NUEVA APORTACIÓN ANALÍTICA PARA EL ESTUDIO DEL CAMBIO DE COLOR DE LOS VINOS TINTOS

María-Pilar Sáenz Navajas, María Teresa Tena, Purificación Fernández Zurbano

Departamento de Química. Universidad de La Rioja, C/ Madre de Dios 51, E26005 Logroño, La Rioja, España Tlf: 941 299 622. e-mail: puri.fernandez@unirioja.es

Resumen:

Los compuestos responsables del color de vinos tintos jóvenes, los antocianos libres, tienden a reaccionar con otros compuestos de tal forma que con el tiempo esto afecta al color de los vinos. Éste cambia desde el rojo-azulado de los vinos tintos jóvenes hasta el rojo-naranja (tejas) de los vinos muy envejecidos. Como consecuencia de estas reacciones, los antocianos del vino desaparecen gradualmente a la vez que se forman pigmentos más estables que serán los responsables del color final del vino envejecido.

El análisis mediante Electroforesis Capilar de Zona (CZE) de distintas disoluciones sintéticas del antociano mayoritario en las uvas, malvidina 3-monoglucósido y flavanoles, catequina y epicatequina, en presencia y ausencia de acetaldehído ha permitido evaluar de forma conjunta pigmentos con distintas características cromáticas. Los pigmentos formados en las distintas disoluciones sintéticas aparecen en tres zonas distintas del electroforegrama, de tal forma que los tiempos de migración de los pigmentos derivados parecen estar directamente relacionados con el color que manifiestan.

Palabras clave: malvidina 3-monoglucósido, flavanoles, acetaldehído, CZE.

1. INTRODUCCIÓN

Los vinos tintos poseen una compleja composición polifenólica. La evolución de los compuestos polifenólicos durante la elaboración y envejecimiento de los vinos tintos definirá las características organolépticas del vino final. Durante la conservación de éstos tienen lugar cambios no sólo en el color sino también en el sabor, aroma y astringencia. Las reacciones que tienen lugar entre los antocianos monoméricos y los compuestos fenólicos presentes en las uvas y el vino, tales como flavanoles y/o proantocianidinas, inducen a la formación de nuevos compuestos que producen una estabilización del color, así como un descenso en la astringencia y amargor [1]. En bibliografía se han descrito posibles mecanismos implicados en la formación de estos pigmentos poliméricos, pudiendo tener lugar o bien mediante condensación directa [2,3] o mediada por puentes etilo en presencia de acetaldehído [4,5]. Los compuestos fenólicos de bajo peso molecular, no sólo monómeros sino también oligómeros, han sido analizados y determinados por métodos cromatográficos. La cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) ha permitido su separación e identificación mediante el uso de distintos detectores como el de fila de diodos (DAD) o espectrometría de masas (MS). Sin embargo, el análisis de polifenoles de alto peso molecular resulta complicado con estas técnicas, ya que los pigmentos poliméricos y flavanoles de alto peso molecular eluyen como un conjunto de picos no resueltos con elevados tiempos de retención [6].

Recientemente, nuestro grupo de investigación ha demostrado que la Electroforesis Capilar de Zona es una técnica eficaz a la hora de separar pigmentos poliméricos [7], ya que las señales electroforéticas obtenidas para vinos envejecidos están directamente correlacionadas con el índice químico de envejecimiento y por lo tanto pueden ser usadas

para estimar la edad del vino. El objetivo de este trabajo fue estudiar la evolución de mezclas fenólicas en vino sintético mediante CZE, con el fin de determinar la naturaleza de los picos electroforéticos anteriormente citados. Para ello, distintas disoluciones de Mv3glc, flavanoles (catequina y epicatequina), tanto en presencia como ausencia de acetaldehído fueron preparadas en vino sintético y analizadas regularmente mediante CZE. La asignación de los picos correspondientes a los nuevos derivados formados así como a los de sus precursores fue realizada en base a sus espectros Uv-Vis así como a sus tiempos de migración. El estudio de la evolución de cada uno de los compuestos fue útil para establecer tanto el orden de aparición y desaparición como las relaciones entre los precursores y derivados y por lo tanto, para evaluar la estabilidad de éstos. Este estudio puede ser interesante para su identificación en muestras de vino real.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Para abordar el objetivo propuesto se realizó el seguimiento de 10 disoluciones preparadas en vino sintético. Las concentraciones iniciales fueron de 200 μ g/ml de malvidina-3-glucósido (M), 2000 μ g/ml de catequina (C), 2000 μ g/ml de epicatequina (E) y 200 μ g/ml de acetaldehído (A). Las disoluciones se guardaron a 20 °C bajo atmósfera de oxígeno durante 6 meses. Las distintas mezclas que se prepararon se muestran en la tabla 1.

Todas las muestras se analizaron mediante CZE que permitió seguir la evolución de los compuestos de las mezclas preparadas. El capilar usado fue de sílice fundida de 56 cm de longitud efectiva y 75 µm de diámetro interno. La disolución tampón utilizada fue de tetraborato disódico en una concentración de 50 mM y pH de 9.4 con un 10% de metanol (v/v) como modificador. La separación se llevó a cabo a 10 °C



y aplicando 25 kV. La detección se realizó en el cátodo sin inversión del flujo electrosmótico. Los electroforegramas se registraron a 280, 520 y 599 nm y los espectros se midieron de 200 a 599 nm con un detector de fila de diodos.

Tabla 1. Disoluciones mezcla en vino sintético

Disalución	Compuestos	Disolución	Compuestos
1	M	2	M+A
3	C	4	E
5	C+A	6	E+A
7	M+C	8	M+E
9	M+A+C	10	M+A+E

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En los vinos tintos se acepta como un patrón general de evolución del color aquel que va desde el color rojo con reflejos violáceos, propio de vinos recién obtenidos y jóvenes, al color rojo-teja con tonalidades pardo-amarillentas, propio de los vinos añejados y bastante oxidados. A continuación se hace una exposición de los pigmentos derivados de Mv3glc detectados mediante CZE, que pueden ser responsables de los distintos colores del vino. No hay que pasar por alto que el color resultante de un vino es siempre la interacción de todos los pigmentos y que el color de cada uno está a su vez influido por factores que pueden ser activos en algún momento de la vida del vino. La evolución de Mv3glc fue estudiada en presencia de catequina (disolución 7) y de epicatequina (disolución 8), así como en presencia del antociano con acetaldehído y categuina (disolución 9) o epicateguina (disolución 10). En la Fig.1 se muestran los electroforegramas de los picos correspondientes a los pigmentos detectados derivados de Mv3glc y en la Fig.1b sus espectros UV-Vis correspondientes. A continuación se detalla la formación de los derivados de Mv3glc en función del color que presentan.

Fig.1. Electroforegramas de las disoluciones 7 a los 176 días de reacción (Mv3glc y catequina) y 9 a los 44 días de reacción (Mv3glc, acetaldehído y catequina) con las zonas correspondientes al color de los pigmentos derivados de Mv3glc.

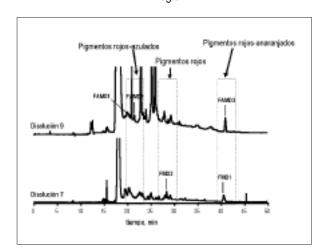
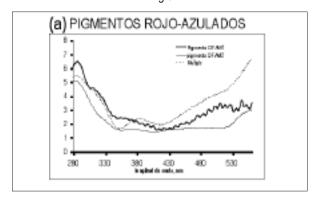
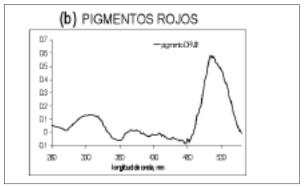
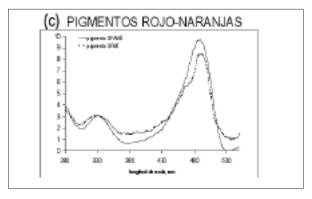


Fig. 2. Espectros UV-Vis de los pigmentos derivados de Mvglc.







3.1. PIGMENTOS ROJOS AZULADOS

Los pigmentos derivados del antociano y de los flavanoles con pigmentación roja-azulada fueron: DFAM1 y DFAM2; donde DFAM denota derivado de flavanol, acetaldehído y Mv3glc. Los derivados DFAM1 y DFAM2 (Figura 2a) presentan un espectro UV-Vis con un máximo a 284.5 nm, además de absorción en la región de los azules (560 nm), con un ligero desplazamiento hipsocrómico respecto de Mv3glc (Figura 2a). Escribano-Bailón y col. [4] describieron el color y la estabilidad de pigmentos formados a partir de condensaciones entre Mv3glc y catequina mediados por puentes etilo, formados en presencia de acetaldehído, concluyendo que éstos poseían tonos azulados y eran más estables a cambios de pH y SO₂ que los antocianos libres. Francia-Aricha y col. [8] describieron la formación de pigmentos con estructuras en las que M3glc y proantocianidinas de bajo peso molecular se unían mediante puentes etilo con características espectrales similares a los derivados DFAM1



y DFAM2. Por ello, estos derivados parecen ser productos de condensación entre Mv3glc y un flavanol o proantocianidinas con puentes etilo. Además, ambos derivados, presentan una relación carga-tamaño similar, ya que aparecen a tiempos de migración de 21.2 y 21.5 min respectivamente, comparables con los que aparecen en la literatura para antocianos de bajo peso molecular [9].

3.2. Pigmentos rojos

El único pigmento rojo derivado del antociano y de los flavanoles fue DFM2; donde DFM denota derivado de flavanol y Mv3glc. El espectro UV-Vis de este compuesto (Figura 2b) muestra dos regiones de absorción: la primera en torno a 340 nm, lo que confirma la condensación de Mv3glc en la posición 4 del flavanol a través del carbono 8 [10] y una segunda región de absorción en la zona de los rojos con un máximo a 516.5 nm. El derivado DFM2 aparece en las disoluciones 7 y 8 cuando DFM1, que presenta pigmentación roja anaranjada, comienza a descender. Así que el derivado rojo anaranjado DFM1 parece ser el precursor del pigmento rojo DFM2, que presenta una relación carga-tamaño menor, ya que aparece a menores tiempos de migración.

3.3. Pigmentos rojos anaranjados

Los derivados que presentan pigmentación roja anaranjada son DFM1 y DFAM3; el primero se formó en presencia de Mv3glc y un flavanol, a diferencia del segundo que además necesitó la presencia de acetaldehído para su formación. Ambos derivados poseen un máximo de absorción en torno a 340 nm (Figura 2c), lo que confirma la condensación de Mv3glc y un flavanol a través de la posición 4 [10]. Por otro lado, estos pigmentos presentan otro máximo en la región de los rojos y los amarillos a 490.5 nm el derivado DFM1 y a 488.5 nm DFAM3, debido a la presencia del antociano en la molécula. Ambos compuestos aparecen a tiempos de migración que corresponden con los pigmentos poliméricos descritos por Sáenz-López y col. [7]. En general, se ha observado que los derivados formados en presencia de acetaldehído poseen una menor estabilidad o al menos una mayor reactividad que los formados por unión directa entre Mv3glc y un flavanol, ya que los primeros desaparecen a lo largo del estudio a diferencia de los productos de condensación directa que no cesan su formación desde que son detectados hasta el final del estudio.

4. BIBLIOGRAFÍA

- Ribéreau-Gayon, P.; Glories, Y.; Maujean, A.; Dubourdieu,
 D. Tratado de Enología; Volumen 2 2002.
- Vivar-Quintana, A.M.; Santos-Buelga, C.; Francia-Aricha, E.M.; Rivas-Gonzalo, J.C. 1999 Formation of anthocyanin-derived pigments in experimental red wine. Food Science and Technology Int 5 347-352.
- Salas, E.; Atanasova, V.; Poncet-Legrand, C.; Meudec, E.; Mazauric, J.P.; Cheynier, V. 2004 Demonstration of the occurence of flavanol-anthocyanin adducts in wine and in model solutions. *Anal. Chim. Acta.*, 513, 325-332.
- Escribano-Bailón, M.T.; Álvarez-García, M.; Rivas-Gonzalo, J.C.; Heredia, F.J.; Santos-Buelga, C. 2001 Color and stability of pigments derived from the acetal-dehyde-mediated condensation between malvidin-3-o-glucoside and (+)-catechin. J. Agric. Food Chem., 49,1213-1217.
- Pissarra, J.; Mateus, N.; Rivas-Gonzalo, J.; Santos-Buelga, C.; De Freitas, V. 2003 Reaction between malvidin 3-glucoside and catechin in model solutions containing different aldehydes. J. Food Sci., 68, 476-481.
- 6. Bakker J. 1985 HPLC of anthocyanins in Port wines: determination of ageing rates. Vitis, 25, 203-214.
- Sáenz-López, R.; Fernández-Zurbano, P.; Tena, M.T. 2004 Analysis of aged red wine pigments by capillary zone electrophoresis. J. Chromatogr. A, 1052, 191-197.
- 8. Francia-Aricha E.M.; Guerra M.T.; Rivas-Gonzalo J.C. and Santos-Buelga C. 1997 New anthocyanin pigments formed after condensation flavanols. *J Agric. Food Chem.*, 45, 2262-2266.
- Calvo, D.; Sáenz-López, R.; Fernández-Zurbano, P.; Tena, M.T. 2004 Migration order of wine anthocyanins in capillary zone electrophoresis. *Anal. Chim. Acta*, 524, 207-213.
- Timberlake, C.F.; Bridle, P. 1980 Developments in food colors I. J. Walford (Ed.) Applied Science Publishers; London, p.126.