



UNIVERSITAT  
ROVIRA i VIRGILI

---

# Efecto de la suplementación con levaduras secas inactivadas y polisacáridos de piel de uva sobre la composición química y astringencia en vino Cabernet Sauvignon

---



**Daniel Fernández Vázquez**

Tutor de la asignatura: Ricardo Cordero Otero

Tutor del trabajo: Fernando Zamora Marín

Trabajo de fin de grado

Graduado en Biotecnología, Universitat Rovira i Virgili

Tarragona, Junio de 2018



Efecto de la suplementación con levaduras secas inactivadas y polisacáridos de piel de uva sobre la composición química y astringencia en vino Cabernet Sauvignon

## Agradecimientos

Querría dar las gracias en especial al Dr. Fernando Zamora Marín, por darme la oportunidad de poder formar parte su grupo de investigación durante estos meses de trabajo, así por contagiarme su pasión por el vino y su profesionalidad.

Agradecer a Jordi Gombau Roigé, quien ha sido mi mentor durante mi estancia en el laboratorio, al igual que al resto del equipo que me han ayudado y acompañado estos meses: Adeline, Olga, Lucie, Pere, Pol y Diego.

Del mismo modo agradecer a los compañeros del grupo de investigación Biotecnología Enológica con quienes he compartido laboratorio y buenos momentos dentro y fuera de los laboratorios.

Agradecer a mis padres el apoyo durante estos cuatro años de carrera, por la paciencia, por creer en mí y ayudarme en todo cuanto he necesitado.

También dar las gracias a la generación de biotecnólogos de la Universitat Rovira i Virgili por todo lo que hemos compartido estos cuatro años y a los compañeros biotecnólogos de la Universidad de León y la Universidad de Salamanca por los pasados y los presentes congresos.



## Tabla de contenido

### **I. Introducción**

Resumen.....	6
1. Compuestos fenólicos del vino .....	8
1.1. No flavonoides .....	9
1.2. Flavonoides .....	9
1.2.1. Antocianos.....	9
1.2.2. Flavanoles.....	11
2. Copigmentación .....	13
3. Polisacáridos en el vino .....	14
3.1. Polisacáridos procedentes de la uva .....	14
3.2. Polisacáridos de levadura.....	15
4. Astringencia.....	16
5. Métodos de crianza.....	16
5.1. Levaduras secas inactivadas.....	17

### **II. Hipótesis de trabajo, objetivos y resultados**

1. Metodología .....	20
2. Resultados y discusión .....	24
3. Conclusiones.....	35
4. Autoevaluación .....	36
5. Referencias.....	37

### **III. Anexos**

1. Material complementario .....	40
2. Información sobre el extracto de piel .....	42

## Datos del centro

La investigación se ha llevado a cabo en los laboratorios del Campus Sescelades, de la Universitat Rovira i Virgili, dentro del grupo de investigación en tecnología enológica TECNENOL, a cargo del Dr. Fernando Zamora Marín y Dr. Joan Miquel Canals Bosch. El grupo tiene sus orígenes en el año 1990 y goza de las instalaciones de la bodega del Mas dels Frares para la realización de vinificaciones para experimentación.

La línea de investigación seguida en los inicios del grupo fueron las causas de las paradas de la fermentación. Con el tiempo se abrieron otras líneas de investigación relacionadas con las proteínas de los vinos y su relación con la calidad del vino y la persistencia de la espuma en vinos espumosos; color del vino tinto, composición de compuestos fenólicos y astringencia.

Más recientemente, se puso en marcha una nueva línea de investigación sobre la identificación varietal en *Vitis vinífera* mediante técnicas moleculares, dirigida por M<sup>a</sup> Francesca Fort Marsal.

El trabajo realizado en el laboratorio ha permitido realizar una comunicación en el congreso de la Organización Internacional de la viña y el vino (OIV) 2018 que se celebrará en Uruguay.

## Resumen

El objetivo de este trabajo es estudiar la influencia de la adición de levaduras secas inactivadas y de extracto de piel de uva rico en polisacáridos, en la composición química y astringencia de vinos de la variedad Cabernet Sauvignon. Para ello se realizaron microvinificaciones a nivel de bodega con la adición de dos extractos comerciales de levaduras secas inactivadas y un extracto de polisacáridos de piel de uva purificado en el laboratorio, sin y con adición de tanino comercial de semilla de uva. Es bien conocido que los compuestos fenólicos, juegan un papel importante en la composición química en los atributos sensoriales de los vinos tintos como son el color, el cuerpo, el amargor y la astringencia. En la literatura se describe que la adición de levaduras secas inactivadas puede ser favorable para la mejora sensorial de los vinos tintos, como puede ser la reducción de la percepción de astringencia y el aumento de la untuosidad. Según los resultados, la adición de extractos de levadura seca inactivada no ha tenido efecto sobre el color, pero sí ha reducido la astringencia determinada por método analítico y aumentado la untuosidad y cuerpo sensorialmente por el aporte de polisacáridos.

Palabras clave: *levadura seca inactivada, Cabernet Sauvignon, polisacáridos, proantocianidinas, análisis sensorial.*





# I. Introducción

## 1. Compuestos fenólicos del vino

El vino, resulta desde todos los puntos de vista un producto complejo. Desde su estructura química, se presenta como una matriz con elevado número de compuestos fenólicos distintos, que interaccionan constantemente entre ellos. Estos compuestos fenólicos son considerados como parámetros determinantes de la calidad del vino tinto. Estos influyen directamente en diferentes atributos sensoriales del vino tinto como son el color, el cuerpo, el sabor amargo y la astringencia (Quijada-Morín *et al.*, 2014).

Químicamente hablando, los compuestos fenólicos están formados por uno o más anillos aromáticos, uno o varios grupos hidroxilo (-OH) y una cadena funcional. Una clasificación aceptada por la mayoría de autores reconoce dos dicotomías: compuestos flavonoides, con un esqueleto tipo 2-fenil benzopirona y no flavonoides, que resultan en su estructura principalmente fenoles (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2006). En la Figura 1 se presenta un esquema de esta clasificación.

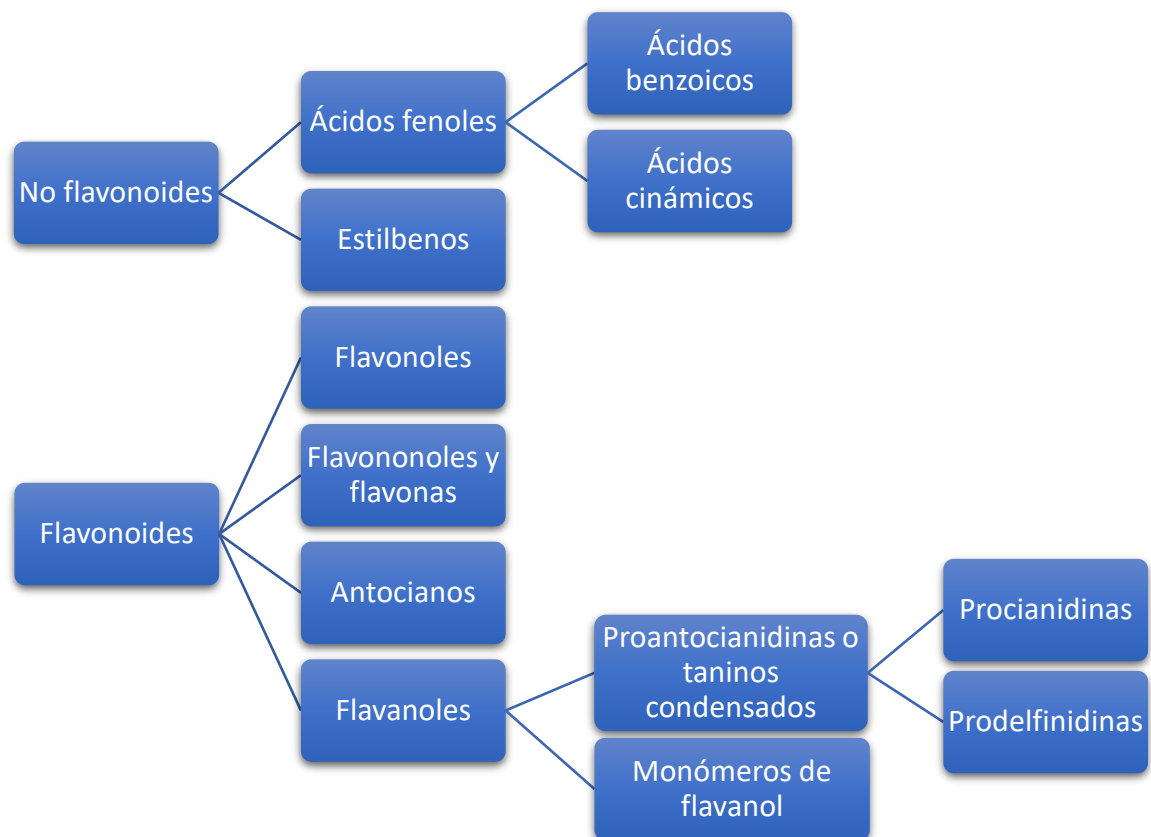


Figura 1. Clasificación general de compuestos fenólicos (Zamora, 2003).

### 1.1. No flavonoides

Dentro de los compuestos fenólicos no flavonoides encontramos dos familias, los ácidos fenoles y los estilbenos. Los ácidos fenoles se encuentran en pulpa, semilla y raspón; y carecen de color en el espectro visible (Zamora, 2003). No obstante, pueden actuar como copigmentos y participar del color en vinos tintos jóvenes. Por sí mismos, los ácidos fenoles como el ácido gálico y el ácido elágico presentan un sabor amargo en solución, pero no tienen un impacto real sobre el sabor del vino. Los estilbenos se localizan únicamente en el hollejo y no presentan importancia desde el punto de vista organoléptico.

### 1.2. Flavonoides

Incluyen cuatro grandes familias: flavonoles, flavanoles y flavonas, antocianos y flavanoles. Los dos primeros grupos son los de menor relevancia en vino tinto. Presentan una estructura química muy similar y su localización se limita a los hollejos. Los flavonoles contribuyen a la componente amarilla del color del vino y está descrito que son muy buenos copigmentos (Zamora, 2003).

A continuación, se detallan las dos últimas familias que presentan mayor interés en los atributos organolépticos del vino.

#### 1.2.1. Antocianos

Son compuestos que se localizan principalmente en el hollejo de las uvas tintas, aunque algunas variedades tintoreras presentan antocianos en la pulpa (Souquet *et al.*, 1996). Los antocianos son los pigmentos que dan color al vino, aportando las tonalidades rojizas-azuladas (He *et al.*, 2012).

En las variedades de *Vitis vinífera*, distinguimos cinco antocianos: cianidina, peonidina, delphinidina, petunidina y malvidina (Figura 2); de los cuales la malvidina es el antociano mayoritario. En *Vitis vinífera*, el azúcar que presenta el antociano es glucosa, que puede estar esterificada con otros fenoles simples como ácido caféico y ácido *p*-cumárico entre otros.

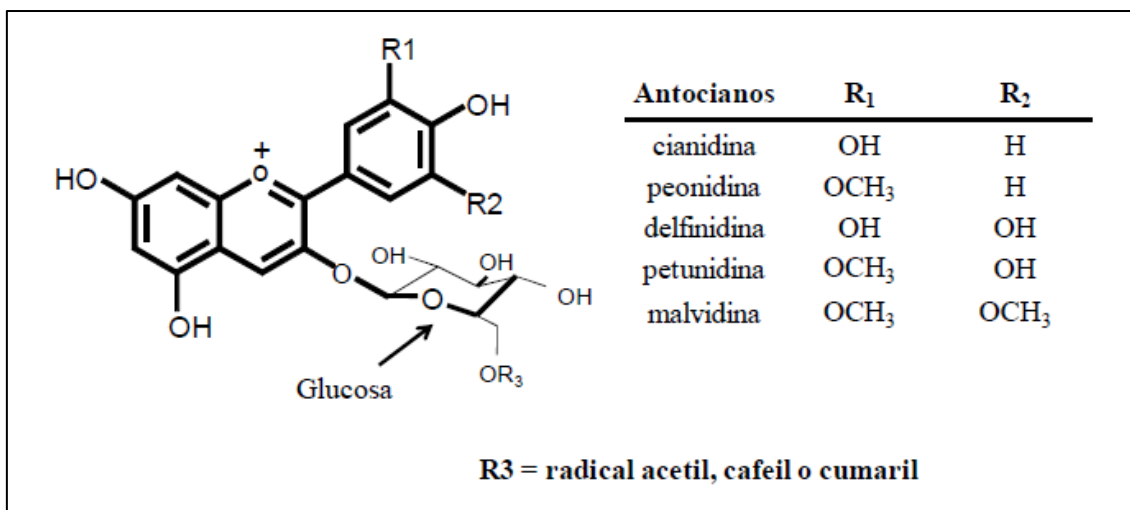


Figura 2. Estructura común de los antocianos y de sus radicales (González Royo, 2015).

La acumulación de antocianos en la uva está determinada principalmente por el grado de maduración, aunque también influyen otros factores como la temperatura, la insolación, la cantidad de agua disponible, las prácticas vinícolas realizadas como la temperatura de fermentación, la frecuencia y volumen del remontado entre otros (González Royo, 2015).

La cantidad de antocianos no es lo único que determina el color final del vino, sino el equilibrio entre sus diferentes formas químicas. A determinados valores de temperatura, pH, luz, contenido de dióxido de azufre; el equilibrio puede desplazarse hacia formas con mayor coloración rojiza, azulada o incolora, tal y como se muestra en la Figura 3. A pH ácido, se han descrito una mayoría de moléculas en forma de catión flavilio, de coloración rojiza; mientras que, a pH básico, se ha descrito un aumento de bases quinona (formas AO) de color violáceo, o bases carbinol (forma AOH) que son incoloras. La temperatura también influye en la coloración, ya que bases carbinol pueden transformarse a calconas cis y trans, que presentan coloración amarilla.

De esta manera existe un equilibrio entre formas de color rojo, azul e incoloras. Solamente entre un 20 – 30 % de los antocianos totales aportan color al vino tinto joven (Zamora, 2003). A pH de (3,5 – 4,0) el vino tinto presenta un color distinto al que correspondería según este equilibrio gracias a otros procesos que afectan a la intensidad y tonalidad del vino. Algunos de estos procesos son: la copigmentación, las

combinaciones de los antocianos con flavanoles (pigmentos poliméricos) y la formación de nuevos pigmentos derivados de antocianos (González Royo, 2015).

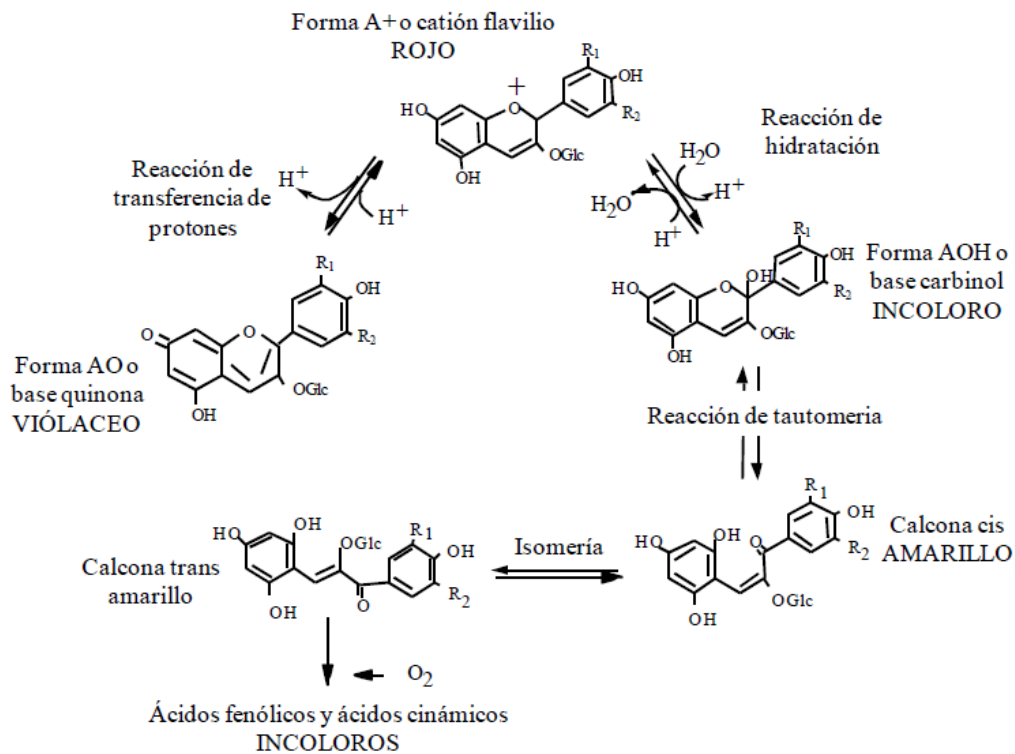


Figura 3. Equilibrio de las diferentes formas de antocianos en función del pH (Zamora, 2003).

Se ha descrito que el fenómeno de la copigmentación se da en los vinos jóvenes mientras que a medida que el vino envejece la copigmentación va perdiendo peso y toma mayor relevancia la formación de pigmentos poliméricos (Heras-Roger, Díaz-Romero and Darías-Martín, 2016). El fenómeno de la copigmentación se describirá con más detalle en el siguiente apartado.

### 1.2.2. Flavanoles

Los flavanoles se encuentran en elevadas concentraciones tanto en piel como en semillas y juegan un papel importante en la calidad organoléptica del vino. Proporcionan al vino sabor amargo, astringencia, estructura y cuerpo (Vidal, Francis, *et al.*, 2003).

Efecto de la suplementación con levaduras secas inactivadas y polisacáridos de piel de uva sobre la composición química y astringencia en vino Cabernet Sauvignon

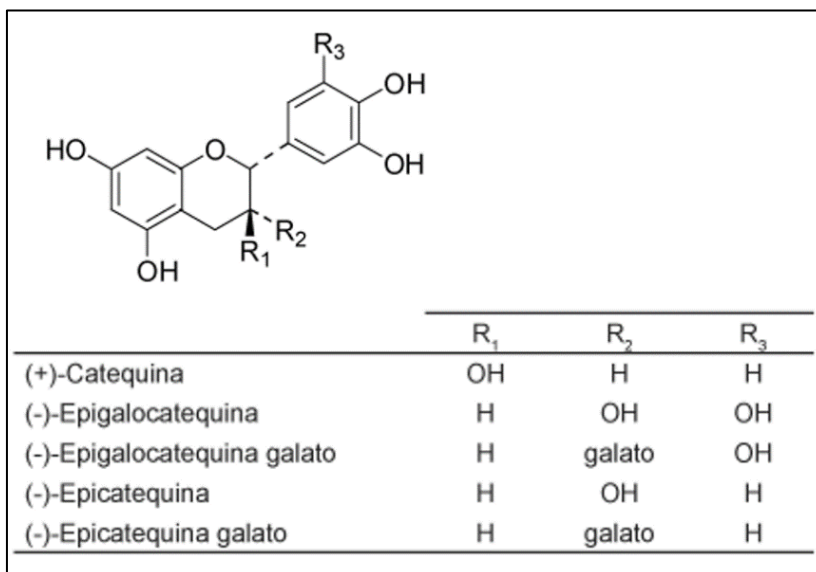


Figura 4. Estructura química de los taninos hidrolizables (Matsubara and Rodriguez-Amaya, 2006).

Como se aprecia en el esquema de la Figura 1, dentro de los flavanoles encontramos los monómeros de flavan-3-oles y las proantocianidinas o taninos condensados (oligómeros y polímeros de monómeros de

flavan-3-ol). Mayoritariamente en el vino encontramos los flavanoles en forma de polímeros y oligómeros. También, el término tanino hace referencia no solamente a las proantocianidinas sino también a los taninos hidrolizables que provienen de barrica o extractos comerciales (Zamora, 2003).

Los monómeros de flavanol que se encuentran en el vino son la (+)-catequina, (-)-epicatequina, (-)-epigalocatequina y el galato de (-)-epicatequina, cuya estructura se muestra en la Figura 4.

Los taninos condensados, se encuentran en todas las partes sólidas del racimo (hollejos, semillas y raspón) y se solubilizan en el vino durante la fase de maceración (González Royo, 2015). Las proantocianidinas se pueden dividir en procianidinas y prodelfinidinas, en función de los monómeros de flavanoles del cual estén compuestas (Zamora, 2003). Las procianidinas están formadas por unidades monoméricas de (+)-catequina, (-)-epicatequina y galato de (-)-epicatequina mientras que las prodelfinidinas están formadas también por unidades de (+)-epigalocatequina.

Dependiendo de la procedencia de los flavanoles estos tienen diferentes estructuras, encontrando en las pieles procianidinas y prodelfinidinas con alto grado de polimerización y un bajo porcentaje de galoilación, mientras que en las semillas encontramos solamente procianidinas con bajo grado de polimerización y alto porcentaje de galoilación (Cerpa-Calderón and Kennedy, 2008).

## 2. Copigmentación

El fenómeno de la copigmentación se da gracias a la creación de complejos entre antocianos y otras moléculas llamadas copigmentos. Estos complejos tipo “sándwich”, pueden producirse gracias a la estructura plana que tienen los antocianos y copigmentos. El número de unidades que forman los complejos tipo sándwich varía de 2 a 10 (Zamora, 2003). Estos complejos permiten crear un entorno hidrofóbico que protege a los cationes flavilio de coloración rojiza, de las moléculas de agua del entorno, evitando su transformación a bases hidratadas incoloras (Mirabel *et al.*, 1999).

Los copigmentos resultan moléculas planas y pueden ser antocianos, ácidos fenoles, derivados de flavonoles, flavanoles, polisacáridos, aminoácidos y nucleótidos (He, Liang and Mu, 2012). De todas las moléculas, los flavonoles son los compuestos con mayor poder de copigmentación y los flavanoles los que tienen menor poder (Lambert *et al.*, 2011). Dentro de los flavanoles, la epicatequina resulta ser mejor pigmento que la catequina para la estabilización del color (Mirabel *et al.*, 1999). Las débiles uniones entre las moléculas del complejo dependen de la temperatura, pH, fuerza iónica y la presencia de determinados solventes en el medio como puede ser el etanol. Conforme aumenta la concentración de etanol, disminuye el fenómeno de la copigmentación (Heras-Roger, Díaz-Romero and Darías-Martín, 2016).

El fenómeno de la copigmentación ayuda a la estabilización del color en vinos tintos. En vinos jóvenes, tiene la capacidad de proteger a los antocianos de la adición de bisulfito y de los cambios de pH (González Royo, 2015) y en las etapas posteriores de crianza y envejecimiento, protege a los antocianos de la oxidación (Berké and de Freitas, 2005).

La copigmentación por tanto, produce el aumento de la intensidad colorante, la estabilización del color y también lo modifica hacia una tonalidad más azulada (Vivar-Quintana, Santos-Buelga and Rivas-Gonzalo, 2002).

### 3. Polisacáridos en el vino

El contenido de polisacáridos que presenta un vino proviene de fuentes diversas. Los dos principales son: los polisacáridos que provienen de la propia uva y que se extraen durante la fermentación, y los polisacáridos que provienen de las levaduras.

#### 3.1. Polisacáridos procedentes de la uva

Los polisacáridos procedentes de la uva, provienen de la degradación de las sustancias pécticas de la pared celular del hollejo y de la pulpa que se liberan en las primeras etapas de la vinificación (Doco *et al.*, 1999).

Los principales polisacáridos procedentes de la uva son homogalacturonanos y ramnogalacturonanos. Los homogalacturonanos son polisacáridos formados por cadenas lineales de ácido galacturónico unidos mediante enlaces  $\alpha$ -(1-4) y esterificados con metanol. En el vino tienen baja concentración por la facilidad con la que se hidrolizan por enzimas pectolíticas, que los degradan y liberan ramnogalacturonanos (González Royo, 2015).

Los ramnogalacturonanos tipo I están compuestos por cadenas de homogalacturonanos con moléculas de  $\alpha$ -L-ramnosa intercaladas en posición  $\alpha$ -(1-2). Estas ramnosas pueden unirse a arabinanos o a arabinogalactanos. Si se unen a arabinanos acaban produciendo turbios en el vino (González Royo, 2015), mientras que si se unen a arabinogalactanos se vuelven complejos más solubles y extraíbles durante el prensado. Los ramnogalacturonanos unidos a arabinogalactanos son los más abundantes en mostos y vinos (Vidal, Francis, *et al.*, 2003).

Los ramnogalacturonanos tipo II están compuestos por cadenas de homogalacturonanos que presentan ramificaciones con fructosa, galactosa, arabinosa y ramnosa. En vinos tintos llegan a representar un 20% de los polisacáridos solubles (Vidal, Williams, *et al.*, 2003).

### 3.2. Polisacáridos de levadura

La segunda fuente de polisacáridos en vino son los procedentes de las levaduras. Estos se encuentran en la pared celular y representan entre un 15 a 30% del peso seco en especies como *Saccharomyces cerevisiae* (Aguilar Uscanga and François, 2003).

Esta pared está compuesta principalmente por  $\beta$ -(1-6) glucanos y manoproteínas en la cara externa, y por  $\beta$ -(1-3) glucanos y quitina en la cara interna (Uscanga, Pacheco and François, 2005). Los glucanos son los compuestos más abundantes de la pared celular y ayudan a organizarla, ya que forman conexiones con quitina y manoproteínas (Klis, Boorsma and De Groot, 2006). La quitina tan solo representa el 1 – 2% del peso seco de la célula y aunque es minoritario, puede aumentar en situaciones de estrés celular (Valdivieso *et al.*, 2000).

Las manoproteínas son glicoproteínas unidas a residuos de manosa o glucosa y actúan como un filtro selectivo y participan de la porosidad de la pared celular. En la pared de la levadura representan entre el 30 – 50 % del total de polisacáridos (Klis, Boorsma and De Groot, 2006), mientras que en el vino representan el 35% de los polisacáridos totales (Vidal, Williams, *et al.*, 2003).

Las manoproteínas se sintetizan y excretan durante el proceso de fermentación, ya que la levadura las utiliza para formar la pared celular. Las manoproteínas se pueden liberar por las levaduras en dos momentos: durante la maceración y fermentación alcohólica del mosto (Vidal, Williams, *et al.*, 2003) y durante el envejecimiento del vino en presencia de lías. Durante el envejecimiento, las enzimas con actividad  $\beta$ -1,3 glucanasa liberan estas manoproteínas al degradar los  $\beta$ -glucanos de pared. La cantidad de manoproteínas liberadas dependerá de la cepa de levadura de la cual se trate y de las condiciones nutritivas del mosto y condiciones de envejecimiento (Vidal, Williams, *et al.*, 2003).

Los polisacáridos son actualmente un grupo de macromoléculas de interés en enología por los diversos estudios que confirman las propiedades organolépticas que puede aportar al producto final. Por lo general, se ha descrito que pueden crear uniones con los compuestos fenólicos del vino y favorecer la mayor estabilización del color



Efecto de la suplementación con levaduras secas inactivadas y polisacáridos de piel de uva sobre la composición química y astringencia en vino Cabernet Sauvignon interactuando con taninos y antocianinas y evitando su agregación y precipitación (Palomero *et al.*, 2007). También puede reducir la astringencia, y aumentar la redondez, la estructura, el volumen en boca de vinos (Riou *et al.*, 2002).

#### 4. Astringencia

La astringencia es un fenómeno que se produce en boca debido a la capacidad de algunos compuestos fenólicos como los taninos de unirse con las proteínas salivares, creándose complejos y precipitando, haciendo que se pierda la capacidad lubricante de la saliva y contribuyendo a la sensación de sequedad en boca (González Royo, 2015).

La percepción de la astringencia es determinante para la aceptación de muchos alimentos, y en enología es probablemente uno de los atributos sensoriales más importantes, ya que define en gran medida la calidad de vinos tintos. Si la astringencia es excesiva, se considera que el vino es duro, seco y desagradable; pero si es escasa, se considera que son planos, insípidos y poco interesantes (Llaudý *et al.*, 2004).

Las uniones que se crean en los complejos tanino-proteína son del tipo puentes de hidrógeno y/o interacciones hidrofóbicas (Hagerman and Robbins, 1987). Hay ciertos factores que afectan a la astringencia final del vino tinto, como la concentración total de taninos, el grado de polimerización promedio (mDP), su composición en subunidades y su distribución (Stéphane Vidal *et al.* 2003).

Se ha relacionado la sensación de sequedad en boca con un mayor porcentaje de galoilación y un mayor grado de polimerización, y la mayor concentración de unidades de epigallocatequina con la reducción de la astringencia del vino (Stéphane Vidal *et al.* 2003).

#### 5. Métodos de crianza

Un método de crianza consiste en la utilización de lías, tanto en vino blanco como en tinto. En vino tinto, las lías consisten principalmente en células de levadura muertas producidas durante la fermentación alcohólica mezcladas con cristales de tartrato, bacterias y residuos de células vegetales (González Royo, 2015). Cuando el vino entra en

contacto con las lías se produce la autólisis de las levaduras, que consiste en un proceso de autodegradación enzimática de las levaduras. Se fragmentan las membranas celulares y se libera el interior celular que contiene proteínas, péptidos, ácidos nucleicos, aminoácidos, nucleótidos, compuestos nitrogenados, compuestos volátiles, ácidos grasos y manoproteínas.

La velocidad de liberación de estos compuestos está determinada por parámetros físicos como la temperatura, pH o la concentración de etanol; por lo que la crianza con lías puede resultar un proceso un tanto largo, pudiendo durar desde unos meses hasta años. Por este motivo, existen alternativas a la crianza con lías como puede ser la selección de cepas de levaduras en función de su facilidad de autólisis, o el uso de levaduras secas inactivadas.

Los preparados de levadura seca inactivada imitan a las lías de levadura. Las preparaciones, se hacen crecer a condiciones determinadas de cultivo y después se les realiza un proceso de inactivación térmica (100 – 120 °C) o enzimática mediante procesos autolíticos. Posteriormente se secan y se comercializan como extractos en polvo (González Royo, 2015). De la inactivación de las levaduras, se derivan varios tipos de preparados en función de su proceso de producción: levaduras secas inactivadas obtenidas por inactivación térmica, autólisis de levaduras, extractos de levadura con solamente componentes intracelulares, paredes o cortezas de levaduras y manoproteínas extraídas de las paredes celulares (González Royo, 2015).

### 5.1. Levaduras secas inactivadas

Las levaduras secas inactivadas han sido utilizadas por la industria enológica como potenciador de la fermentación o como nutriente (Angeles Pozo-Bayo *et al.*, 2009). Se utilizan para el crecimiento de microorganismos del vino, debido a la capacidad de liberar metabolitos del citoplasma en el vino mejorando la fermentación alcohólica (Aguilar Uscanga and François, 2003).

También son capaces de liberar al medio fracciones insolubles de la levadura, que pueden incorporar las levaduras para reparar daños; y ácidos grasos poliinsaturados que

Efecto de la suplementación con levaduras secas inactivadas y polisacáridos de piel de uva sobre la composición química y astringencia en vino Cabernet Sauvignon favorecen la adaptación del metabolismo de las levaduras secas activas a la presión osmótica producida después de la hidratación con agua (Caridi, 2002).

Así pues, las levaduras secas inactivadas resultan un producto comercializado por diferentes compañías enológicas y biotecnológicas con la finalidad de mejorar la calidad y características organolépticas de los vinos.

## II. Hipótesis de trabajo, objetivos y resultados

Un vino se define como una matriz compleja con gran cantidad de compuestos fenólicos distintos, que interactúan entre ellos. Lo que conocemos como un buen vino, es fruto de una buena cosecha, en el momento de madurez exacta de la uva, cuando contiene la composición adecuada de compuestos fenólicos. La madurez de la uva depende en gran medida de las condiciones climáticas y por ello es tarea de los enólogos decidir el momento exacto de cosecha. Una cosecha en momentos previos o posteriores al punto óptimo de maduración, puede conllevar a vinos faltos de astringencia y dureza o en exceso, y poco aptos para la crianza.

Afortunadamente existen técnicas para corregir los parámetros del vino para mejorar su calidad. En la bibliografía existente, se ha descrito que el aumento de la concentración de polisacáridos en vino puede favorecer la disminución de la astringencia (Quijada-Morín *et al.*, 2014).

La suplementación del vino con levaduras secas inactivadas es una de las técnicas que se utilizan para corregir este fenómeno. Las levaduras secas inactivadas, al descomponerse durante el proceso de fermentación del vino aportan sus componentes, principalmente polisacáridos.

Por los motivos descritos anteriormente, se describen los siguientes objetivos en este trabajo, en las vinificaciones llevadas a cabo con Cabernet Sauvignon:

- Evaluar el efecto de suplementación de diferentes extractos comerciales de levadura seca inactivada de la casa *Lallemand* y de extracto de piel de uva rico en polisacáridos, en la composición química y sensorial de vino Cabernet Sauvignon.
- Evaluar la capacidad de los extractos, de reducir la astringencia de los vinos y confirmar las cualidades que dicen aportar al producto final.
- Evaluar el efecto de la suplementación de extracto comercial de tanino de semilla junto con los extractos de levadura y extracto de piel de uva a la composición química y sensorial del vino.

## 1. Metodología

### Reactivos

Todos los reactivos fueron de elevada pureza, para *high pressure liquid chromatography* (HPLC). Etanol absoluto, metanol, ácido fórmico, ácido tartárico, ácido acético, hidróxido de sodio y ácido hidroclorohídrico fueron suministrados por Panreac (Barcelona, España). Acetato de amonio, formiato de amonio, aetaldehído, floroglucinol, ácido ascórbico y acetato de sodio fueron suministrados por Sigma-Aldrich (Steinheim, Alemania). Tanto la ovoalbúmina como el ácido tánico usados para cuantificar el índice de astringencia fueron suministrados por Sigma-Aldrich (USA). Todas las soluciones fueron filtradas con filtros de acetato de celulosa de 0,22  $\mu\text{m}$  (Millipore GSE, Madrid, España).

### Extractos

Como fuente de polisacáridos se utilizaron dos extractos comerciales de levadura seca inactivada (*Saccharomyces cerevisiae*): Opti Red® (OR) y OptiMum Red® (OM). También se utilizó un extracto de piel de uva rico en polisacáridos (EP) purificado en el laboratorio. Las características químicas de este extracto se encuentran en el Anexo 2. El extracto de tanino proantocianidínico de semilla Protan Pepin® (TS), fue suministrado por AEB Iberica S.A. (Barcelona, España).

### Microvinificaciones

Se realizaron microvinificaciones con uva de Cabernet Sauvignon de la cosecha del 2017. Las uvas fueron despalladas y estrujadas. Las uvas resultantes de estos procesos fueron distribuidas en 24 tanques de 5L de fermentación, poniendo en cada tanque 4,5 kg de uva y se sulfitaron. Todos los extractos comerciales fueron añadidos antes de la fermentación (20 g/hL) y todas las microvinificaciones fueron inoculadas con *Saccharomyces cerevisiae* EC1118. A los quince días todas las fermentaciones terminaron (concentración azúcar menor de 1 g/L) y los tanques fueron descubados y sulfitados. Se estabilizó el vino resultante durante 3 meses en frío y se embotelló para su posterior análisis.

Las diferentes condiciones de vinificación fueron: el vino control (sin adición de ningún extracto), los vinos añadiendo cada uno de los extractos ricos en polisacáridos (Opti Red®, OptiMum Red® y extracto de piel), vino con adición de tanino comercial de semilla de uva, vinos con la combinación del extracto de tanino de semilla con cada uno de los extractos ricos en polisacáridos (Tabla 1). Cada condición de maceración fue realizada por triplicado.

Tabla 1. Tabla resumen de las maceraciones llevadas a cabo, con los extractos utilizados y su nomenclatura.

Condiciones de maceración	Maceraciones realizadas (por triplicado)
Control	-
Tanino de semilla	Protan Pepin® (TS)
Extractos ricos en polisacáridos	Opti Red® (OR)
	OptiMum Red® (OM)
	Extracto de piel de uva (EP)
	Opti Red® (OR) + Protan Pepin® (TS)
Extractos ricos en polisacárido y tanino de semilla	OptiMum Red® (OM) + Protan Pepin® (TS)
	Extracto de piel de uva (EP) + Protan Pepin® (TS)

### Análisis de color y compuestos fenólicos

La intensidad colorante (IC) se calculó utilizando el método descrito por (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2006). El índice de polifenoles totales (IPT) se determinó midiendo la absorbancia a 280 nm. La intensidad colorante (IC) y las coordenadas Cielab,  $L^*$ , claridad;  $C^*$ , croma;  $h^*$ , tomo;  $a^*$ , verde-rojo;  $b^*$ , azul-amarillo; se determinaron siguiendo el método propuesto por (Ayala, Echávarri and Negueruela, 1997) y los datos procesados por MSCVsoftware (Alaya, 2012). El índice de astringencia fue determinado según el método descrito por (Llaudy *et al.*, 2004).

### HPLC, análisis de antocianos

Los análisis de antocianos mediante HPLC de fase reversa fueron llevados a cabo inyectando 40  $\mu$ L de vino en Agilent 1200 Series liquid chromatograph (HPLC-DAD) y

Efecto de la suplementación con levaduras secas inactivadas y polisacáridos de piel de uva sobre la composición química y astringencia en vino Cabernet Sauvignon usando una columna de 5  $\mu\text{m}$  Agilent Zorbax Eclipse XDBC18, 4,6x250 mm (*Agilent Technologies Inc.*, Santa Clara, CA, USA). Los solventes utilizados fueron ácido fórmico acuoso al 10% (solvente A) y una mezcla de 45% metanol, 45% agua y 10% de ácido fórmico (solvente B), según el método descrito por (Gil *et al.*, 2012).

### **Floroglucinolisis**

Para la cuantificación de la concentración y estructura de proantocianidinas se llevó a cabo según el método de catálisis ácida con un exceso de floroglucinol de (Kennedy and Jones, 2001). Se determinó la concentración de proantocianidinas, el grado de polimerización medio (mDP), el porcentaje de prodelfinidinas (%PD) y el porcentaje de galoilación (%Gal). Se evaporaron 5 mL de vino hasta sequedad (Univapo 100ECH; Uniequip) y se resuspendieron en 3 mL de agua destilada mili-Q. Se pasó la muestra por columnas Sep Pak Plus tC 18 (Waters, Milford, MA, USA) que se activaron con 10 mL de metanol y 15 mL de agua. Se eluyeron las proantocianidinas retenidas en la columna con 6 mL de metanol. Se evaporaron las muestras al vacío y se resuspendieron en 1 mL de metanol para HPLC. Se llevó a cabo la reacción de 100  $\mu\text{L}$  de muestra con 100  $\mu\text{L}$  de solución de floroglucinol (0,2 mL/L HCL en metanol, con 100 g/L floroglucinol y 20 g/L de ácido ascórbico), a 50  $^{\circ}\text{C}$  durante 20 minutos. Finalmente se paró la reacción añadiendo 1 mL de acetato sódico acuoso 40 mmol/L.

### **Determinación de polisacáridos**

Las muestras se procesaron según la metodología de (Ayestarán, Guadalupe and León, 2004). Se centrifugaron 10 mL de vino durante 15 minutos a 12.000 x *g* en centrifuga Biofuge Primo (Heraeus, Hanau, Alemania). El sobrenadante se concentró a un volumen de 2 mL usando un rotavapor (Univap 100ECH, Uniequip, Martinsried, Alemania). El total de polisacáridos solubles se precipitó añadiendo 10 mL de etanol acidificado (0,3 mol/L HCL en etanol absoluto) y se mantuvo durante 24 h a 4  $^{\circ}\text{C}$ . Se centrifugaron las muestras (12.000 x *g*, 15 min) y se descartaron los sobrenadantes. Finalmente, los precipitados se disolvieron en 1 mL de agua destilada mili-Q y se congelaron las muestras a -20  $^{\circ}\text{C}$  para

liofilizarlas (Christ Alpha 1-4 Martin Christ, Osterode am Harz, Alemania). Las muestras liofilizadas, se resuspendieron en 1 mL de formiato de amonio 50 mM, se filtraron con filtro de 0,22  $\mu\text{m}$  de acetato de celulosa (Millipore GSE) y se inyectaron 100  $\mu\text{m}$  de muestra. Los análisis se llevaron a cabo en equipo HPLC Agilent 1200 Series system (Agilent Technologies) con detector de índice de refracción.

### **Análisis sensorial**

Todos los análisis sensoriales se llevaron a cabo en la sala de cata de la Facultat d'enologia en Tarragona (Universitat Rovira i Virgili), que fue diseñada según la UNE-EN ISO 8589:2010 (AENOR, 2010). Todos los vinos se cataron por un grupo de 10 catadores enólogos de la Universitat Rovira i Virgili. Se llevaron a cabo tres catas, una para cada extracto utilizado en la suplementación (Opti Red<sup>®</sup>, OptiMum Red<sup>®</sup> y extracto de piel de uva). Los catadores debían puntuar la intensidad de la astringencia, amargor, cuerpo y estructura de las diferentes muestras, que se sirvieron de forma anónima exceptuando la copa control.

### **Análisis estadístico**

El análisis estadístico se llevó a cabo mediante un test ANOVA de un factor mediante el programa IBM SPSS Statistics 22 y un análisis de componentes principales mediante el programa XLSTAT.



## 2. Resultados y discusión

### 1. Parámetros estándar

En la Tabla 2, se muestran los valores del contenido en alcohol, pH y acidez de los diferentes vinos. En ningún caso se han detectado diferencias significativas, por lo que se descartan variaciones en otros parámetros debidos al contenido de alcohol, acidez y pH. Consecuentemente, la muestra de uvas de Cabernet Sauvignon escogida para realizar las microvinificaciones resultó suficientemente homogénea para realizar las suplementaciones y poder comparar los resultados.

Tabla 2. Influencia de la suplementación de vino tinto con extractos de levadura seca inactivada en parámetros generales.				
Parámetro	Control	Opti Red® (OR)	OptiMum Red® (OM)	Extracto piel (EP)
Grado alcohólico (% v/v)	13,20 ± 0,10 a	13,37 ± 0,21 a	13,40 ± 0,10 a	13,40 ± 0,35 a
pH	3,81 ± 0,08 a	3,75 ± 0,01 a	3,79 ± 0,06 a	3,80 ± 0,03 a
Acidez (g/L ácido tartárico)	5,03 ± 0,10 a	5,38 ± 0,10 a	5,33 ± 0,10 a	5,30 ± 0,11 a
	Protan Pepin® (TS)	OR + TS	OM + TS	EP + TS
Grado alcohólico (% v/v)	13,30 ± 0,10 a	13,30 ± 0,10 a	13,43 ± 0,15 a	13,47 ± 0,12 a
pH	3,77 ± 0,01 a	3,75 ± 0,01 a	3,77 ± 0,04 a	3,74 ± 0,02 a
Acidez (g/L ácido tartárico)	5,15 ± 0,11 a	5,45 ± 0,09 a	5,30 ± 0,11 a	5,33 ± 0,07 a

*Todos los datos se muestran como media ± DS de tres replicados.*  
a, b, Indican diferencias estadísticas significativas ( $P < 0,05$ ) entre el control y cada uno de los extractos.

### 2. Efectos en parámetros del color

En la Tabla 3, se muestran los efectos que ha tenido la suplementación en las diferentes microvinificaciones sobre el color. En las microvinificaciones suplementadas con extractos de levadura seca inactivada y con el extracto de polisacárido de piel, no se observaron diferencias significativas en la intensidad colorante ni en las coordenadas de color Cielab respecto el control.

Tampoco se observaron diferencias en la intensidad colorante y las coordenadas Cielab respecto al control en todas las muestras en las que se añadió tanino de semilla. Podemos decir que las suplementaciones no han provocado un aumento del color.

Tabla 3. Influencia de la suplementación de vino tinto con extractos de levadura seca inactivada en el color.

Parámetros	Control	Opti Red® (OR)	OptiMum Red® (OM)	Extracto piel (EP)
<b>IC</b>	14,02 ± 0,09 a	14,56 ± 0,09 a	14,00 ± 0,94 a	14,77 ± 0,83 a
<b>Cielab</b>				
<b>L*</b>	41,07 ± 0,06 a	41,23 ± 0,74 a	41,83 ± 1,36 a	41,13 ± 0,76 a
<b>C*</b>	51,57 ± 0,36 a	51,18 ± 1,11 a	51,27 ± 0,83 a	51,23 ± 1,37 a
<b>h*</b>	11,05 ± 0,65 a	12,01 ± 0,45 a	11,07 ± 0,65 a	11,89 ± 0,53 a
<b>a*</b>	50,61 ± 0,27 a	50,06 ± 1,01 a	50,31 ± 0,77 a	50,13 ± 1,25 a
<b>b*</b>	9,88 ± 0,64 a	10,65 ± 0,62 a	9,84 ± 0,66 a	10,57 ± 0,75 a
Parámetros	Protan Pepin® (TS)	OR + TS	OM + TS	EP + TS
<b>IC</b>	13,89 ± 0,46 a	14,24 ± 0,22 a	14,28 ± 0,48 a	14,58 ± 0,79 a
<b>Cielab</b>				
<b>L*</b>	41,40 ± 2,05 a	40,83 ± 0,84 a	41,23 ± 2,06 a	40,40 ± 0,86 a
<b>C*</b>	51,17 ± 1,01 a	51,82 ± 1,37 a	51,38 ± 0,98 a	51,86 ± 0,86 a
<b>h*</b>	11,96 ± 1,11 a	12,24 ± 0,45 a	11,52 ± 1,41 a	12,49 ± 0,66 a
<b>a*</b>	50,06 ± 0,79 a	50,64 ± 1,26 a	50,34 ± 0,80 a	50,64 ± 0,73 a
<b>b*</b>	10,61 ± 1,18 a	10,99 ± 0,70 a	10,27 ± 1,40 a	11,22 ± 0,75 a

*Todos los datos se muestran como media ± DS de tres replicados.*  
 IC, intensidad colorante; L\*, claridad; C\*, croma; h\*, tono; a\*, verde-rojo; b\*, azul-amarillo.  
 a, b, Indican diferencias estadísticas significativas (P<0,05) entre el control y cada una de las suplementaciones.

### 3. Efectos en la concentración de antocianos y compuestos fenólicos

La Tabla 4 muestra la concentración de antocianos determinada por espectrofotometría y por HPLC. También muestra el índice de PVPP, el índice de ionización, el índice de copigmentación y el IPT.

La concentración en antocianos fue significativamente igual en todas las muestras, lo cual nos confirma la homogeneidad de la muestra y, por tanto, que las posibles modificaciones en el color fueron debidas a diferentes concentraciones de estos y no a la suplementación con los diferentes extractos. Se observa que el valor absoluto de la concentración de antocianos determinada por HPLC ( $200,5 \pm 27,1$  mg/L; media entre todas las muestras) es más baja respecto la concentración obtenida por espectrofotometría ( $402,6 \pm 39,0$  mg/L; media entre todas las muestras). Este hecho se debe a que en la determinación por HPLC solamente se detectan los antocianos que están en forma libre en el vino.

Efecto de la suplementación con levaduras secas inactivadas y polisacáridos de piel de uva sobre la composición química y astringencia en vino Cabernet Sauvignon

Tabla 4. Influencia de la suplementación de vino tinto con extractos de levadura seca inactivada en la composición de compuestos fenólicos.

Parámetros	Control	Opti Red® (OR)	OptiMum Red® (OM)	Extracto piel (EP)
Antocianos espectro (mg/L)	390,3 ± 21,5 a	397,3 ± 21,0 a	430,5 ± 32,4 a	390,0 ± 36,2 a
Antocianos HPLC (mg/L)	190,8 ± 13,3 a	194,4 ± 20,1 a	193,2 ± 5,7 a	211,2 ± 45,5 a
Índice PVPP	41,2 ± 0,5 a	45,4 ± 0,4 b	46,7 ± 3,4 b	47,9 ± 2,5 b
Índice copigmentación	13,9 ± 2,8 a	12,8 ± 2,4 a	15,2 ± 2,6 a	11,9 ± 0,1 a
Índice ionización	31,1 ± 2,6 a	34,4 ± 1,6 a	32,6 ± 1,3 a	37,2 ± 2,1 a
IPT	61,2 ± 1,1 a	63,6 ± 2,7 a	61,7 ± 4,5 a	62,2 ± 1,8 a
	<b>Protan Pepin® (TS)</b>	<b>OR + TS</b>	<b>OM + TS</b>	<b>EP + TS</b>
Antocianos espectro (mg/L)	396,7 ± 71,1 a	404,3 ± 41,9 a	407,5 ± 69,2 a	404,5 ± 18,6 a
Antocianos HPLC (mg/L)	200,7 ± 54,2 a	214,9 ± 27,1 a	217,9 ± 30,2 a	180,7 ± 21,0 a
Índice PVPP	49,6 ± 1,2 b	47,7 ± 3,8 b	43,8 ± 3,5 a	45,9 ± 2,3 b
Índice copigmentación	17,8 ± 2,2 a	11,0 ± 3,4 a	17,9 ± 2,9 a	11,4 ± 1,7 a
Índice ionización	34,9 ± 3,2 a	36,3 ± 4,9 a	32,4 ± 0,7 a	32,6 ± 3,0 a
IPT	65,8 ± 4,0 a	62,4 ± 2,9 a	62,6 ± 1,9 a	63,6 ± 2,9 a

*Todos los datos se muestran como media ± DS de tres replicados*  
 PVPP, índice de polivinil-pirrolidona; IPT, índice de polifenoles totales.  
 a, b, Indican diferencias estadísticas significativas ( $P < 0,05$ ) entre el control y cada uno de los extractos.

Se observó un ligero aumento significativo en el índice de PVPP en las microvinificaciones suplementadas con levaduras secas inactivadas y extracto de piel. También se observó un aumento significativo respecto al control en las muestras suplementadas con tanino de semilla. Este aumento en el índice de PVPP, puede ser debido a la combinación entre los polisacáridos liberados por los extractos de levaduras y por los polisacáridos que están presentes en el extracto de piel. Del mismo modo, en el caso de la suplementación con Protan Pepin®, este aumento puede ser debido a la combinación entre los antocianos y los taninos que están presentes en el extracto comercial (Heras-Roger, Díaz-Romero and Darias-Martín, 2016).

Se ha descrito que un aumento de los antocianos combinados puede producir un aumento de la intensidad colorante, pero tal y como hemos visto anteriormente no se observan diferencias significativas en el color (Heras-Roger, Díaz-Romero and Darias-Martín, 2016). El aumento en el índice de PVPP y por tanto de los antocianos combinados, probablemente nos proporcionará una mejor estabilización del color, ya que los antocianos estarán menos expuestos a la oxidación. Sin embargo en todos los casos no se observaron diferencias significativas en el IPT, índice de ionización e índice de copigmentación.

#### 4. Efectos en la concentración de taninos y proantocianidinas

Los extractos Opti Red® y OptiMum Red®, no han producido un aumento significativo en la concentración de taninos determinada por precipitación con metilcelulosa respecto al control, a diferencia de las suplementaciones con extracto de piel (Figura 5a). El aumento de concentración de taninos en la muestra suplementada con extracto de piel, puede ser debido a que se hayan extraído taninos de las pieles en la producción del extracto.

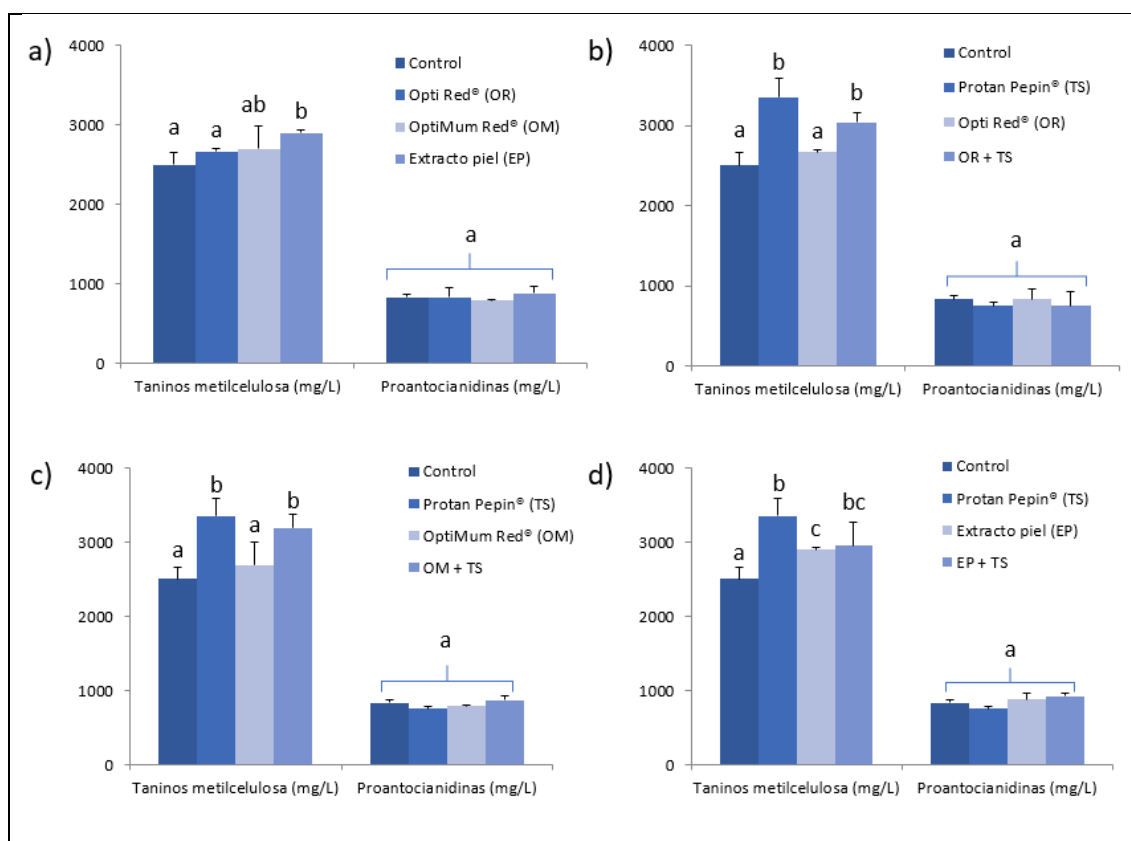


Figura 5. Influencia de la suplementación de vino tinto con extractos de levadura seca inactivada en la composición de proantocianidinas.

Todos los datos se muestran como media  $\pm$  DS de tres replicados.

a, b, Indican diferencias estadísticamente significativas ( $P < 0,05$ ) entre suplementaciones. a) Comparación entre control y suplementaciones con extractos de levadura seca inactivada y extracto de piel. b) Comparación entre suplementaciones con Opti Red®. c) Comparación entre suplementaciones con OptiMum Red®. d) Comparación entre suplementaciones con extracto de piel.

Por otro lado, se puede observar que la suplementación con Protan Pepin® también ha producido un aumento en la concentración de tanino respecto al control, de  $853 \pm 82$  mg/L. Este resultado es esperado ya que se trata de un extracto comercial formulado a base de tanino de semilla. Las muestras suplementadas con Opti Red®, OptiMum Red®

Efecto de la suplementación con levaduras secas inactivadas y polisacáridos de piel de uva sobre la composición química y astringencia en vino Cabernet Sauvignon

o extracto de piel junto con Protan Pepin®, mostraron una concentración de tanino significativamente mayor que las muestras sin Protan Pepin®, lo cual nos confirma el aporte de taninos del extracto de tanino de semilla. Sin embargo, este aumento no fue significativo en la suplementación con el extracto de piel (Figura 5d).

Por otro lado, en ninguno de los casos se observaron incrementos de proantocianidinas determinados por floroglucinolisis. Esto puede ser debido al bajo rendimiento de la reacción con el floroglucinol. Sin embargo, este método es idóneo para estudiar la estructura de estas (mDP, %PD y %Gal).

En la Figura 6, se detallan parámetros sobre la estructura de las proantocianidinas (mDP, %PD y %Gal). En las muestras suplementadas con Opti Red®, OptiMum Red® y extracto de piel, el mDP de las proantocianidinas aumentó significativamente respecto al control, resultando igual entre ellas. Por otro lado, las muestras suplementadas con OptiMum

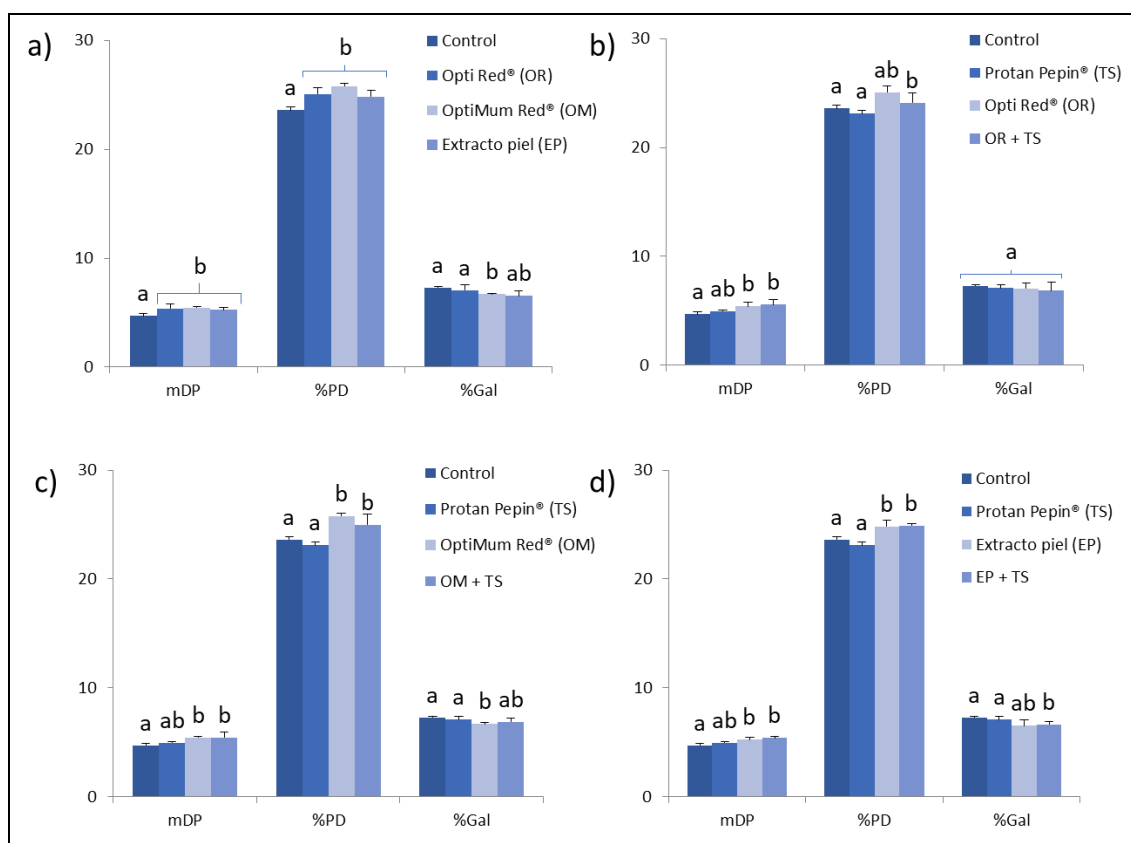


Figura 6. Influencia de la suplementación de vino tinto con extractos de levadura seca inactivada en el mDP, %PD y %Gal.

Todos los datos se muestran como media  $\pm$  DS de tres replicados.

mDP, grado de polimerización medio; %PD, porcentaje de prodelphinidinas; %Gal, porcentaje de galoilación.

a, b, Indican diferencias estadísticamente significativas ( $P < 0,05$ ) entre suplementaciones. a) Comparación entre control y suplementaciones con extractos de levadura seca inactivada y extracto de piel. b) Comparación entre suplementaciones con Opti Red®. c) Comparación entre suplementaciones con OptiMum Red®. d) Comparación entre suplementaciones con extracto de piel.

Red® y extracto de piel mostraron una disminución del porcentaje de galoilación. Además, los tres extractos ricos en polisacáridos han producido un aumento del %PD respecto al control.

Este aumento en el mDP, puede ser debido a que los polisacáridos aportados por Opti Red®, OptiMum Red® y extracto de piel se unan con los taninos menos polimerizados del vino.

Sin embargo, otros autores habrían observado el efecto contrario en soluciones modelo de vino, donde el mDP disminuía (González-Royo *et al.*, 2017). Por otro lado, la suplementación con tanino no produjo cambios significativos en el mDP respecto al control. Se observó el mismo efecto en las muestras suplementadas con Opti Red®, OptiMum Red® y extracto de piel junto con tanino de semilla, respecto sus correspondientes muestras sin tanino de semilla.

La disminución del porcentaje de galoilación no se observó en todas las muestras con presencia de Protan Pepin®. Esta disminución en el %Gal, puede ser debida a la capacidad de estos extractos de unirse con unidades más galoiladas de las proantocianidinas, provenientes de taninos de semilla de uva.

Estos resultados nos sugieren que los polisacáridos provenientes de Opti Red®, OptiMum Red® y extracto de piel; podrían ser selectivos ligándose mediante interacciones no covalentes con los taninos de piel que provienen de la propia uva y dejando libres los provenientes de la semilla de la propia uva. Esto lo podemos observar con el aumento del mDP, del porcentaje de prodelfinidinas y la bajada del porcentaje de galoilación, ya que como se ha descrito anteriormente los taninos de piel contienen prodelfinidinas, taninos muy polimerizados y poco galoilados.

## **5. Efectos en la concentración de polisacáridos**

Los resultados muestran una clara tendencia de aumento de polisacáridos respecto al control en todas las muestras suplementadas solamente con los extractos Opti Red®, OptiMum Red® y extracto de piel, siendo no significativo estadísticamente para Opti Red®. Esto nos confirma que los tres extractos son fuentes de polisacáridos para poder

Efecto de la suplementación con levaduras secas inactivadas y polisacáridos de piel de uva sobre la composición química y astringencia en vino Cabernet Sauvignon

ser empleados en vinificación.

Tal y como se puede observar en la Figura 7, parece ser que este aumento es debido al aumento en la concentración de polisacáridos de las fracciones 2 y 3 (40 – 144 kDa y 6 – 40 kDa respectivamente). El extracto que más polisacáridos ha aportado ha sido el extracto de piel, seguido de OptiMum Red® y de Opti Red®. Se ha observado que la muestra suplementada con Protan Pepin®, no aumentó significativamente la concentración en polisacáridos respecto el control, lo cual nos confirma que el extracto comercial no contenía polisacáridos. La presencia de Protan Pepin® junto con los otros extractos (Opti Red®, OptiMum Red® y extracto de piel), tampoco ha producido un aumento significativo en polisacáridos respecto las vinificaciones con solamente Opti Red® y OptiMum Red®, lo cual nos confirma también la no presencia de polisacáridos en

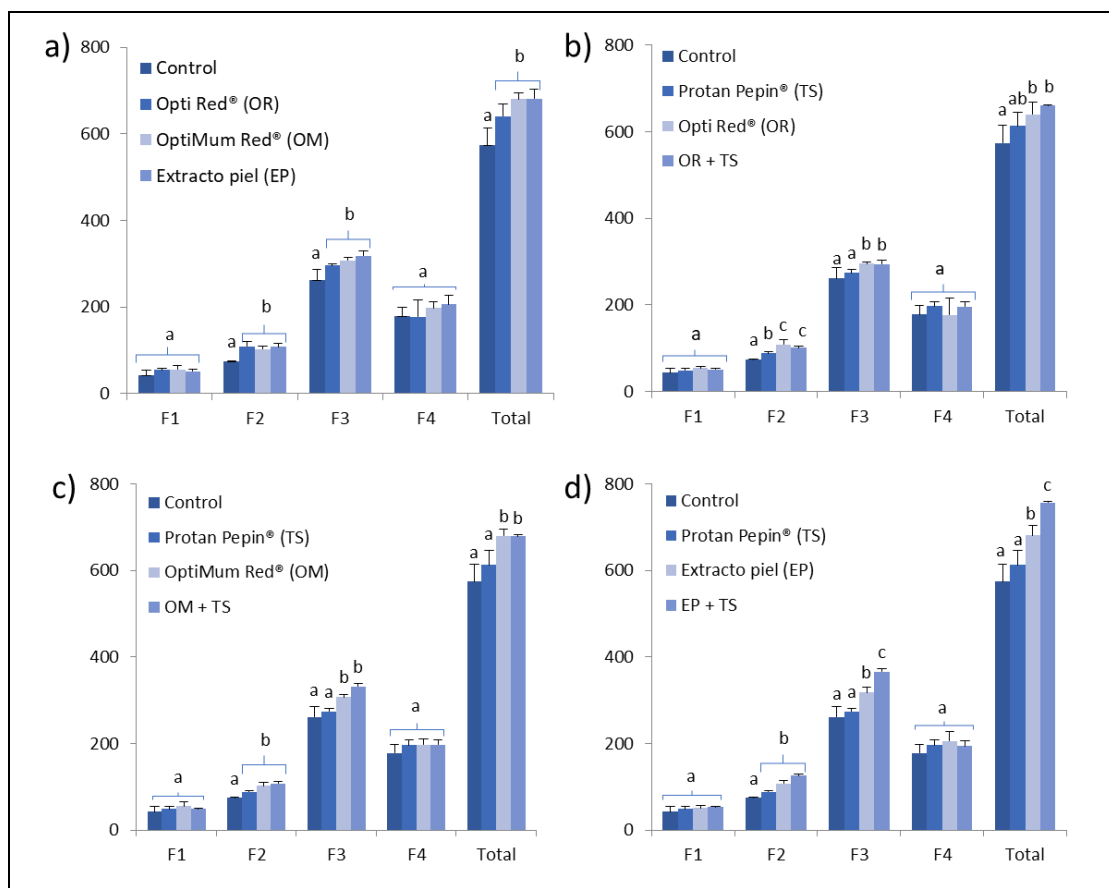


Figura 7. Influencia de la suplementación de vino tinto con extractos de levadura seca inactivada en la composición de polisacáridos.

Todos los datos se muestran como media  $\pm$  DS de tres replicados.

F1, 144 – 100 kDa; F2, 40 – 144 kDa; F3, 6 – 40 kDa; F4, 1 – 5 kDa.

a, b, Indican diferencias estadísticamente significativas ( $P < 0,05$ ) entre suplementaciones. a) Comparación entre control y suplementaciones con extractos de levadura seca inactivada y extracto de piel. b) Comparación entre suplementaciones con Opti Red®. c) Comparación entre suplementaciones con OptiMum Red®. d) Comparación entre suplementaciones con extracto de piel.

Protan Pepin®. Sin embargo, cuando Protan Pepin® es añadido junto extracto de piel se ve un aumento en polisacáridos respecto la vinificación de extracto de piel, que podría ser debido a que los taninos provenientes de extracto de piel estén ligados a los polisacáridos de este y esto influya en la respuesta en el HPLC.

## 6. Astringencia

El índice de astringencia determinado por el método de precipitación con ovoalbúmina (Llaudy *et al.*, 2004) de las muestras suplementadas solamente con extractos Opti Red®, OptiMum Red® y extracto de piel, se ha reducido significativamente respecto al control (Figura 8). Esto podría ser debido a la bajada del porcentaje de galoilación y el aumento de prodelfinidinas observada anteriormente ya que se ha descrito que la astringencia está correlacionada con estos dos parámetros.

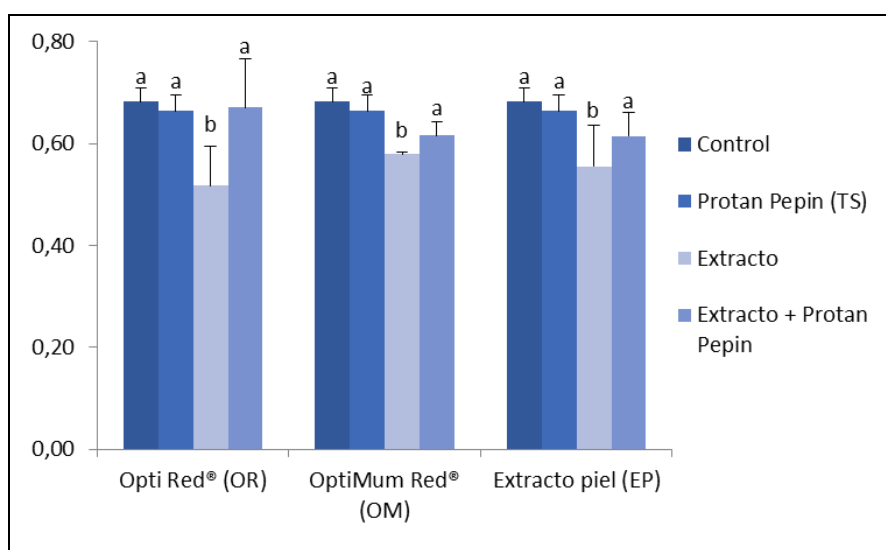


Figura 8. Influencia de la suplementación de vino tinto con extractos de levadura seca inactivada en el índice de astringencia.

*Todos los datos se muestran como media ± DS de tres replicados.*

a, b, Indican diferencias estadísticamente significativas ( $P < 0,05$ ) entre suplementaciones.

La adición de Protan Pepin®, no ha aumentado el índice de astringencia respecto al control. Sin embargo, la presencia de Protan Pepin® junto con los extractos (Opti Red®, OptiMum Red® y extracto de piel) hizo subir significativamente el índice de astringencia respecto a los extractos solos. Se puede concluir que la presencia de extractos ricos en polisacáridos como Opti Red®, OptiMum Red® y extracto de piel produce una bajada de la astringencia, pero que la presencia de tanino de semilla evita esta bajada, por lo que



Efecto de la suplementación con levaduras secas inactivadas y polisacáridos de piel de uva sobre la composición química y astringencia en vino Cabernet Sauvignon se mantienen los mismos niveles de astringencia del control. Esto puede ser debido a lo visto anteriormente: el tanino de semilla no nos produce una bajada en el porcentaje del %Gal ni aumento del %PD. A parte de que este extracto de tanino de semilla nos aporta tanino al vino, lo cual es astringente.

## 7. Análisis sensorial

En la primera cata con el extracto de levadura seca inactivada Opti Red®, la copa escogida por los catadores fue la suplementada con Opti Red®+Protan Pepin® (Figura 9). Esta redujo el amargor por debajo de la copa con Opti Red® y con Protan Pepin®. Tuvo el mayor resultado de astringencia, el mismo que la copa con Protan Pepin®, pero mostró los mayores niveles de untuosidad y estructura.

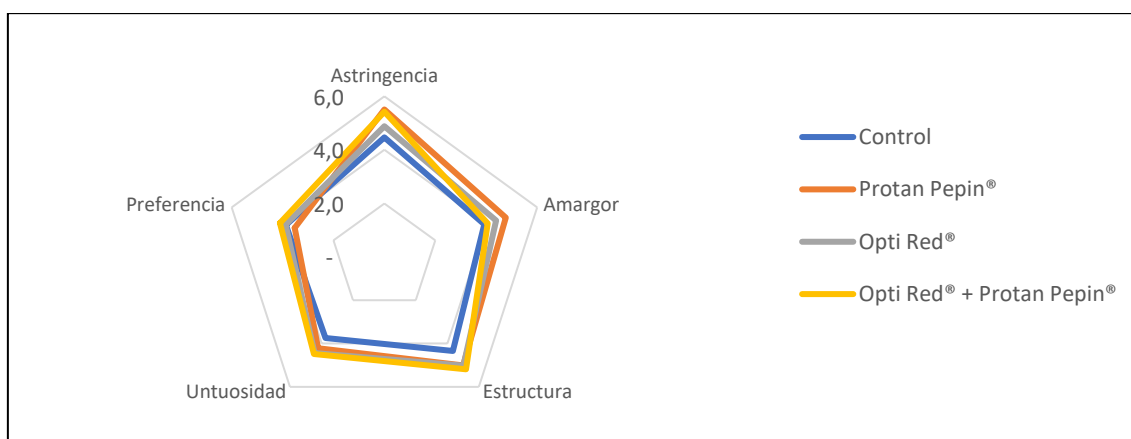


Figura 9. Resultados de la cata con la suplementación con Opti Red® y Protan Pepin®.

En la segunda cata con el extracto OptiMum Red®, la preferencia también fue para la copa con suplementación con OptiMum Red®+Protan Pepin® (Figura 10). Presenta ligeramente mayor astringencia y sabor amargo que el control, pero aumenta en estructura y untuosidad. La copa con OptiMum Red® presenta el mismo valor de astringencia que la copa con adición de Protan Pepin®, pero en amargor está por debajo del control. De todos modos, la copa con OptiMum Red® ha sido preferida menos que la copa con ambos extractos, OptiMum Red® y Protan Pepin®.

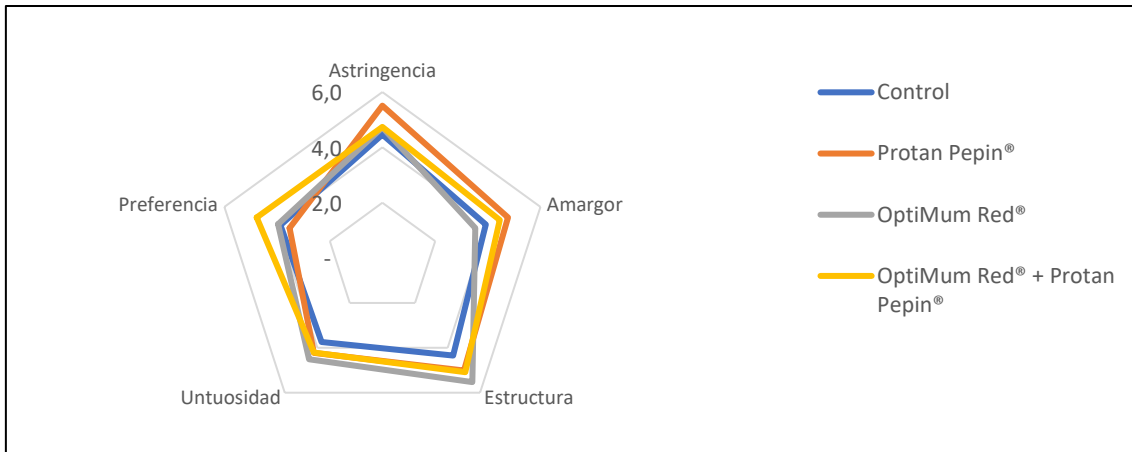


Figura 10. Resultados de la cata con la suplementación con OptiMum Red® y Protan Pepin®.

En la tercera cata con el extracto de piel, se ha preferido la copa con suplementación de extracto de piel+Protan Pepin® (Figura 11). Esta presenta la misma astringencia que la copa con extracto de piel solamente y ha sido superior al control; pero en amargor, la copa con extracto de piel junto con Protan Pepin® ha resultado menos amarga que con extracto de piel solamente. El extracto de piel supera en estructura y untuosidad a la copa con extracto de piel+Protan Pepin®, pero igualmente ha sido preferida por los catadores.

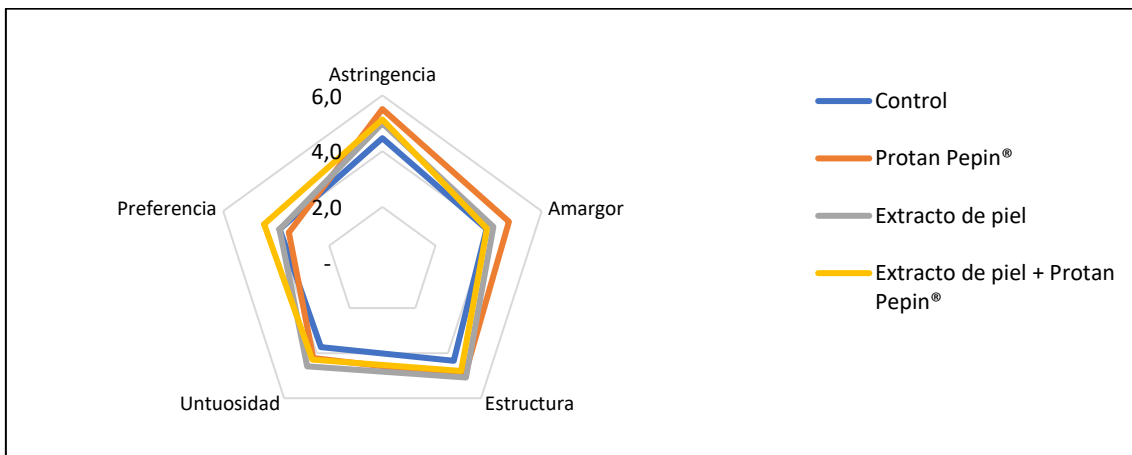


Figura 11. Resultados de la cata con la suplementación con extracto de piel y Protan Pepin®.

En las tres catas llevadas a cabo, se ha visto como la suplementación con Opti Red®, OptiMum Red® y extracto de piel han proporcionado más untuosidad y cuerpo al vino respecto al control en todos los casos. También han contribuido a la reducción del sabor amargo y de la astringencia. Aunque haya habido extractos sin adición de Protan Pepin®

Efecto de la suplementación con levaduras secas inactivadas y polisacáridos de piel de uva sobre la composición química y astringencia en vino Cabernet Sauvignon que se han puntuado con mayor cuerpo y untuosidad que junto con Protan Pepin®, en todos los casos se ha preferido la suplementación con ambos extractos.

## 8. Análisis de componentes principales

Tal y como se puede apreciar en la Figura 12, el análisis de componentes principales llevado a cabo revela que la astringencia está correlacionada positivamente con el %Gal y negativamente con el %PD. También está correlacionada positivamente con la concentración de taninos.

Se puede observar que las muestras con Opti Red®, OptiMum Red® y extracto de piel aportan polisacáridos y nos reducen la astringencia, el %Gal y el %PD, así que también nos aumentan el mDP.

La presencia de tanino de semilla nos aumenta la concentración de tanino y se puntúa similar al control en astringencia. Las muestras con la combinación de tanino de semilla y extractos ricos en polisacáridos resultan más astringentes que las muestras con extractos de polisacáridos sin tanino de semilla, que puede ser debido al aporte de taninos, o la no bajada del porcentaje de galoilación producida por la presencia del tanino de semilla.

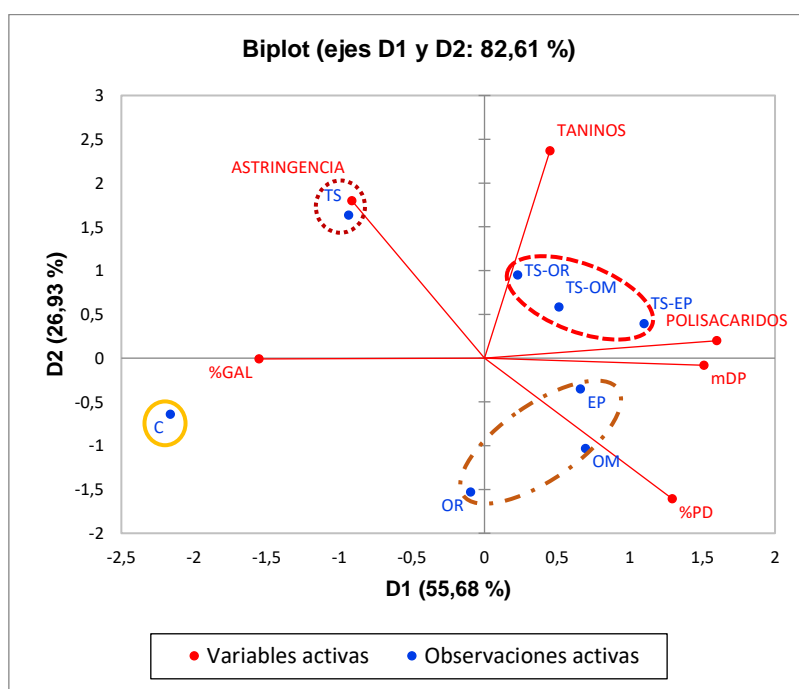


Figura 12. Análisis de componentes principales.

### 3. Conclusiones

Una vez comentados todos los resultados obtenidos anteriormente, pueden concluirse los siguientes puntos:

- La suplementación con Opti Red®, OptiMum Red® y el extracto de piel, modifica la composición de vino Cabernet Sauvignon por la liberación de polisacáridos. La suplementación de los extractos junto con Protan Pepin® no ha aportado un aumento significativo en la composición de polisacáridos respecto cuando se ha suplementado con los dos extractos juntos, por lo que se confirma que Protan Pepin® no contiene polisacáridos en su composición.
- Aunque no se ha apreciado un aumento en la intensidad colorante, sí que se ha observado un incremento en el índice de PVPP cuando se ha suplementado con todos los extractos. Todo y no observarse un aumento en el color del vino esto nos sugiere que sí podrían ayudar a estabilizarlo.
- La suplementación con Opti Red®, OptiMum Red® y el extracto de piel, han reducido significativamente los niveles de astringencia determinado analíticamente por el aporte de polisacáridos. También se observó un aumento en el grado medio de polimerización y del porcentaje de prodelphinidinas, junto con una bajada del porcentaje de galoilación. Estos resultados sugieren que los polisacáridos provenientes de Opti Red®, OptiMum Red® y el extracto de piel podrían ser selectivos, ligándose mediante interacciones no covalentes con los taninos de piel provenientes de la uva y dejando libres los taninos de semilla.
- La concentración total de taninos ha aumentado significativamente con la adición de Protan Pepin®.
- En el análisis sensorial, la adición de Opti Red®, OptiMum Red® y extracto de piel junto con Protan Pepin® ha sido la preferida para los catadores. Los extractos no han reducido la sensación de astringencia puntuada sensorialmente, ni el amargor respecto al vino control, pero sí respecto al tanino de semilla del extracto de Protan Pepin®. Los catadores han puntuado con mayor cuerpo y untuosidad los vinos suplementados con los extractos de polisacáridos y tanino de semilla.

#### 4. Autoevaluación

Esta asignatura representa la máxima expresión de cuatro años de trabajo como biotecnólogo. Temida desde los primeros cursos por lo que comentan conocidos que han entregado un Trabajo de fin de grado, es un orgullo poder terminarlo finalmente. En mi caso, esperaba la realización de un trabajo bibliográfico puesto que no sabía exactamente en qué disciplina práctica de la biotecnología enfrascarme, pero finalmente tuve la oportunidad de realizar un trabajo práctico, aprovechando los resultados generados durante mi estancia de prácticas en el grupo TECNENOL de la Universitat Rovira i Virgili.

El desarrollo de la asignatura ha sido el correcto, con la correspondiente atención del coordinador académico, Ricardo Cordero, y por parte de mi tutor académico, Fernando Zamora. A pesar de los congresos, comunicaciones y otros quehaceres, siempre han tenido un momento para comentar, revisar y aconsejarme en la redacción del trabajo. No puedo comentar lo mismo del resto de profesorado del grado, del que he podido percibir menor implicación con el alumnado en esta etapa final de la carrera. Habiendo estado en la Universidad de León y visto un extenso listado de propuestas de colaboración en departamentos y de temáticas para un Trabajo de fin de grado, por parte del profesorado; que ningún profesor aquí en la URV haya propuesto un tema me hizo percibir esa menor implicación.

De todos modos, he podido impregnarme del ambiente de trabajo en un buen grupo de investigación, de crecer profesionalmente y poder aportar un granito de arena a las investigaciones que se están realizando en la universidad que me ha visto crecer.

## 5. Referencias

- AENOR (no date) 'AENOR: Norma UNE-EN ISO 8589:2010/A1:2014', <http://www.aenor.es/>. AENOR, 2010. Available at: <http://www.aenor.es/aenor/normas/normas/fichanorma.asp?tipo=N&codigo=N0053610#.Wxq8rkiFPtQ> (Accessed: 8 June 2018).
- Aguilar Uscanga, B. and François, J. (2003) 'A study of the yeast cell wall composition and structure in response to growth conditions and mode of cultivation.', *Letters in applied microbiology*, 37(3), pp. 268–74. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12904232> (Accessed: 31 May 2018).
- Alaya, F. (2012) *Departamento de Química. Universidad de La Rioja*. Available at: <http://www.unirioja.es/color/descargas.shtml> (Accessed: 5 June 2018).
- Angeles Pozo-Bayo, M. *et al.* (2009) 'Characterization of Commercial Inactive Dry Yeast Preparations for Enological Use Based on Their Ability To Release Soluble Compounds and Their Behavior toward Aroma Compounds in Model Wines', *J. Agric. Food Chem*, 57, pp. 10784–10792. doi: 10.1021/jf900904x.
- Ayala, F., Echávarri, J. F. and Negueruela, a I. (1997) 'A New Simplified Method for Measuring the Color of Wines. I. Red and Rosé Wines', *American Journal of Enology and Viticulture*, 48(3), pp. 357–363. Available at: <http://www.ajevonline.org/content/48/3/357.abstract>.
- Ayestarán, B., Guadalupe, Z. and León, D. (2004) 'Quantification of major grape polysaccharides (Tempranillo v.) released by maceration enzymes during the fermentation process', *Analytica Chimica Acta*, 513(1), pp. 29–39. doi: 10.1016/j.aca.2003.12.012.
- Berké, B. and de Freitas, V. A. P. (2005) 'Influence of procyanidin structures on their ability to complex with oenin', *Food Chemistry*. Elsevier, 90(3), pp. 453–460. doi: 10.1016/J.FOODCHEM.2004.05.009.
- Caridi, A. (2002) 'Protective agents used to reverse the metabolic changes induced in wine yeasts by concomitant osmotic and thermal stress.', *Letters in applied microbiology*, 35(2), pp. 98–101. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12100581> (Accessed: 31 May 2018).
- Cerpa-Calderón, F. K. and Kennedy, J. A. (2008) 'Berry Integrity and Extraction of Skin and Seed Proanthocyanidins during Red Wine Fermentation', *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. American Chemical Society, 56(19), pp. 9006–9014. doi: 10.1021/jf801384v.
- Doco, T. *et al.* (1999) 'Polysaccharide Patterns During the Aging of Carignan noir Red Wines', *American Journal of Enology and Viticulture*, 50(1), pp. 25–32. Available at: <http://www.ajevonline.org.sabidi.urv.cat/content/ajev/50/1/25.full.pdf> (Accessed: 31 May 2018).
- Gil, M. *et al.* (2012) 'Influence of Grape maturity and maceration length on color, polyphenolic composition, and polysaccharide content of Cabernet Sauvignon and Tempranillo Wines', *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(32), pp. 7988–8001. doi: 10.1021/jf302064n.
- González-Royo, E. *et al.* (2017) 'The effect of supplementation with three commercial inactive dry yeasts on the colour, phenolic compounds, polysaccharides and astringency of a model wine solution and red wine', *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(1), pp. 172–181. doi: 10.1002/jsfa.7706.
- González Royo, E. (2015) *Aplicación de nuevas herramientas biotecnológicas para compensar los efectos negativos del cambio climático sobre vinos espumosos (Cava) y vinos tintos*.

Available at: <http://www.tdx.cat/handle/10803/296437>.

Hagerman, A. E. and Robbins, C. T. (1987) 'Implications of soluble tannin-protein complexes for tannin analysis and plant defense mechanisms', *Journal of Chemical Ecology*. Kluwer Academic Publishers-Plenum Publishers, 13(5), pp. 1243–1259. doi: 10.1007/BF01020552.

He, F. *et al.* (2012) 'Anthocyanins and their variation in red wines I. Monomeric anthocyanins and their color expression', *Molecules*. Molecular Diversity Preservation International, 17(2), pp. 1571–1601. doi: 10.3390/molecules17021571.

He, F., Liang, N. N. and Mu, L. (2012) 'Anthocyanins and Their Variation in Red Wines II. Anthocyanin Derived Pigments and Their Color Evolution', *Molecules*. Molecular Diversity Preservation International, 17(2), pp. 1483–1519. doi: 10.3390/molecules17021483.

Heras-Roger, J., Díaz-Romero, C. and Darias-Martín, J. (2016) 'What Gives a Wine Its Strong Red Color? Main Correlations Affecting Copigmentation', *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64, pp. 6567–6574. doi: 10.1021/acs.jafc.6b02221.

Kennedy, J. A. and Jones, G. P. (2001) 'Analysis of proanthocyanidin cleavage products following acid-catalysis in the presence of excess phloroglucinol', *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(4), pp. 1740–1746. doi: 10.1021/jf001030o.

Klis, F. M., Boorsma, A. and De Groot, P. W. J. (2006) 'Cell wall construction in *Saccharomyces cerevisiae*', *Yeast*. Wiley-Blackwell, 23(3), pp. 185–202. doi: 10.1002/yea.1349.

Lambert, S. G. *et al.* (2011) 'Copigmentation between malvidin-3-glucoside and some wine constituents and its importance to colour expression in red wine', *Food Chemistry*, 125, pp. 106–115. doi: 10.1016/j.foodchem.2010.08.045.

Llaudy, M. C. *et al.* (2004) 'New Method for Evaluating Astringency in Red Wine', *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(4), pp. 742–746. doi: 10.1021/jf034795f.

Matsubara, S. and Rodriguez-Amaya, D. B. (2006) 'Teores de catequinas e teaflavinas em chás comercializados no Brasil', *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. SBCTA, 26(2), pp. 401–407. doi: 10.1590/S0101-20612006000200024.

Mirabel, M. *et al.* (1999) *American journal of enology and viticulture.*, American Society of Enologists. American Society of Enologists. Available at: <http://www.ajevonline.org.sabidi.urv.cat/content/50/2/211> (Accessed: 24 May 2018).

Palomero, F. *et al.* (2007) 'Conventional and enzyme-assisted autolysis during ageing over lees in red wines: Influence on the release of polysaccharides from yeast cell walls and on wine monomeric anthocyanin content', *Food Chemistry*. Elsevier, 105(2), pp. 838–846. doi: 10.1016/J.FOODCHEM.2007.01.062.

Quijada-Morín, N. *et al.* (2014) 'Polyphenolic, polysaccharide and oligosaccharide composition of Tempranillo red wines and their relationship with the perceived astringency', *Food Chemistry*, 154, pp. 44–51. doi: 10.1016/j.foodchem.2013.12.101.

Ribéreau-Gayon, P. *et al.* (2006) *Handbook of Enology, The Chemistry of Wine: Stabilization and Treatments: Second Edition, Handbook of Enology, The Chemistry of Wine: Stabilization and Treatments: Second Edition*. doi: 10.1002/0470010398.

Riou, V. *et al.* (2002) 'Aggregation of grape seed tannins in model wine—effect of wine polysaccharides', *Food Hydrocolloids*. Elsevier, 16(1), pp. 17–23. doi: 10.1016/S0268-005X(01)00034-0.

Souquet, J.-M. *et al.* (1996) 'Polymeric proanthocyanidins from grape skins', *Phytochemistry*,

43(2), pp. 509–512. doi: 10.1016/0031-9422(96)00301-9.

Uscanga, A., Pacheco, S. and François, J. (2005) 'ESTUDIO DE LA VARIACIÓN DE LA COMPOSICIÓN DE LOS POLISACÁRIDOS CONTENIDOS EN LA PARED CELULAR DE LA LEVADURA SACCHAROMYCES CEREVISIAE VARIATION STUDY OF THE COMPOSITION OF THE POLYSACCHARIDES CONTAINED IN THE CELLULAR WALL OF THE YEAST SACCHAROMYCES CEREVISIAE', 3. Available at: [www.e-gnosis.udg.mx/vol3/art12](http://www.e-gnosis.udg.mx/vol3/art12) (Accessed: 1 June 2018).

Valdivieso, M.-H. *et al.* (2000) 'Chitin Synthesis in a gas1 Mutant of Saccharomyces cerevisiae', *JOURNAL OF BACTERIOLOGY*, 182(17), pp. 4752–4757. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC111350/pdf/jb004752.pdf> (Accessed: 1 June 2018).

Vidal, S., Francis, L., *et al.* (2003) 'The mouth-feel properties of grape and apple proanthocyanidins in a wine-like medium', *Journal of the Science of Food and Agriculture*. Wiley-Blackwell, 83(6), pp. 564–573. doi: 10.1002/jsfa.1394.

Vidal, S., Williams, P., *et al.* (2003) 'The polysaccharides of red wine: total fractionation and characterization', *Carbohydrate Polymers*. Elsevier, 54(4), pp. 439–447. doi: 10.1016/S0144-8617(03)00152-8.

Vivar-Quintana, A. M., Santos-Buelga, C. and Rivas-Gonzalo, J. C. (2002) 'Anthocyanin-derived pigments and colour of red wines', *Analytica Chimica Acta*, 458, pp. 147–155. Available at: [https://ac-els-cdn-com.sabidi.urv.cat/S0003267001016191/1-s2.0-S0003267001016191-main.pdf?\\_tid=0abfc6d6-09da-487f-b77b-0542e3a1fa83&acdnat=1527762609\\_af30e01de88051319031cb65ba6e390d](https://ac-els-cdn-com.sabidi.urv.cat/S0003267001016191/1-s2.0-S0003267001016191-main.pdf?_tid=0abfc6d6-09da-487f-b77b-0542e3a1fa83&acdnat=1527762609_af30e01de88051319031cb65ba6e390d) (Accessed: 31 May 2018).

Zamora, F. (2003) *Elaboración y crianza del vino tinto: Aspectos científicos y prácticos*. 1st edn. Edited by A. Ediciones.



### III. Anexos

#### 1. Material complementario

A continuación, se muestran los datos de las figuras de los resultados, tanto de composición de taninos y polisacáridos como de los datos recogidos en el análisis sensorial.

Tabla 5. Datos referentes a las propiedades de las proantocianidinas, representados en la Figura 5 y la Figura 6.

Parámetros	Control	Opti Red® (OR)	OptiMum Red® (OM)	Extracto piel (EP)
Taninos metilcelulosa (mg/L)	2506,0 ± 158,0 a	2667,0 ± 32,0 a	2701,0 ± 296,0 a	2901,0 ± 31,0 b
Proantocianidinas (mg/L)	834,0 ± 45,3 a	836,0 ± 123,5 a	793,3 ± 16,5 a	882,7 ± 88,8 a
mDP	4,7 ± 0,2 a	5,4 ± 0,4 b	5,5 ± 0,1 b	5,3 ± 0,2 b
%PD	23,6 ± 0,3 a	25,1 ± 0,6 b	25,8 ± 0,26 b	24,8 ± 0,6 b
%Gal	7,3 ± 0,0 a	7,1 ± 0,5 a	6,7 ± 0,1 b	6,5 ± 0,5 b
	Protan Pepin® (TS)	OR + TS	OM + TS	EP + TS
Taninos metilcelulosa (mg/L)	3359,0 ± 240,0 b	3046,0 ± 117,0 β	3194,0 ± 185 α	2960,0 ± 321,0 α
Proantocianidinas (mg/L)	754,5 ± 40,3 a	747,7 ± 175,2 α	875,7 ± 50,0 β	924,3 ± 41,3 α
mDP	5,0 ± 0,1 a	5,6 ± 0,5 α	5,4 ± 0,5 α	5,4 ± 0,1 α
%PD	23,1 ± 0,3 a	24,1 ± 0,9 α	25,0 ± 1,0 α	24,9 ± 0,2 α
%Gal	7,1 ± 0,3 a	6,9 ± 0,8 α	6,9 ± 0,4 α	6,6 ± 0,3 α

Todos los datos se muestran como media ± DS de tres replicados.

mDP, grado de polimerización medio; %PD, porcentaje de prodelfinidinas; %Gal, porcentaje de galoilación.

a, b, Indican diferencias estadísticamente significativas (P < 0,05) entre el control y cada una de las suplementaciones.

α, β, Indican diferencias estadísticamente significativas (P<0,05) de las suplementaciones con extracto rico en polisacáridos (Opti Red®, OptiMum Red® y extracto de piel) junto con Protan Pepin® respecto a cada extracto solo.

Tabla 6. Datos de astringencia, representados en la Figura 8.

	Control	Opti Red® (OR)	OptiMum Red® (OM)	Extracto piel (EP)
Astringencia (g/L ácido tánico)	0,68 ± 0,03 a	0,52 ± 0,08 b	0,58 ± 0,01 b	0,56 ± 0,08 b
	Protan Pepin (TS)	OR + TS	OM + TS	EP + TS
	0,66 ± 0,03 a	0,67 ± 0,10 a	0,62 ± 0,03 a	0,62 ± 0,05 a

Todos los datos se muestran como media ± DS de tres replicados.

a, b, Indican diferencias estadísticamente significativas (P < 0,05) entre el control y cada una de las suplementaciones.

Tabla 7. Datos referentes a la concentración de polisacáridos, representados en la Figura 7.

Parámetros	Control	Opti Red® (OR)	OptiMum Red® (OM)	Extracto piel (EP)
<b>F1 (144 – 100 kDa)</b>	43,18 ± 10,93 a	54,61 ± 3,86 a	55,07 ± 9,71 a	50,75 ± 5,49 a
<b>F2 (40 – 144 kDa)</b>	74,35 ± 1,33 a	108,75 ± 12,04 b	102,57 ± 7,43 b	107,74 ± 7,20 b
<b>F3 (6 – 40 kDa)</b>	261,54 ± 24,65 a	295,58 ± 4,26 b	307,47 ± 5,93 b	318,22 ± 11,72 b
<b>F4 (1 – 5 kDa)</b>	178,04 ± 20,05 a	176,90 ± 38,48 a	197,66 ± 13,97 a	206,32 ± 21,00 a
<b>Total polisacáridos (mg/L)</b>	573,96 ± 40,28 a	645,39 ± 28,84 b	679,62 ± 15,69 b	681,59 ± 21,88 b
	<b>Protan Pepin® (TS)</b>	<b>OR + TS</b>	<b>OM + TS</b>	<b>EP + TS</b>
<b>F1 (144 – 100 kDa)</b>	48,95 ± 5,69 a	51,22 ± 1,72 α	49,84 ± 1,22 α	53,32 ± 5,51 α
<b>F2 (40 – 144 kDa)</b>	88,78 ± 3,45 b	101,32 ± 3,62 α	108,27 ± 13,19 α	126,47 ± 19,44 α
<b>F3 (6 – 40 kDa)</b>	274,37 ± 7,55 a	294,46 ± 8,32 α	331,63 ± 25,86 α	365,72 ± 33,76 β
<b>F4 (1 – 5 kDa)</b>	196,81 ± 10,84 a	196,37 ± 11,81 α	197,43 ± 18,22 α	194,16 ± 2,18 α
<b>Total polisacáridos (mg/L)</b>	625,76 ± 20,60 a	660,21 ± 2,63 α	679,11 ± 44,43 α	756,52 ± 39,97 β

Todos los datos se muestran como media ± DS de tres replicados.

Se presentan en kDa el peso molecular de cada fracción de polisacáridos.

a, b, Indican diferencias estadísticamente significativas (P < 0,05) entre el control y cada una de las suplementaciones.

α, β, Indican diferencias estadísticamente significativas (P<0,05) de las suplementaciones con extracto rico en polisacáridos (Opti Red®, OptiMum Red® y extracto de piel) junto con Protan Pepin® respecto a cada extracto solo.

Tabla 8. Datos obtenidos en el análisis sensorial, representados en la Figura 9, Figura 10 y Figura 11.

Primera cata	Control	Protan Pepin (TS)	OptiMum Red® (OM)	OM+TS
<b>Astringencia</b>	4,5 ± 0,8 a	5,5 ± 0,8 a	4,7 ± 0,9 a α	4,7 ± 0,7 a α
<b>Amargor</b>	3,9 ± 0,7 a	4,8 ± 0,8 a	3,5 ± 0,6 a α	4,5 ± 0,7 a α
<b>Estructura</b>	4,3 ± 0,6 a	5,0 ± 0,4 a	5,5 ± 0,7 b α	5,1 ± 0,7 a α
<b>Untuosidad</b>	3,7 ± 0,8 a	4,2 ± 0,6 a	4,5 ± 0,5 a α	4,2 ± 0,6 a α
<b>Preferencia</b>	3,9 ± 1,4 a	3,5 ± 1,8 a	3,9 ± 1,9 a α	4,8 ± 1,8 a α
Segunda cata	Control	Protan Pepin (TS)	Opti Red® (OR)	OR+TS
<b>Astringencia</b>	4,5 ± 0,8 a	5,5 ± 0,8 a	4,9 ± 0,7 a α	5,4 ± 0,9 a α
<b>Amargor</b>	3,9 ± 0,7 a	4,8 ± 0,8 a	4,4 ± 0,7 a α	4,1 ± 0,5 a α
<b>Estructura</b>	4,3 ± 0,6 a	5,0 ± 0,4 a	5,0 ± 0,5 a α	5,2 ± 0,6 a α
<b>Untuosidad</b>	3,7 ± 0,8 a	4,2 ± 0,6 a	4,4 ± 0,5 a α	4,5 ± 0,6 a α
<b>Preferencia</b>	3,9 ± 1,4 a	3,5 ± 1,8 a	3,9 ± 1,0 a α	4,1 ± 1,9 a α
Tercera cata	Control	Protan Pepin (TS)	Extracto piel (EP)	EP+TS
<b>Astringencia</b>	4,5 ± 0,8 a	5,5 ± 0,8 a	5,0 ± 0,6 a α	5,1 ± 0,9 a α
<b>Amargor</b>	3,9 ± 0,7 a	4,8 ± 0,8 a	4,2 ± 0,6 a α	3,9 ± 0,7 a α
<b>Estructura</b>	4,3 ± 0,6 a	5,0 ± 0,4 a	5,1 ± 0,5 a α	4,8 ± 0,6 a α
<b>Untuosidad</b>	3,7 ± 0,8 a	4,2 ± 0,6 a	4,6 ± 0,9 a α	4,3 ± 0,6 a α
<b>Preferencia</b>	3,9 ± 1,4 a	3,5 ± 1,8 a	3,9 ± 1,6 a α	4,5 ± 1,5 a α

Todos los datos se muestran como media ± DS de tres replicados.

a, b, Indican diferencias estadísticamente significativas (P < 0,05) entre el control y cada una de las suplementaciones.

α, β, Indican diferencias estadísticamente significativas (P<0,05) de las suplementaciones con extracto rico en polisacáridos (Opti Red®, OptiMum Red® y extracto de piel) junto con Protan Pepin® respecto a cada extracto solo.

Efecto de la suplementación con levaduras secas inactivadas y polisacáridos de piel de uva sobre la composición química y astringencia en vino Cabernet Sauvignon

## 2. Información sobre el extracto de piel

El extracto de piel fue purificado en el laboratorio previamente a este trabajo. Pieles de uva suministradas por Alcoholera catalana fueron maceradas con una solución hidroalcohólica al 10% v/v durante 7 días. La maceración tuvo lugar en una relación de 75 g. de pieles y 300 ml de solución hidroalcohólica. Pasados los siete días de maceración la solución hidroalcohólica fue separada de las pieles mediante filtración. La solución resultante fue rotaevaporada para eliminar el etanol y liofilizada para eliminar el agua obteniendo así un extracto seco que es el que se ha utilizado en este trabajo.

De este extracto se caracterizó su riqueza en compuestos fenólicos mediante la absorbancia a 280 nm y su riqueza en polisacáridos determinada por el método de HPLC descrito en este trabajo. Los resultados obtenidos fueron un 6 % de riqueza en compuestos fenólicos y un 41,3 % de riqueza en polisacáridos.