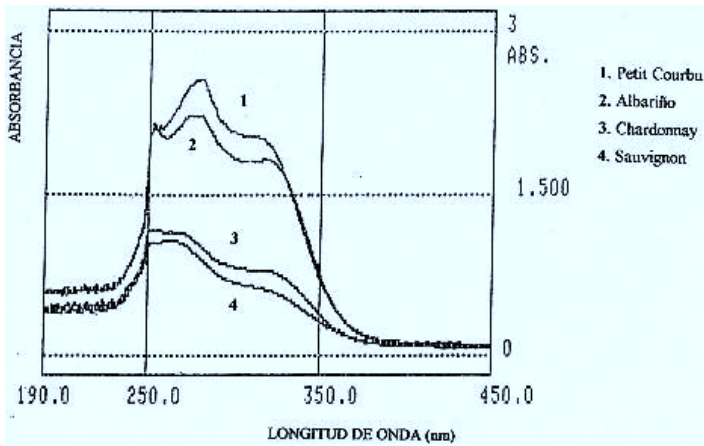


Figura 6 Espectros UV-visible correspondientes a diferentes variedades de Txakoli Blanco

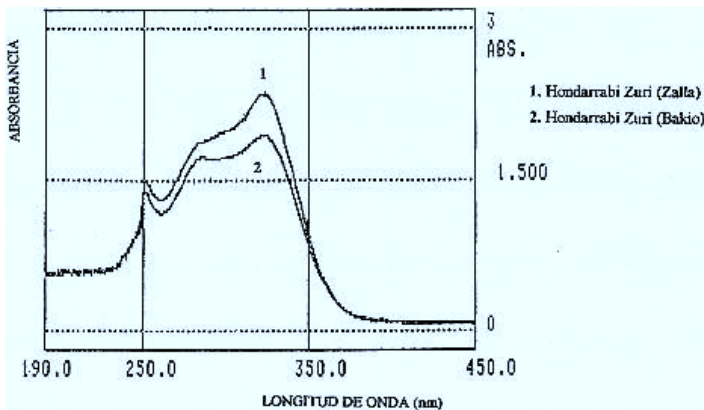


Figura 7 Espectros UV-visible correspondientes a diferentes variedades de Txakoli Blanco

Variedades como Folle Blanche, Pinot, Chardonnay y Sauvignon, presentan un máximo cercano a 280 nm de longitud de onda, con un hombro cuyo máximo está a 320 nm. Sin embargo, variedades como Albariño, Riesling y Petit Courbu, presentan el máximo de absorbancia exactamente a 280 nm, representando en este caso la absorbancia a 320 nm un valor menor. En el caso de las variedades de Hondarrabi Zuri sin embargo, el máximo de absorbancia se encuentra a 320 nm, representando este máximo la principal diferencia que se encuentra entre esta variedad autóctona y el resto de variedades empleadas. Se intentó encontrar una relación entre el elevado contenido en hidroxicinamatos encontrado en ambas variedades de Hondarrabi Zuri y el tipo de prensado empleado en su elaboración no encontrándose ninguna relación. Además el hecho de que las dos variedades provengan de dos zonas geográficas diferentes así como de dos productores diferentes, confirma el hecho que el contenido en hidroxicinamatos representa una diferencia varietal. Espectros realizados con otras muestras de cosechas anteriores confirmaron este hecho.

Como se verá en la tabla siguiente, los resultados obtenidos en el contenido en hidroxicinamatos irá en relación directa con los espectros obtenidos.

Debido a que que no existe una contribución importante de los fenoles flavonoideos a la absorbancia de 320 nm, el empleo de la ecuación :

$$\text{Contenido en hidroxicinamatos} = A_{320} \cdot 1.4$$

puede ser empleada como una medida del contenido total de hidroxicinamatos. El valor de 1.4, proviene de un estudio realizado por Somers T. C. y Ziemelis G. (1985).

ABSORBANCIA A 320 nm

Tabla 8. Resultados correspondientes a variedades de *Txakoli Blanco*

(Grupo 1)

Variedad	A ₃₂₀	HIDROXICINAMATOS (mg/l)
Albariño	0.963	82.3
Chardonnay	0.642	50.2
Folle Blanche (1)	0.475	33.5
Folle Blanche (2)	0.557	41.7
Folle Blanche (3)	0.505	36.5
Hondarrabi Zuri (Bakio)	1.597	145.7
Hondarrabi Zuri (Zalla)	1.609	146.9
Petit Courbu (1)	1.096	95.6
Petit Courbu (2)	1.073	93.3
Pinot	0.523	38.3
Riesling	1.046	90.6
Sauvignon	0.501	36.1

(Grupo 2)

Variedad	A ₃₂₀	HIDROXICINAMATOS (mg/l)
Albariño	1.185	104.5
Chardonnay	0.704	56.4
Pinot	0.538	39.8
Riesling	1.106	96.6
Sauvignon	0.504	36.4
Folle Blanche	0.526	38.6
Hondarrabi Zuri (1)	2.172	203.2
Hondarrabi Zuri (2)	1.272	113.2

Aunque los valores obtenidos, tomados empleando cubetas de 1 mm de paso óptico, pudieran considerarse un poco elevados, no se efectuó dilución alguna debido a que con el efecto de dilución, deja de cumplirse la Ley de Lambert-Beer, con lo que la ecuación de cálculo de hidroxicinamatos no sería entonces aplicable.

Posteriormente, estos resultados de absorbancia se extrapolaron a 1 cm, antes de aplicar la ecuación de Somers T. C. y Ziemelis G. (1985).

El análisis estadístico de los datos obtenidos, proporciona los siguientes resultados:

Txakoli Blanco

Muestras Analizadas	Valor Máximo	Valor Mínimo	Valor Medio	Desviación Estandard
20	203.2	33.5	78.97	47.20

El elevado valor de desviación estandard obtenido, se debe a la gran variedad de resultados obtenidos en el contenido de hidroxicinamatos, dependiendo de la variedad empleada en la elaboración del Txakoli.

Deben destacarse los elevados resultados obtenidos para la variedad autóctona Hondarrabi Zuri, cuyos contenidos en hidroxicinamatos superan con creces la media. La variedad Folle Blanche, aunque también autóctona, no ha proporcionado sin embargo valores tan altos en contenido hidroxicinámico. Las variedades de Petit Courbu también han proporcionado valores muy elevados, así como la variedad Riesling y la variedad Albariño.

Los resultados obtenidos con los espectros de absorbancia UV-visible, nos han permitido encontrar una clara diferenciación varietal entre las muestras de Txakoli Blanco estudiadas.

4. ESTUDIO DE PARAMETROS CROMATICOS

Como se ha comentado anteriormente, la evaluación cromática de los vinos, está adquiriendo un creciente interés como una de las características de calidad que deben ser consideradas en todo vino (Heredia Mira F. J., 1990). Teniendo en cuenta que hasta ahora no se

había realizado estudio alguno sobre las características cromáticas del Txakoli de Bizkaia, se decidió llevar a cabo un estudio cromático del Txakoli.

Es bien conocida la importancia que presenta el color en las características de un vino así como en sus aceptaciones organolépticas por lo que se hace necesario referirse al color en base a unos parámetros que lo definan. Convencionalmente y por razones de comodidad, las características cromáticas de los vinos tintos y rosados (Ortega P., 1994), podrían ser definidas por la intensidad colorante y la tonalidad, de acuerdo con un procedimiento que ha adoptado la denominación de *Método usual o rápido*.

Pero además, es habitual emplear del mismo modo, el *Método de referencia*, que considera como características cromáticas de un vino la luminosidad y la cromaticidad.

La luminosidad corresponde según dicta la Normativa Europea, a la transmitancia y varía en razón inversa a la intensidad colorante del vino, mientras que la cromaticidad, se expresa en términos de la longitud de onda dominante y de la pureza.

La Normativa Europea dicta que la Intensidad Colorante, representada como IC, debe medirse como la suma de las absorbancias a las longitudes de onda de 420, 520 y 620 nm, correspondientes a los colores de la luz absorbida violeta, verde y naranja. Sin embargo, existen diversos autores como González Larraina M. (1981) que, empleando la fórmula de Supraud P. (1958), realizaron el cómputo de la Intensidad Colorante de un vino considerando únicamente las absorbancias a 420 y 520 nm de longitud de onda, IC', teniendo en cuenta que el máximo de absorción de los vinos tintos y claros se halla entorno a 520 nm, debido a los antocianos y que presentan un mínimo a 420 nm debido fundamentalmente a los taninos.

En todas las muestras de *Txakoli Tinto* estudiadas, la mayor contribución al color ha correspondido al rojo, pues todas las variedades de Txakoli Tinto presentaban el máximo valor de absorbancia a 520 nm.

En el caso de las muestras de *Txakoli Rosado* analizadas, los mayores valores de absorbancia se obtuvieron a una longitud de onda de 520 nm con excepción de la muestra, de Hondarrabi Beltza de Bakio, cuyo máximo valor de absorbancia se dio a 420 nm, es decir que esta muestra contribuye mayoritariamente al color amarillo.

Sin embargo, la otra muestra cuya variedad era también Hondarrabi Beltza (Larrabetzu), proporcionó el valor más alto de absorbancia a 520 nm, por lo que pensamos que los elevados valores de absorbancia obtenidos a 420 nm debían ser debidos a la gran cantidad de taninos que presentaban las muestras. En este caso, las medidas de absorbancia fueron tomadas pasado un tiempo de comenzar el análisis de las muestras, es decir cuando los antocianos habían comenzado ya a evolucionar hacia formas poliméricas.

Además, en las distintas variedades de Txakoli Rosado, ha sido la muestra correspondiente a Muskiz la que mayor índice de saturación de color ha proporcionado, seguida de la muestra correspondiente a la variedad de Hondarrabi Beltza.

El mayor valor de Tonalidad, para el *Txakoli Tinto*, también se obtuvo con la variedad Hondarrabi Beltza, por lo que podría deducirse que se trata de la variedad que mayor diferencia presenta entre la contribución de absorbancia debida a los antocianos y la debida a los taninos.

En el caso de las muestras de *Txakoli Rosado* analizadas, también fue la variedad Hondarrabi Beltza la que mayor tonalidad proporcionó, por lo que podría deducirse que los valores obtenidos están en relación directa con la variedad de Txakoli empleada en su elaboración.

En cuanto a la Intensidad Colorante, destacar dentro de las variedades de *Txakoli Tinto* estudiadas, el elevado valor obtenido con la variedad que provenía de Lezama, que supera con creces la media, mientras que el mínimo valor se ha obtenido con la muestra de variedades autóctonas, es decir aquella muestra que estaba compuesta por las variedades de Hondarrabi Beltza y Folle Blanche.

Para el caso de las variedades de *Txakoli Rosado*, destacar el elevadísimo valor de Intensidad Colorante obtenido con la muestra de Hondarrabi Beltza de Larrabetzu, más parecido al de un *Txakoli Tinto* que Rosado, destacando también el caso de la muestra de la zona de Lezama, que también ha dado un resultado elevado.

Finalmente, se indica que la media del error cometido al no considerar el valor de la absorbancia a 620 nm, es del 16.98% en el caso del *Txakoli Tinto*, y del 14.73% para el caso del *Txakoli Rosado*.

En cuanto a los parámetros dA(%) y K-K, se trata de unos parámetros definidos por los autores Glories Y. (1984), y Kerényi Z. y Kampis A. (1984), que también hacen referencia al color que presentan los vinos.

– Según Glories Y. (1984):

$$dA (\%) = \left(A_{520} - \frac{A_{420} + A_{620}}{2} \right) \frac{100}{A_{520}}$$

Químicamente, el significado del parámetro dA%, está relacionado con la contribución al color total de un vino por parte de los iones flavilium en sus formas tanto libres como combinadas.

En el caso del *Txakoli Tinto* estudiado, todas las muestras analizadas presentaron un valor del índice dA% superior al 40%, con excepción de la muestra correspondiente a la variedad de Hondarrabi Beltza, que presentó un valor inferior, debido a que los valores de absorbancia obtenidos para esta muestra fueron relativamente elevados y muy parecidos entre sí. Se podría traducir diciendo que el contenido en antocianos, taninos y antocianos en todas sus formas resonantes debe ser elevado.

Para las muestras de *Txakoli Rosado* estudiadas, todas mostraron valores de dA% inferiores al 40%, con excepción de la variedad procedente de Lezama y la de Gatika.

– Por su parte Kerényi Z. y Kampis A. 1984, definen el índice K-K relativo a la apariencia visual, como:

$$K-K = 23 \log (A_{420} + A_{520})$$

Estos autores, demostraron que existe una correlación elevada, superior al 0.95, entre la Intensidad Colorante y los test que ello denominaron como sensoriales, de los cuales deriva la ecuación descrita.

Tanto en el caso de las muestras de *Txakoli Tinto* como en las de *Txakoli Rosado*, se ha encontrado el mismo efecto entre la Intensidad Colorante y el Índice de Karanyi y Kampis.

Método de Referencia

La aplicación de la teoría tricromática al estudio del color de un vino, proporciona un gran número de posibilidades a la hora de determinar sus propiedades ópticas a través de las metodologías dictadas por la *Commission Internationale de l'Eclairage*, (CIE 1986).

Se han determinado los valores triestimulares X, Y, y Z, calculando a continuación las coordenadas del color x e y, y finalmente la luminosidad relativa Y%.

Los valores triestimulares (Almela L., 1995), se determinan calculando primero unos valores de absorbancia a 625, 550, 495 y 425 nm con cubetas de 0.1 cm de paso óptico en el caso del Txakoli Tinto y con cubetas de 1 cm para el caso del Txakoli Rosado. Los resultados obtenidos, se llevan a cubetas de 1 cm y se transforman en valores de transmitancia. A estos valores de transmitancia, se les aplicarán las ecuaciones dictadas por la Comunidad Europea, con el fin de calcular los valores triestimulares propiamente dichos X, Y y Z. A partir de estos valores triestimulares, se obtienen los parámetros del color x e y, a través de otras ecuaciones tal y como se ha descrito en el capítulo correspondiente a la metodología.

La luminosidad relativa por su parte, viene dada por el valor triestimular Y, expresado en porcentaje, Y%. Se considera que en el caso del negro Y%=0 y que en el caso del incoloro Y%=100.

Para el caso del *Txakoli Tinto*, los valores más altos de luminosidad lo han mostrado aquellas muestras que han sido elaboradas con variedades de Hondarrabi Beltza, tanto en la muestra en la que se encontraba como variedad única como en la que se ha encontrado como variedad acompañada de Folle Blanche. La variedad Cabernet Sauvignon, también ha presentado un valor elevado. Por otro lado, las variedades clasificadas como desconocidas, han presentado valores muy bajos de luminosidad.

Las muestras de *Txakoli Rosado* por el contrario, han presentado valores superiores de luminosidad por comparación con los encontrados en el Txakoli Tinto. Del mismo modo que en el caso del Txakoli Tinto, las variedades que mayor luminosidad han mostrado han sido aquella muestra elaborada con variedad Hondarrabi Beltza de Bakio, así como la variedad Cabernet Sauvignon, destacando también el bajo valor encontrado para la variedad de Hondarrabi Beltza de Larrabetzu.

Por último, se muestra la *Matriz de Correlación Lineal* resultante del análisis global de todos los parámetros cromáticos, los proporcionados tanto por el método usual como por el de referencia.

	X	Y	Z	x	y	IC	IC'	N
X	1							
Y	1	1						
Z	.987	.987	1					
x	-.983	-.984	-.962	1				
y	-.989	-.989	-.993	.985	1			
IC	-.821	-.823	-.836	.862	.869	1		
IC'	-.801	-.803	-.804	.853	.845	.995	1	
N	.193	.198	.105	-.289	-.18	-.502	-.577	1
dA(%)	-.218	-.224	-.113	.329	.198	.436	.524	-.96
K-K	-.885	-.886	-.898	.922	.929	.988	.979	-.415

Debe destacarse la elevada correlación encontrada entre los parámetros del color x e y, y los parámetros calculados mediante el método usual, intensidad Colorante, IC, IC' y el Índice de Kerényi y Kampis, K-K. Destacar del mismo modo, la alta correlación lineal entre el índice de Kerényi y Kampis, K-K y los valores de Intensidad Colorante, IC.

Los resultados correlacionan bastante bien con los encontrados en otros vinos (Heredia Mira F. J., 1993).

CONCLUSIONES

El análisis mediante técnicas espectroscópicas de los compuestos polifenólicos presentes en el Txakoli de Bizkaia, ha puesto de manifiesto que:

1. El contenido en polifenoles totales se determinará empleando el Método de Folin-Ciocalteu, metodología dictada por la Comunidad Europea y no tomando la absorbancia a 280 nm. La variedad Hondarrabi Zuri, variedad preferente según el Reglamento de Denominación de Origen, presenta el mayor contenido polifenólico en el caso del Txakoli Blanco. La variedad Cabernet Sauvignon, es la variedad con el máximo contenido polifenólico en el Txakoli Rosado y la Hondarrabi Beltza, variedad preferente según el Reglamento de la D. O., en el Txakoli Tinto.

2. La determinación de los antocianos libres presentes en el Txakoli Tinto de Bizkaia, se ha llevado a cabo empleando tanto el Método del pH o el Método del sulfito, en la variante de Ribéreau-Gayon y Stonestreet. Los resultados obtenidos para la variedad autóctona, Hondarrabi Beltza, han sido menores en comparación con los obtenidos para las demás variedades analizadas.

3. El estudio del contenido catequínico presente en el Txakoli Blanco de Bizkaia mediante el Método de la vainillina, ha demostrado que la variedad Hondarrabi Zuri es la que presenta el mayor contenido.

4. La determinación de los antocianógenos se ha llevado a cabo mediante una adsorción previa sobre polivinilpirrolidona, resultando la variedad Hondarrabi Zuri la que mayor contenido ha presentado.

5. Los hidroxycinamatos, son los compuestos polifenólicos más importantes en el Txakoli Blanco de Bizkaia. Los espectros de absorbancia UV-visible obtenidos, así como su determinación cuantitativa, ha puesto de manifiesto que el mayor contenido en hidroxycinamatos lo ha presentado la variedad Hondarrabi Zuri resultando su espectro de absorbancia de UV-visible característico, lo que muestra una importante distinción varietal respecto al resto de variedades empleadas.

6. El estudio de los parámetros cromáticos, se ha realizado empleando el Método usual y el Método de referencia, encontrándose una buena correlación lineal entre los propios Valores Triestimulares, entre los valores de Intensidad Colorante e Índice de Kerényi y Kampis y entre las Coordenadas del color y éste mismo Índice.

En el caso del Txakoli Tinto, la variedad Hondarrabi Beltza, variedad preferente según la Denominación de Origen, ha presentado valores medios de Intensidad Colorante, Índice de Glories, Índice de Kerényi y Kampis y Luminosidad, tanto en las muestras en las que se presentaba como variedad única como en aquellas en las que se encontraba mezclada con otras. Sin embargo, ha sido esta variedad la que mayor Tonalidad ha presentado.

Para el Txakoli Rosado, las dos variedades de Hondarrabi Beltza estudiadas, han mostrado valores muy dispares en Intensidad Colorante, Tonalidad, Índice de Glories, Índice de Kerényi y Kampis. La diferencia encontrada en los parámetros cromáticos han podido deberse a que ambas variedades provienen de cosechas diferentes por lo que las condiciones cli-

matológicas han podido influir directamente en sus características cromáticas o bien a factores derivados de su situación geográfica y de elaboración.

BIBLIOGRAFIA

- ALMELA L.; JAVALOY S.; FERNÁNDEZ LÓPEZ J. A.; LÓPEZ ROCA J. M., *Food Chem.*, 1995, 53(3):321
- BROUILLARD R.; DANGLES O., *The Flavonoids. Advances in Research since 1986, 1993*, de J. B. Harborne. Chapman & Hall, London
- CELA R.; NATERA R.; PÉREZ-BUSTAMANTE J. A., *Anal. Bromatol.*, 1982, 34:207
- DALLAS C.; RICARDO DA SILVA J. M.; Laureano O., *Vitis*, 1995, 34(1):51
- ESCOBAL GONZÁLEZ A., Tesis Doctoral, 1996, Facultad de Ciencias, Universidad del País Vasco.
- GAO L.; MAZZA G., *J. Agric. Food Chem.*, 1995, 43(2):343
- GLORIES Y. Tesis Doctoral, 1978, Univ. de Burdeos
- GLORIES Y., *Conn. Vigne Vin.*, 1984, 18:253
- GÓMEZ CORDOVÉS C.; GONZÁLEZ SAN JOSÉ M. L.; JUNQUERA B.; ESTRELLA I., *Am. J. Enol. Vitic.*, 1995, 46(3):295
- GÓMEZ E.; MARTÍNEZ A.; LAENCINA J., *Food Research International*, 1995, 28(2):213
- GÓNZALEZ LARRAINA M., *Caracterización de los vinos de Euskal Herria. Servicio de publicaciones de la Diputación Foral de Alava*, 1988
- GONZÁLEZ LARRAINA M.; LÓPEZ R., *Ensayos y Experiencias*, 1981, 4
- HEREDIA MIRA F. J.; GUZMÁN CHOZAS M., *Anal. Bromatol.*, 1990, 42(2):279
- HEREDIA MIRA F. J.; GUZMÁN CHOZAS M., *J. Food Qual.*, 1993, 16(6):439
- HEREDIA F. J.; GUZMÁN CHOZAS M., *Alimentación, equipos y tecnología*, 1993, 8:37
- ISHIKAWA T.; NOBLE A. C., *Food Qual. Pref.*, 1995, 6(1):27
- KERENYI Z.; KAMPIS A., *Acta Alimentaria*, 1984, 13(4):325
- MARTÍNEZ LAYANA J.; ALONSA R.; DOMÍNGUEZ E.; JIMÉNEZ R.; LABORRA C.; VICENTE F., *J. Chem. Research*, 1989, 5:138
- ORTEGA P.; GARCÍA DE LA PEÑA M. E.; TIENDA P.; NAVARRO P.; SERRANO J., *Vitivinicultura*, 1995, 3:55
- PERI C., POMPEI C., *Am. J. Enol. Vitic.*, 1971, 22:55
- PEYNAUD E., *II Jornadas Técnicas de Rioja*, Haro, 1972
- RIBÉREAU-GAYON J., PEYNAUD E., SUPRAUD S., RIBÉREAU-GAYON P., *Traité d'oenologie: Sciences et techniques du vin. Vol 1. Analyse et controle des vins.*, 1976, Dunod, Paris.
- RIBÉREAU-GAYON P.; STONESTREET E., *Bull. Soc. Chim. Fr.*, 1965, 4/9
- RIBÉREAU-GAYON P. *Plant Phenolics*, 1972, Oliver Boyd, Edinburgh
- RIBÉREAU-GAYON P., STONESTREET E., *Chim. Anal.*, 1966, 48:188
- SCHNEIDER V., *Am. J. Enol. Vitic.*, 1995, 46(2):274
- SIMS C. A.; EASTRIDGE J. S.; BATES R. P., *Am. J. Enol. Vitic.*, 1995, 46(2):155

- SINGLETON V. L., NOBLE A. C., Wine flavor and phenolic substances, 1976, American Chemical Society, Washington DC.
- SOMERS T. C., ZIEMELIS G., *J. Sci. Food Agric.*, 1972, 23:441
- SOMERS T. C., EVANS M. E., *J. Sci. Food Agric.*, 1977, 28:279
- SOMERS T. C., ZIEMELIS G., *J. Sci. Food Agric.*, 1985, 36:1275
- SUPRAUD P., *Ann. Technol. Agric.*, 1958, 7:203
- THORNGATE J. M.; SINGLETON V. L., *Am. J. Enol. Vitic.*, 1994, 45(3):349
- VALDEHITA M. T.; MATALLANA M. C., *Anal. Bromatol.*, 1983, 35(2):195