



# **UNIVERSIDAD DE CHILE**

**FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS**

**ESCUELA DE POSTGRADO**

## **EFFECTO DE LAS MEZCLAS DE VINOS SYRAH – VIOGNIER Y CABERNET SAUVIGNON - SYRAH SOBRE LA FRACCION DE POLISACARIDOS Y LA PERCEPCION DE ASTRINGENCIA.**

Tesis para optar al Grado de Magister en Enología y Vitivinicultura

**CHRISTIAN ALBERTO OLIVARES VERGARA**

Directores de Tesis

ALVARO PEÑA-NEIRA  
REMIGIO LOPEZ SOLIS

Profesores Consejeros

MARCELA MEDEL M.  
ELÍAS OBREQUE SLÍER

**SANTIAGO – CHILE**  
**2014**

**UNIVERSIDAD DE CHILE**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS**  
**ESCUELA DE POSTGRADO**

**EFFECTO DE LAS MEZCLAS DE VINOS SYRAH – VIOGNIER Y CABERNET  
SAUVIGNON - SYRAH SOBRE LA FRACCION DE POLISACARIDOS Y LA  
PERCEPCION DE ASTRINGENCIA.**

Tesis presentada como parte de los requisitos para optar al Grado de Magíster en Enología  
y Vitivinicultura.

DIRECTORES DE TESIS	Calificaciones
Álvaro Peña-Neira Dr. Ingeniero Agrónomo Enólogo	Aprobado
Remigio López Solís Dr. Bioquímico	Aprobado
PROFESORES CONSEJEROS	
Marcela Medel M. Dr. Ingeniero Agrónomo Enólogo	Aprobado
Elías Obreque Slier Dr. Ingeniero Agrónomo Enólogo	Aprobado

Santiago, Chile  
2014

## AGRADECIMIENTOS

*“No importa cuántas veces se cae uno en la vida, lo importante es cómo nos levantamos”.*

**A mis padres**, quienes fueron uno de los artífices de este trabajo con su cariño y amor incondicional.

**A Ximena**, por su infinito amor, entendimiento y apoyo en todo momento desde que estamos juntos, sin ti esto no habría sido posible.

**A mis amigos extranjeros y nacionales**.... (Aarón, Criss, Claudia, Alejandra, Mauricio, Pedro, Karina)... y muchos más... Compañeros de locuras, por su ayuda en la realización de este trabajo.

A todos los que con su ayuda permitieron la realización de este trabajo; al profesor **Álvaro Peña** por sus constantes consejos y retos, al profesor **Remigio López**, por su paciencia en las explicaciones especialmente en las correcciones, a **Laly**, por su gran disposición a resolver dudas en el laboratorio, a **Héctor** por su ayuda y paciencia, al personal de la planta piloto y a los académicos que me formaron como profesional.

Finalmente agradecer al proyecto FONDECYT 1110832 “Influence of Both Polysaccharides, Anthocyanins and some Technological Aspects on the Astringency and Mouth-feel Quality of Chilean Wines” que permitieron la compra de los insumos necesarios para la realización de este trabajo.

## ÍNDICE

<b>RESUMEN.....</b>	<b>7</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>8</b>
<b>INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>9</b>
Hipótesis de Trabajo.....	12
Objetivos .....	12
<b>MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>13</b>
Lugar de Realización.....	13
Materiales.....	13
Equipamiento.....	13
Métodos.....	14
Variables a medir.....	15
Procedimiento.....	15
Caracterización química.....	15
pH.....	15
Grado Alcohólico.....	15
Taninos Totales.....	16
Antocianos Totales.....	16
Análisis de Polisacáridos.....	16
Análisis de Difusión y Precipitación.....	17
Análisis Físicos.....	17
Análisis Sensorial.....	18
Diseño Experimental y Análisis Estadístico.....	18
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>19</b>
Análisis Químicos y Físicos.....	19
Análisis de Polisacáridos mezcla Syrah / Viognier.....	22
Análisis de Polisacáridos mezcla Cabernet Sauvignon / Syrah).....	25
Análisis de Difusión mezcla Syrah / Viognier.....	30
Análisis de Precipitación mezcla Syrah / Viognier.....	32
Análisis de Difusión mezcla C. Sauvignon / Syrah.....	34
Análisis de Precipitación mezcla C.Sauvignon / Syrah.....	35
Análisis Sensorial mezcla Syrah / Viognier.....	37
Análisis Sensorial mezcla C. Sauvignon / Syrah.....	38

**CONCLUSIONES.....41**  
**BIBLIOGRAFÍA.....42**  
**ANEXO.....46**

**ABREVIATURAS**

CS/S: Cabernet Sauvignon / Syrah

g/l: Gramos por litro

há: Hectárea

mL: Mililitro

mM: Micromolar

rpm: Revoluciones por minuto

S/V: Syrah / Viognier

μL: Microlitro

(v:v): Razón volumen - volumen

## RESUMEN

Las mezclas o ensamblajes, son procesos enológicos comunes en bodega, las cuales se basan en la búsqueda de un equilibrio entre atributos sensoriales específicos como el color, aroma y gusto, mediante el uso de vinos de distintas cepas, permitiendo obtener así un producto final de características únicas.

Este proceso genera una serie de modificaciones en los dos principales compuestos que forman la fracción macromolecular del vino: polisacáridos y compuestos fenólicos. Numerosas investigaciones han determinado cómo las mezclas afectan los compuestos fenólicos, y cómo éstos a su vez, modifican la percepción sensorial del color en el vino al mejorar procesos como la copigmentación. Por otra parte, para el caso de los polisacáridos, algunas investigaciones han establecido cómo el uso de compuestos de origen comercial (carboximetilcelulosa y goma arábiga) modifican la percepción de astringencia en vinos. Hoy en el mercado es posible encontrar no solo mezclas de vinos tintos de distintas variedades, sino que también mezclas de tintos y blancos que aparte de modificar los aspectos antes mencionados, pueden mejorar el aroma final del vino.

El presente estudio estuvo conformado por dos ensayos independientes, de cinco tratamientos cada uno, formado por distintos niveles de mezcla de variedades de interés para la industria vitivinícola nacional como Cabernet Sauvignon, Syrah y Viognier, las cuales fueron sometidas a una serie de análisis químicos, físicos y sensoriales con el objetivo, de determinar la modificación de la fracción de polisacáridos presentes en los vinos y su posible efecto en la intensidad de la percepción de astringencia.

Los resultados establecieron que las mezclas produjeron cambios tanto en las fracciones de polisacáridos presentes en los vinos finales como en el contenido total de polisacáridos. Estos cambios tienen una correlación positiva con respecto a la proporción de vino agregado (Viognier y Syrah) al vino base (Syrah y Cabernet Sauvignon).

Por otro lado sólo los análisis de precipitación, en ambos ensayos, mostraron cambios en la interacción tanino-proteína (tratamiento de mayor proporción de vino agregado), lo que se ratificó con los resultados del análisis sensorial, mostrando una reducción de la astringencia con respecto al vino base, estableciendo que las mezclas modifican las características de los vinos base para mejorar su calidad organoléptica.

**Palabras Claves: Calidad Organoléptica, Fracción Macromolecular, Interacción Tanino-Proteína, Viscosidad.**

**ABSTRACT****EFFECT OF MIXTURES OF WINES SYRAH - VIOGNIER AND CABERNET SAUVIGNON – SYRAH ON POLYSACCHARIDES FRACTION AND ASTRINGENCY PERCEPTION.**

Mixtures blends or assemblies are common in winemaking processes which aim at finding a balance between specific sensory attributes, such as color, flavor and taste, by using different wines varieties to obtain a final product with unique characteristics.

Wine blending generates a number of changes in the two main compounds that form the macromolecular fraction of wine: polysaccharides and phenolic compounds. Numerous investigations have determined that mixtures affect phenolic compounds, thus altering the perception of wine color because of the improvement of some processes, such as co-pigmentation. In the case of polysaccharides, some investigations have established that the use of some commercial compounds (Carboxymethylcellulose and Arabic gum) modify the perception of wine astringency. In the current market, in addition to mixtures of red wines from different varieties, a diversity of red and white blends can be found. These ones, besides modifying the above-mentioned aspects, can improve the final aroma of the wine.

The present study consisted of two separate assays, comprising five treatments each and consisting of different levels of mixture between varieties of interest for the wine industry, such as Cabernet Sauvignon, Syrah and Viognier. A series of chemical, physical and sensory analyses were conducted with the objective of determining changes in polysaccharides fraction of wines and their possible effect on the intensity of perceived astringency.

We observed that the blending process produced changes both in the polysaccharide fractions of wines and in the total content of polysaccharides. Those changes showed a positive correlation with respect to the fraction of added wine (Viognier or Syrah) to the base wine (Syrah or Cabernet Sauvignon).

On the other hand, precipitation analysis in both assays showed changes in the tannin-protein interaction in close correlation with the sensory evaluation, which showed a reduction of astringency with respect to the base wine, that blending of base wines improve the organoleptic quality of wines.

**Keywords: Organoleptic quality, Macromolecular fraction, Tannin-Protein Interaction, Viscosity.**

## INTRODUCCION

La fracción macromolecular de los vinos está formada principalmente por dos grandes grupos de compuestos: polisacáridos y los compuestos fenólicos (Ayestaran *et al.*, 2004).

Los polisacáridos son biomoléculas, formadas por la unión de varios monosacáridos a través de enlaces glucosídicos. Estos polímeros, se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza, aunque también pueden ser obtenidos de manera sintética. De acuerdo a la función que desempeñan, pueden clasificarse en polisacáridos de estructura o de reserva. Los primeros participan en la construcción de estructuras orgánicas, mientras que los segundos representan una forma de almacenar azúcares (Vidal *et al.*, 2003).

Dentro de las diferentes funciones que cumplen los polisacáridos en el vino, se encuentran: impedir o limitar los procesos de agregación y floculación y con ello la cristalización de sales de tartrato; influir en la flora fermentativa y su interacción con compuestos aromáticos; contribuir a las propiedades organolépticas de los vinos, estabilizando sabor (mejorando untuosidad y suavidad), color (interviniendo en procesos de copigmentación) y aroma (Ayestaran *et al.*, 2004).

Los polisacáridos del vino pueden tener un origen natural: provenientes ya sea de la uva (pectinas), o liberados por las paredes de las levaduras usadas en el proceso de fermentación alcohólica, o bien pueden tener un origen sintético, como los polisacáridos comerciales (Vidal *et al.*, 2004).

Las familias de polisacáridos tienen distintas composiciones y estructura, específicamente en lo relacionado a su acidez y composición química. Así tenemos: Polisacáridos pépticos neutros (Arabinogalactanos), Polisacáridos pépticos ácidos (homogalacturanos y ramnogalacturanos), Manoproteínas y Polisacáridos comerciales (carboximetilcelulosa y goma arábica) (Ayestaran *et al.*, 2004).

Por otro lado, los compuestos fenólicos, forman parte de un grupo de alta relevancia en la estructura química de la uva y el vino, constituyendo uno de los principales parámetros de calidad en vinos (Blouin y Peynaud, 2003).

Estos compuestos son derivados del metabolismo secundario de los vegetales y son responsables de propiedades de alta relevancia en el vino como el color, aroma, amargor y astringencia. Este grupo se caracteriza por presentar un anillo aromático acompañado de uno o varios grupos hidróxilo. Se clasifican así en dos grandes grupos: flavonoides y no flavonoides (Blouin y Peynaud, 2003).

Los compuestos no flavonoides, como los ácidos hidroxicinámicos, ácidos y aldehídos benzoicos, taninos hidrolizables y estilbenos, se encuentran localizados en todo el grano de uva. Estos compuestos presentan diversas funciones: en el caso de los ácidos hidroxicinámicos, tienen una activa participación en el color en los vinos tintos (ácido cafeico); los ácidos y aldehídos benzoicos otorgan aromas especiales al vino y su

concentración depende de factores propios del manejo en bodega como maceraciones y envejecimiento en barrica (*p*-vainillina) (Zamora, 2003).

En el caso de los taninos hidrolizables, estos corresponden a poliésteres de ácido gálico. Por último, los estilbenos, ubicados ya sea en el fruto o en tejidos vegetales, tienen una función de defensa del vegetal frente a ataques fúngicos o altos niveles de radiación ultravioleta (Obreque, 2010).

Por otro lado, los compuestos flavonoides se encuentran fundamentalmente en la piel, semilla y raspón (Zamora, 2003; Llaudy 2007). Sólo en la variedad tintorera se encuentran en la pulpa (antocianos). Dentro de los flavonoides, son los taninos condensados y específicamente las proantocianidinas (formados por subunidades de flavan-3-oles) los principales responsables de aspectos tan importantes como el sabor amargo, la astringencia, la sensación de estructura o cuerpo y de la capacidad del vino para envejecer (Simón *et al.*, 2003).

Los flavonoides son incorporados al vino mediante procesos de maceración de las pieles y semillas durante la elaboración del vino tinto. Dichos procesos de maceración están diseñados en tiempo y momento para favorecer su extracción. A medida que aumenta el tiempo de contacto del mosto con las partes sólidas de las bayas se favorece la extracción de compuestos fenólicos, especialmente taninos. Debido a que estos compuestos son más solubles en una solución hidroalcohólica es que se realizan maceraciones postfermentativas para favorecer así su extracción. Esta intervención tiene directa relación con una de las principales propiedades organoléptica de los vinos: la astringencia.

La astringencia tiene muchas interpretaciones. Sin embargo, es definida como una sensación táctil de sequedad en boca producida por la interacción entre los taninos condensados del vino y las proteínas salivares, generando una precipitación y una pérdida de lubricación en la cavidad bucal (Gawel, 1998).

Esta interacción se produce gracias a la capacidad que tienen los taninos de unirse a las proteínas. Al beber vino tinto, se pone en marcha el mecanismo molecular de la astringencia, puesto que los taninos, al tomar contacto con las proteínas de la saliva forman complejos macromoleculares, los cuales al precipitar desencadenan la sensación de sequedad en la boca que es propia de la astringencia (Gawel, 1998; Zamora, 2003; Dinnella *et al.*, 2009).

Las interacciones entre los taninos y las proteínas pueden ser de distintos tipos: puentes de hidrógeno, interacciones de tipo hidrofóbico o por atracción electrostática (Sarni – Manchado *et al.*, 1999, citado por Zamora, 2003). Estas interacciones dependen en gran medida no solo de la naturaleza de la proteína, sino también de la estructura y tamaño de los taninos. Las proteínas salivales ricas en prolina, y las gelatinas, son proteínas con una alta reacción con los taninos (Gawel, 1998; Ribereau-Gayon *et al.*, 2005).

La reducción de astringencia puede producirse mediante la modificación de las condiciones del medio vínico (pH y contenido de etanol) (Lawless *et al.*, 1996; De Miglio *et al.*, 2002), o bien mediante el uso de polisacáridos sintéticos. Así en este sentido Troszynska *et al.*,

(2010), establecieron que al agregar polisacáridos sintéticos, al extracto polifenólico de frutos, como el kaki, o de infusiones, como el té verde, permitieron disminuir la sensación de astringencia.

El ensamblaje o mezcla es una operación que permite obtener un producto final que posee características precisas y armoniosas, pudiendo personalizar un producto. Consiste en la mezcla de vinos bases (varietales) en un porcentaje determinado, con la finalidad de mejorar y aumentar su condición sensorial, especialmente en aspectos como aroma, color y sabor (Hidalgo, 2003; Blouin y Peynaud, 2004).

Normalmente la industria vitivinícola realiza estas operaciones para obtener no sólo vinos de características específicas, sino que también para asegurar una cosecha más homogénea la que garantice la comercialización de un volumen adecuado (Flanzy, 2003).

Las distintas operaciones que conforman las mezclas, se realizan en pequeñas cantidades y analizando por medio de la degustación los vinos a utilizar, para así definir lo que cada uno puede aportar al producto final, tomando en consideración tanto sus virtudes como sus debilidades. Así las mezclas son elaboradas con diversos tipos de vinos, los cuales son producidos a partir de distintas cepas de uvas, diferentes en su composición y elaborados a partir de diversos sistemas de vinificación (Blouin y Peynaud, 2004).

La mayoría de las investigaciones sobre las mezclas de vinos no solo buscan determinar su efecto sobre atributos sensoriales específicos, como el color, sino que también sobre los diversos compuestos fenólicos del vino. Por otro lado, muchas de las investigaciones sobre polisacáridos buscan determinar el efecto de polisacáridos comerciales (carboximetilcelulosa y goma arábica) o manoproteínas sobre atributos sensoriales como la astringencia. Sin embargo no existen suficientes investigaciones que permitan establecer un posible efecto de la mezcla de vinos sobre el perfil de polisacáridos y como este perfil afecta a los compuestos fenólicos.

Para la realización de este estudio se utilizaron tres variedades: Cabernet Sauvignon, Syrah y Viognier. Dichas variedades son de gran importancia para Chile dado que la primera representa el 51% de la superficie plantada en variedades tintas y la segunda el 9% de la misma superficie, mientras que en el caso de Viognier, es una variedad blanca que ha aumentado significativamente su superficie en los últimos años, alcanzando en la actualidad 853 há (SAG, 2012). Así el presente estudio propone analizar el efecto de la mezcla de vinos sobre la fracción de polisacáridos y el efecto de dicha modificación sobre las propiedades sensoriales (astringencia) del producto resultante.

### **Hipótesis de trabajo**

- Las mezclas de vinos aumentan las fracciones de polisacáridos de los vinos finales, lo que disminuye la interacción tanino-proteína y reduce la intensidad de la percepción de astringencia.

### **Objetivos**

- Caracterizar y cuantificar las fracciones de polisacáridos según su peso molecular, presentes en las mezclas de vinos Syrah – Viognier y Cabernet Sauvignon - Syrah estableciendo el efecto de dichas mezclas en las fracciones polisacáridas y en la viscosidad de los vinos resultantes.
- Establecer a través de pruebas de difusión y precipitabilidad el efecto del cambio en el perfil de polisacáridos sobre la interacción tanino-proteína y su relación con la percepción de astringencia.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **Lugar de realización**

Los análisis se realizaron en el Laboratorio de Análisis Cromatográfico y de Capacidad Antioxidante, Laboratorio de Química Enológica, Laboratorio de Productos Vegetales y Laboratorio de Análisis Sensorial, todos ubicados en el Departamento de Agroindustria y Enología de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile.

### **Materiales**

Se utilizaron 2,250 mL de vino de cada tratamiento (Cabernet Sauvignon, Syrah y Viognier, y de mezclas de Syrah – Voignier y Cabernet Sauvignon - Syrah en distintas proporciones). El vino Syrah, provino de la viña Undurraga ubicada en la comuna de Talagante, valle del Maipo, siendo la uva con las que se elaboraron cosechadas entre mediados y finales de Abril. Los vinos Cabernet Sauvignon y Viognier provinieron de la Viña Santa Rita ubicada en la localidad de Alto Jahuel, siendo la uva para el primer vino cosechada a inicios del mes de Abril, y la segunda, cosechada a finales del mes de Marzo. Todos los vinos corresponden a la cosecha del año 2012, las cuales no presentan operaciones unitarias de clarificación y estabilización tartárica. Todos los solventes utilizados fueron adquiridos en Merck (Santiago, Chile).

### **Equipamiento**

Para los análisis de caracterización de los vinos se utilizó un potenciómetro para la medición de pH marca Hanna modelo HI 8417N, un equipo de destilación de laboratorio y un aerómetro para la medición del grado alcohólico. Para la medición de taninos totales y antocianos se utilizó un espectrofotómetro UV-VIS Pharmaspec, modelo UV-1700 (Shimadzu, Kyoto, Japón).

Para la realización del análisis y cuantificación de las fracciones de polisacáridos según peso molecular presentes en las mezclas de vinos antes mencionadas, se utilizó un equipo de Cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC-DAD) Agilent Technologies 1260 Infinity Series (Germany), constituido por un inyector automático modelo L-7200 y acoplado a un detector de índice de refracción marca Agilent modelo L-7455. Para preparar las muestras se ocupó una centrifuga refrigerada RC- 5B Sorvall (Du Pont, BH, Alemania). Para la concentración de las muestras se utilizó un rotavapor Buchi, modelo R - 210.

Para determinar las características reológicas de las distintas mezclas se utilizó un viscosímetro Brookfield modelo R

Para la realización de las pruebas de difusión se utilizaron insumos como matrices de celulosa (papel Whatman N°1), Coomassie Blue y solventes (Ácido Tricloroacético, Ácido Acético). Para las pruebas de precipitabilidad se utilizó saliva y dosis de los distintos tratamientos en tubos de ensayo independientes. El análisis de los resultados para la determinación del área de difusión e intensidad de la precipitación de las distintas fracciones se realizó mediante el programa IMAGE J 1.42J.

Finalmente, para el análisis sensorial de las mezclas de vinos, se realizó mediante la utilización de una pauta no estructurada en donde cada juez evaluador determinara el nivel de intensidad de la astringencia en cada muestra (Anexo 1).

## Métodos

### Tratamientos y diseño experimental

Para el presente trabajo se estableció un diseño experimental completamente aleatorizado (DCA) consistente en dos ensayos independientes, formados por 5 tratamientos cada uno; cada ensayo estuvo dividido según las cepas y el porcentaje utilizado en cada mezcla. Cada tratamiento tuvo 3 repeticiones, siendo la unidad experimental 750 mL de vino contenido en una botella.

**Cuadro 1. Ensamblaje variedad Syrah – Viognier (Ensayo 1).**

Tratamiento	Syrah (%)	Viognier (%)
1	0	100
2	100	0
3	95	5
4	90	10
5	85	15

**Cuadro 2. Ensamblaje variedad Cabernet Sauvignon – Syrah (Ensayo 2).**

Tratamiento	Cabernet Sauvignon (%)	Syrah (%)
1	100	0
2	0	100
3	90	10
4	80	20
5	75	25

## Variables a medir

### Químicas

- pH.
- Grado alcohólico.
- Taninos totales.
- Antocianos totales.
- Polisacáridos (contenido total y fraccionamiento según peso molecular).
- Pruebas de difusión y precipitación.

### Físicos

- Viscosidad.

### Sensorial

- Intensidad de astringencia.

## Procedimiento

Los vinos de las distintas cepas fueron mezclados y envasados en botellas de vidrio con capacidad de 750 mL, taponándose con un corcho. Posteriormente, los tratamientos se almacenarán en el subterráneo de la planta piloto del Departamento de Agroindustria y Enología durante un período de tres semanas aproximadamente a una temperatura de 12° C y una humedad relativa ambiental de 30%.

### Caracterización química de los vinos base y mezclas

**pH:** las muestras se analizaron mediante un potenciómetro marca Hanna modelo HI 8417N, el cual fue previamente calibrado con una solución buffer a pH 7 a temperatura ambiente (Bordeau y Scarpa, 1998).

**Grado alcohólico:** la medición se realizó mediante el método densimétrico el que está basado en la diferencia de densidad del alcohol y el agua. La aplicación de este método exige someter al vino a una destilación que permita eliminar cualquier sustancia extraña al alcohol y el agua que pudiera hacer variar esta densidad. Una vez obtenida la mezcla

hidroalcohólica de la destilación se procede a medir el grado alcohólico con un aerómetro que para estos casos se denomina alcoholímetro (Bordeau y Scarpa, 1998).

**Taninos totales:** para esta medición se utilizó la reacción de Bate – Smith, que se basa en la propiedad de los 3,4 flavanodíoles de sufrir hidrólisis en un medio ácido y en presencia de oxígeno, transformando estas moléculas en antocianos. Para ello se diluyó el vino con agua destilada en proporción de 1:50 (v:v), dividiendo esa muestra en dos tubos de ensayo, a cada tubo se le agregó 2 mL de agua y 6 mL de HCl concentrado; un tubo se depositó en baño maría a 100°C por 30 minutos y luego fue enfriado en oscuridad, posteriormente a ambos tubos se le agregó 1 mL de etanol a 95%, finalmente se midió la absorbancia a ambos tubos en un espectrofotómetro a longitud de onda de 550 nm en cubetas de 10 mm contra H<sub>2</sub>O, la diferencia de las absorbancias obtenidas de ambos tubos se multiplica por un factor de corrección derivado de la dilución, siendo el valor expresado en gL<sup>-1</sup> de catequina (Bordeau y Scarpa, 1998). La catequina con la que se realizó las rectas de calibrado fue adquirida en Extrasynthese (Lyon, Francia).

**Antocianos totales:** esta medición utilizó la propiedad de estos compuestos de decolorarse por la acción de algunos productos como agua oxigenada, bisulfito sódico o hidroxilamina. Se procede a la preparación de la muestra, en el cual a 1 mL de vino se le agrega 1 mL de HCl 0,1% en EtOH (alcohol ácido) y 20 mL HCl 2% en agua. Esta muestra se divide en dos tubos, al primer tubo se le agrega 4 mL de bisulfito sódico al 15% mientras que al segundo tubo se le adicionara 4 mL de agua (control), finalmente se midió la absorbancia a ambos tubos en espectrofotómetro a longitud de onda de 520 nm contra H<sub>2</sub>O, la diferencia de las absorbancias obtenidas de ambos tubos se multiplican por un factor de corrección (curva de calibración), siendo el valor expresado en mg L<sup>-1</sup> de malvidina (García Barceló, 1990). La malvidina con la que se realizó las rectas de calibrado fue adquirida en Extrasynthese (Lyon, Francia).

### **Análisis de polisacáridos**

**Fraccionamiento según peso molecular y Contenido total:** Para realizar la preparación de los polisacáridos presentes tanto en las mezclas de vinos como en los vinos base, 10 a 20 mL de las muestras fueron filtradas en membranas Durapore 22 µm GVBB y centrifugadas (9500 rpm, 20 min 4° C), posteriormente fueron concentradas en un rotavapor (30°-35°C) por 1 a 2 horas. La fracción obtenida (2 mL) fue precipitada con 10 mL de solución 0,3 M HCl en etanol frío al 96%, refrigerándose por 18 a 24 horas. Luego se procedió a centrifugar las muestras en una centrífuga (9000 rpm, 20 minutos, 4°C).

El precipitado obtenido se lavó con 1 mL de etanol ácido frío (96%) varias veces, y finalmente los residuos fueron secados en estufa a 50°C por 1 hora. La fracción obtenida fue reconstituida en fase móvil de Formiato de Amonio 30 mM, pH 5,8, y filtrada nuevamente por medio de membranas (Ayestaran *et al.*, 2004).

Para determinar las fracciones de polisacáridos según el peso molecular se ocupó un equipo cromatografía líquida de alta presión (HPLC-DAD), Agilent 1260 Infinity Series acoplado a un detector de índice de refracción (IR) Agilent modelo L-7455, en donde el flujo y

volumen de inyección fue de  $0,6 \text{ mL min}^{-1}$  y  $100 \text{ }\mu\text{L}$ , respectivamente, siendo la fase móvil Formiato de Amonio.

Para la cuantificación de las fracciones de polisacáridos según peso molecular, obtenidas en el perfil y el contenido total, se utilizó una curva de calibración a partir de estándares de dextranos y pectinas, todos de la marca Sigma (USA).

### **Análisis de difusión y precipitación**

Para los ensayos de difusión y precipitabilidad se utilizó saliva humana. La recolección se efectuó expectorando la saliva acumulada durante un minuto en la boca, por un individuo adulto joven, de 35 años, sano, no fumador, la cual fue depositada en un recipiente. Este proceso se realizó entre las 10:00 y 11:00 a.m. de acuerdo a lo establecido por Obreque-Slier *et al.*, (2010).

Para los ensayos de difusión se emplearon dosis de  $60 \text{ }\mu\text{L}$  de saliva con  $900 \text{ }\mu\text{L}$  de los diferentes tratamientos. Estas dosis fueron empleadas con el fin de mantener una relación 1:15 (v:v) condición que de acuerdo con Müller *et al.*, (2010) y mencionado por Obreque – Slier *et al.*, (2011), se aproxima a lo que ocurre en la boca cuando se degusta profesionalmente un líquido.

Luego de dejar en reposo los tubos por 5 minutos, se tomaron alícuotas de  $15 \text{ }\mu\text{L}$  y fueron colocadas sobre una membrana de celulosa de forma perpendicular y permitiendo que difunda libremente. Luego de secarse, las proteínas fueron fijadas a la membrana con ácido tricloroacético al 5%, teñidas con Coomassie Blue y lavadas con ácido acético al 7% y agua destilada, para luego ser secadas y registradas fotográficamente (Obreque *et al.*, 2010).

Para los ensayos de precipitabilidad se utilizó los sobrenadante preparados con el remanente del contenido de los tubos usados en el ensayo de difusión. Los tubos fueron centrifugados a 5.000 rpm por 5 minutos. Posteriormente se tomaron  $15 \text{ }\mu\text{L}$  de cada sobrenadante, y se colocaron sobre una membrana de celulosa para que difundan libremente. Las membranas fueron procesadas de la misma forma que en la empleada en la tinción de proteínas en el ensayo de difusión.

La reducción en la tinción de las proteínas en la membrana fue indicativa de una precipitación en el tubo. Dicha observación fue complementada con una inspección visual y un registro fotográfico (Obreque – Slier *et al.*, 2011). Además, a través del software IMAGE 1.42J se determinó el área de difusión y la intensidad de la precipitación (coloración sobre la membrana de celulosa).

### **Análisis físicos**

**Medición de viscosidad.** El vino al comportarse como un fluido Newtoniano, es decir que posee una viscosidad que no varía dependiendo de la temperatura o la presión, permite que sea medida con un viscosímetro.

Se tomó una muestra de 500 mL de cada tratamiento en un vaso precipitado y se midió durante 10 segundos a una temperatura de 20° C y a 100 rpm. El viscosímetro debe estar equipado con la aguja número 1 (Ibarz, 2005).

### **Análisis sensorial**

Al ser ensayos independientes, el análisis se realizó por separado durante dos días a la misma hora, siendo el primer ensayo evaluado Cabernet Sauvignon – Syrah, y finalmente el ensayo Syrah – Viognier.

Las muestras se presentaron distribuidas aleatoriamente a un panel sensorial entrenado de 12 personas, los que determinaron el nivel de astringencia de los diversos tratamientos que conforman los dos ensayos (Cabernet Sauvignon – Syrah y Syrah – Voignier), estas fueron servidas en copas negras de 20mL a una temperatura de servicio de 20°C (+/-1°C).

La evaluación se llevó a cabo en papel a través de una pauta no estructurada para medir la intensidad de la astringencia, con una línea horizontal de 15 cm, donde a los 0 cm; indica ausencia del atributo, y a los 15 cm indica la máxima expresión del atributo analizado (Anexo 1).

Cada evaluador debió colocar en boca la totalidad de la muestra e indicar en la pauta el nivel de astringencia percibido.

Previo a dar inicio a las evaluaciones se realizó una sesión informativa, con el fin de explicar a los miembros del panel evaluador la forma de realizar la evaluación.

### **Diseño experimental y análisis estadístico**

Para las pruebas químicas y físicas, el diseño utilizado fue completamente aleatorizado (DCA). Para las evaluaciones sensoriales se utilizó un diseño en bloques completamente aleatorizados (DBCA), en el cual los evaluadores constituyeron las repeticiones.

Para el procesamiento de los datos se utilizó el software estadístico Minitab® (V.16). Junto al análisis de varianza se realizó una prueba de comparación múltiple de Tukey (5% de significancia), para determinar las diferencias estadísticas existentes.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Análisis químicos y físicos

#### Mezcla Syrah / Viognier (Ensayo 1)

Los Cuadros 3 y 4 muestran los resultados de los análisis químicos y físicos realizados a los vinos base Syrah y Viognier y sus mezclas en distintas proporciones (Ensayo 1). Sólo en los análisis polifenólicos (antocianos totales y taninos totales) se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos de mezcla (Cuadro 3). En las otras variables (pH, Grado alcohólico y Viscosidad) no se apreciaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos.

**Cuadro 3. Análisis polifenólicos mezcla Syrah / Viognier.**

Tratamiento	Antocianos Totales *	Taninos totales **
<b>Viognier (100%)</b>	<b>0,0 ± 0,0 c</b>	<b>0,0423 ± 0,02 c</b>
<b>Syrah (100%)</b>	<b>566,2 ± 3,45 a</b>	<b>2,834 ± 0,13 a</b>
Syrah / Viognier (95/5%)	553,4 ± 2,68 a	2,743 ± 0,12 a
Syrah / Viognier (90/10%)	543,7 ± 3,56 a	2,765 ± 0,1 a
Syrah / Viognier (85/15%)	502,3 ± 1,45 b	2,312 ± 0,16 b

(\*) Antocianos Totales expresados en mg/l de malvidina

(\*\*) Taninos Totales expresados en g/l de catequina

Letras iguales en la misma columna indican que no existe diferencia estadística significativa a un nivel de significancia del 5% de acuerdo con el test de Tukey.

**Cuadro 4. Análisis químicos y físicos mezcla Syrah / Viognier.**

Tratamiento	pH	Grado Alcohólico	Viscosidad *
<b>Viognier (100%)</b>	<b>3,29 ± 0,01 a</b>	<b>13 ± 0,1 a</b>	<b>13,4 ± 0,3 a</b>
<b>Syrah (100%)</b>	<b>3,4 ± 0,00 a</b>	<b>13,5 ± 0,0 a</b>	<b>13,8 ± 0,4 a</b>
Syrah / Viognier (95/5%)	3,4 ± 0,00 a	13,5 ± 0,0 a	13,7 ± 0,2 a
Syrah / Viognier (90/10%)	3,39 ± 0,01 a	13,5 ± 0,1 a	13,8 ± 0,3 a
Syrah / Viognier (85/15%)	3,39 ± 0,00 a	13,5 ± 0,1 a	13,9 ± 0,3 a

(\*) Viscosidad expresada en cps (centipoise)

Letras iguales en la misma columna indican que no existe diferencia estadística significativa a un nivel de significancia del 5% de acuerdo con el test de Tukey.

Los resultados muestran que los mayores valores de antocianos corresponden a tratamientos de vino base Syrah sin o con una mínima adición de vino blanco (Viognier), así a medida que aumenta el porcentaje de vino blanco los valores van disminuyendo.

Así los valores generales de antocianos obtenidos en los análisis contrastan con los obtenidos por Garrido (2006) para la variedad Syrah, pero se acercan a los obtenidos por Shultz (2002) el cual establece valores de hasta 633 mg / l de malvidina para vinos de esta variedad. Esta diferencia se explica porque los vinos utilizados no estaban sometidos a procesos de clarificación o filtración, o bien a que son de vendimias diferentes.

Para el caso de los taninos las diferencias estadísticamente significativas se deben a la clase de vinificación que se realizan especialmente en vinos blancos los que a diferencia de las variedades tintas se fermentan sin las partes sólidas. Que los valores de taninos totales no varíen en gran magnitud especialmente entre los tratamientos de vino base y el de mayor proporción de vino blanco se debe a que la adición total de vino Viognier a la mezcla (15%) no modificó de manera significativa dicho parámetro a través de procesos de dilución.

Para el caso de la variable pH, a pesar de no existir diferencias estadísticamente significativas, los valores obtenidos por los vinos base están dentro de los rangos teóricamente establecidos para vinos tintos y blancos. Así de acuerdo a los valores obtenidos se puede observar una mínima variación del pH, lo que corrobora el efecto tampón que presenta el vino (Zoecklein *et al.*, 2001).

### **Mezcla Cabernet Sauvignon / Syrah (Ensayo 2)**

Los cuadros 5 y 6 muestran los resultados de los análisis químicos y físicos realizados a los vinos base Cabernet Sauvignon y Syrah y de las mezclas de ambos en distintas proporciones. Es posible observar que sólo en los análisis polifenólicos se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos. Los tratamientos correspondientes al vino base Cabernet Sauvignon y mezcla Cabernet Sauvignon y Syrah (90/10%) mostraron los valores más elevados en antocianos y taninos totales.

En las otras variables (pH, Grado alcohólico y Viscosidad) no se apreciaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos.

#### **Cuadro 5. Análisis polifenólicos mezcla Cabernet Sauvignon / Syrah.**

Tratamiento	Antocianos Totales *	Taninos Totales **
<b>C. Sauvignon (100%)</b>	<b>685,1 ± 6,566 a</b>	<b>3,253 ± 0,153 a</b>
<b>Syrah (100%)</b>	<b>568,2 ± 4,877 c</b>	<b>2,893 ± 0,121 b</b>
CS / Syrah (90/10%)	593,2 ± 3,62 b	3,204 ± 0,187 a
CS / Syrah (80/20%)	588,6 ± 5,961 b	3,135 ± 0,083 a
CS / Syrah (75/25%)	575,2 ± 2,334 c	3,098 ± 0,074 b

(\*) Antocianos Totales expresados en mg/l de malvidina

(\*\*) Taninos Totales expresados en g/l de catequina

Letras iguales en la misma columna indican que no existe diferencia estadística significativa a un nivel de significancia del 5% de acuerdo con el test de Tukey.

CS: Cabernet Sauvignon

**Cuadro 6. Análisis químicos y físicos mezcla Cabernet Sauvignon / Syrah.**

Tratamiento	pH	Grado Alcohólico	Viscosidad *
<b>C. Sauvignon (100%)</b>	<b>3,41 ± 0,0 a</b>	<b>14 ± 0,1 a</b>	<b>13,1 ± 0,3 a</b>
<b>Syrah (100%)</b>	<b>3,39 ± 0,01 a</b>	<b>14 ± 0,0 a</b>	<b>13,1 ± 0,2 a</b>
CS / Syrah (90/10%)	3,4 ± 0,00 a	14 ± 0,0 a	13 ± 0,3 a
CS / Syrah (80/20%)	3,39 ± 0,01 a	14 ± 0,1 a	13,1 ± 0,4 a
CS / Syrah (75/25%)	3,4 ± 0,01 a	14 ± 0,0 a	13,3 ± 0,1 a

(\*) Viscosidad expresada en cps (centipoise)

Letras iguales en la misma columna indican que no existe diferencia estadística significativa a un nivel de significancia del 5% de acuerdo con el test de Tukey.

CS: Cabernet Sauvignon.

Los resultados con respecto a los antocianos se enmarcan dentro de los rangos esperados para un vino tinto. Sin embargo, la disminución del valor en los distintos niveles de mezcla puede deberse a procesos ya sea de copigmentación con otros elementos o de degradación propio de los antocianos libres. Así, Boulton (2001) señala que los procesos de copigmentación pueden estar asociados a una disminución en la absorbancia a 520 nm por la formación de nuevas moléculas, por ser estables a la decoloración con metabisulfito o por ser incoloras por efecto del pH. Por su parte, Zamora (2003) establece que los antocianos pueden sufrir procesos de degradación, combinaciones directas o bien mediadas por etanal o, su transformación en nuevos pigmentos como Piranoantocianos o Vitisinas.

Con respecto a los taninos totales, los resultados se acercan a los valores descritos por Riberau-Gayon *et al.* (1998) y Narváez (2011) para vinos tintos. Las diferencias estadísticamente significativas entre los vinos base se explican por los distintos niveles de taninos que presentan los vinos tintos de diferentes variedades, lo que se debe a las distintas prácticas (maceración y remontajes) que se realizan durante la vinificación y que se diferencian de acuerdo al momento y duración de las mismas, al igual que las diferencias varietales. Entre los tratamientos de mezcla, la diferencia estadísticamente significativa del tratamiento 5 con respecto a los demás puede deberse a procesos de copigmentación con antocianos o procesos de polimerización (Boulton, 2001; Garrido, 2006).

Estudios realizados por Lawless *et al.*, (1996); Demiglio *et al.*, (2002); Demiglio y Pickering (2008) y Obrequé Slier *et al.*, (2010 y 2011), demostraron que ciertas condiciones del medio vínico pueden influir en la capacidad de los taninos para unirse a las proteínas y, por ende, modificar la percepción de la astringencia. Tales autores establecieron que cambios en los niveles de etanol y pH modifican de manera significativa la percepción de astringencia, cualidad imprescindible en la calidad organoléptica de los vinos tintos. No obstante lo anterior, en los tratamientos no se aprecian diferencias de importancia en la magnitud de los valores de grado alcohólico y pH, que pudiesen generar un efecto sobre la percepción de astringencia en los vinos.

## Análisis de polisacáridos

### Análisis de polisacáridos mezcla Syrah / Viognier

Los Cuadros 7 y 8 muestran los resultados de los análisis de polisacáridos presentes en los tratamientos correspondientes al ensayo 1 con respecto a la concentración de polisacáridos presentes en cada tratamiento además de su separación según su peso molecular. Para el contenido total de polisacáridos existen diferencias estadísticamente significativas tanto entre los vinos base como en los tratamientos de mezcla, siendo los tratamientos de Syrah (100%) y la mezcla Syrah / Viognier los que presentaron los mayores valores, notándose claramente una tendencia hacia la baja de los valores totales a medida que aumenta el nivel de mezcla.

**Cuadro 7. Análisis de Polisacáridos mezcla Syrah / Viognier.**

Tratamiento	Contenido Total Polisacáridos *
<b>Syrah (100%)</b>	<b>1,8347 ± 0,0234 a</b>
<b>Viognier (100%)</b>	<b>0,2186 ± 0,0312 d</b>
Syrah / Viognier (95/5%)	0,9843 ± 0,0295 b
Syrah / Viognier (90/10%)	0,9086 ± 0,0131 b
Syrah / Viognier (85/15%)	0,7312 ± 0,0385 c

(\*) Valor expresado en g/l

Letras iguales en la misma columna indican que no existe diferencia estadística significativa a un nivel de significancia del 5% de acuerdo con el test de Tukey.

La magnitud de la diferencia entre el contenido total de polisacáridos del vino blanco del cv. Viognier y el vino tinto cv. Syrah fue de ~ 1:8. La diferencia significativa entre los tratamientos correspondientes a los vinos base está avalado por la literatura. Blouin y Peynaud (2004) han establecido que las diferencias en la forma de vinificar un vino de cepa blanca con respecto a una cepa tinta establece marcadas diferencias en su composición, especialmente en lo que dice relación a los niveles de compuestos fenólicos. Estas diferencias se enmarcan en procesos como maceración ya sea pre o post fermentativa, tratamientos de vinificación (remontaje). En vinos de cepas tintas estos procesos se ven maximizados debido a la necesidad de favorecer la extracción de compuestos fenólicos como los taninos, componente indispensable dentro del concepto de calidad en un vino tinto.

Con respecto a los tratamientos de mezcla, solo el último tratamiento correspondiente a Syrah / Viognier (85/15%), obtuvo una diferencia estadísticamente significativa respecto a los otros dos tratamientos con mezcla, lo que se debe a una mayor proporción de vino blanco, lo que implica procesos de dilución que generan una disminución de los niveles de polisacáridos presentes en los tratamientos. Riberau-Gayon *et al.*, (1998) establecieron que la solubilidad de los polisacáridos varía de acuerdo no sólo al tipo de polisacárido sino a las características como proporción agua – alcohol y ácidos presentes en la solución. Esta disminución en los valores de contenido total de polisacáridos en tratamientos de mezcla se puede deber también a que el análisis solo toma en cuenta los polisacáridos libres y por tanto existe cierta proporción de polisacáridos que se encuentran asociados a otros

compuestos como antocianos o taninos lo que se magnifica al realizar las mezclas y cambia la proporción de los vinos base y modificador.

Flanzy (2003) establece que la presencia de enzimas como la pectinasas tanto en mosto como en vino pueden favorecer los procesos de hidrólisis de polisacáridos generando estructuras de menor peso molecular y que son más susceptibles a procesos de solubilidad.

Con respecto a su separación según tipo y peso molecular (Cuadro 8), los vinos base muestran mayor proporción de polisacáridos de bajo peso molecular (polisacáridos ácidos y oligosacáridos). Asimismo, los resultados muestran un cambio en la proporción, disminuyendo los niveles de polisacáridos de alto y bajo peso molecular (polisacáridos neutros y oligosacáridos), aumentando la proporción de polisacáridos de peso molecular medio (polisacáridos ácidos).

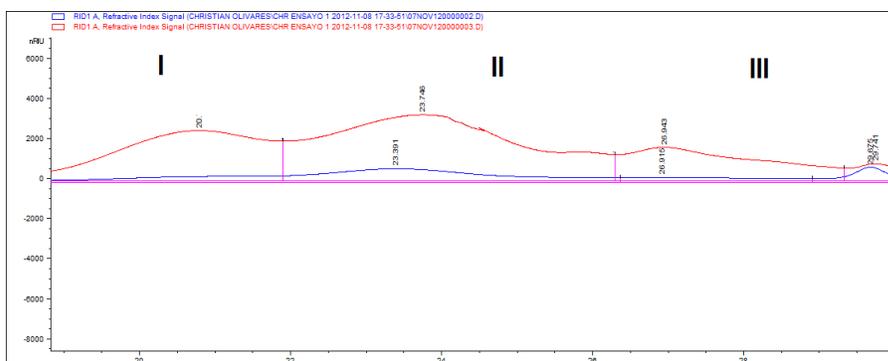
**Cuadro 8. Análisis fraccionamiento polisacáridos mezcla Syrah / Viognier.**

Fracción	Syrah	Viognier	S/V (95/5%)	S/V (90/10%)	S/V (85/15%)
Polisacáridos neutros *	22,5 %	19,1 %	21 %	20,3 %	15,2 %
Polisacáridos ácidos *	44 %	21,9 %	47 %	48 %	58,7 %
Oligosacáridos *	33,5 %	59 %	32 %	31,7 %	26,1 %

(\*) Polisacáridos neutros: > 22800 Dalton; Polisacáridos ácidos: 6000 – 22800 Dalton; Oligosacáridos: < 6000 Dalton (Ayestaran *et al.*, 2004).

S/V: Syrah / Viognier.

La Figura 1 muestra las diferencias entre las distintas fracciones entre un vino Syrah (línea Roja) y un vino Viognier (línea azul).



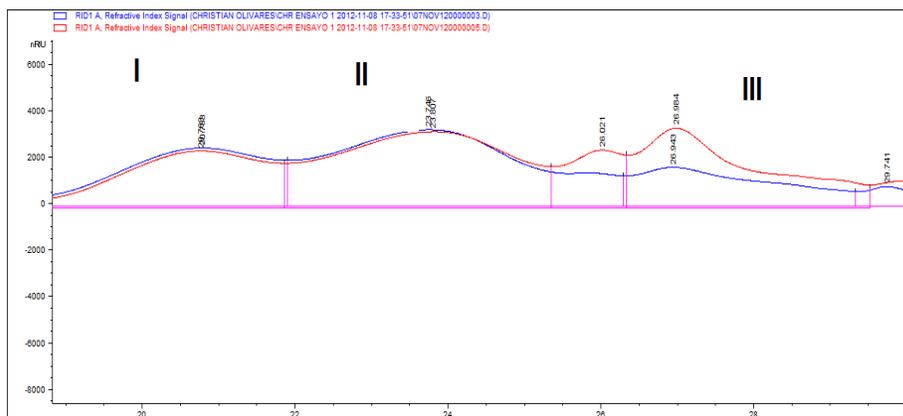
**Figura 1. Fracciones de polisacáridos (I: Neutros; II: Ácidos; III: Oligosacáridos) de los vinos base Syrah (100%) (----) y Viognier (100%) (----), obtenidas mediante un análisis cromatográfico por HPLC-IR.**

Esta diferencia entre las fracciones de polisacáridos de vinos base se debe principalmente a la forma de vinificar ambos vinos. En vinos blancos no existe maceración del mosto con

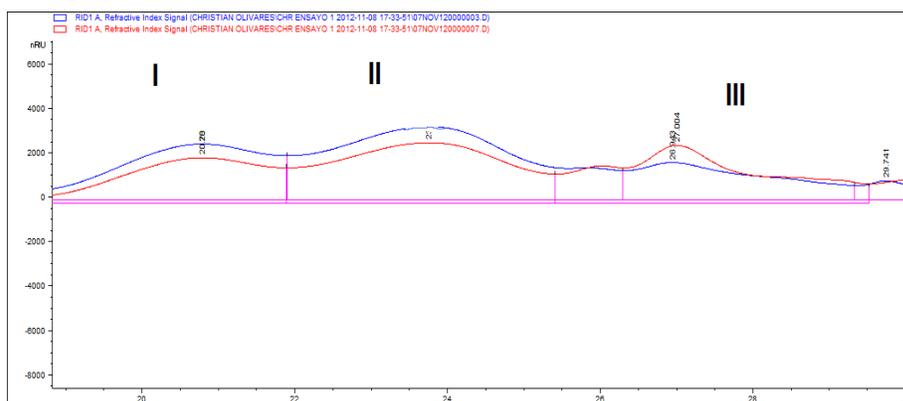
partes sólidas, favoreciendo de esa forma la no extracción no sólo de compuestos fenólicos sino que también de polisacáridos de estructura (pectinas).

Los polisacáridos presentes en mínima proporción en vinos blancos corresponden principalmente a manoproteínas derivadas de las paredes celulares de las levaduras usadas durante el proceso de fermentación alcohólica y algunos polisacáridos estructurales obtenidos durante el proceso de prensado.

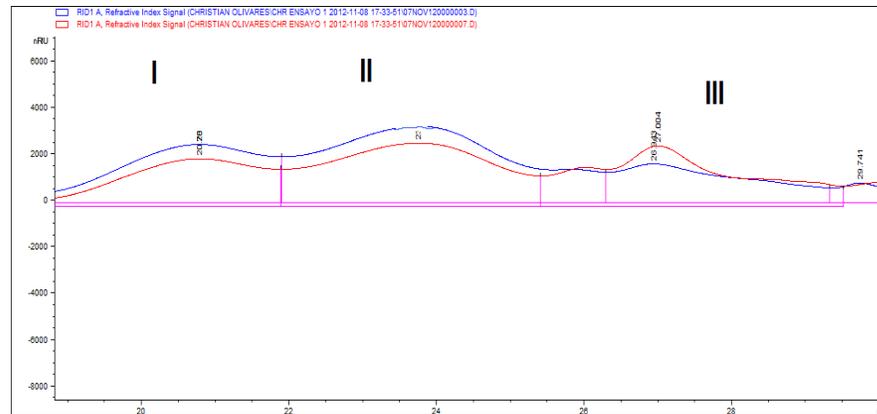
Las figuras 2, 3 y 4 muestran la relación entre las fracciones de polisacáridos presentes en el vino base Syrah y los tratamientos de mezcla.



**Figura 2. Fracciones de polisacáridos (I: Neutros; II: Ácidos; III: Oligosacáridos) vino Syrah (----) vs mezcla Syrah / Viognier (95/5%) (----), obtenidas mediante un análisis cromatográfico por HPLC-IR.**



**Figura 3. Fracciones de polisacáridos (I: Neutros; II: Ácidos; III: Oligosacáridos) vino Syrah (----) vs mezcla Syrah / Viognier (90/10%) (----), obtenidas mediante un análisis cromatográfico por HPLC-IR.**



**Figura 4. Fracciones de polisacáridos I: Neutros; II: Ácidos; III: Oligosacáridos) vino Syrah (----) vs mezcla Syrah / Viognier (85/15%) (----), obtenidas mediante un análisis cromatográfico por HPLC-IR.**

Los resultados obtenidos en los tratamientos de mezclas muestran una disminución no sólo del contenido total de polisacáridos sino que también de las fracciones de polisacáridos de alto y bajo peso molecular, y un aumento de polisacáridos de peso molecular medio (polisacáridos ácidos), lo que muestra la presencia de procesos de dilución e hidrólisis de polisacáridos a medida que aumenta la proporción de vino blanco (Viognier).

En resumen, los resultados del fraccionamiento de polisacáridos realizados a los tratamientos de mezcla determinaron una modificación de las fracciones con respecto al vino base, aumentando la fracción correspondiente a polisacáridos del tipo ácido, a medida que aumenta el porcentaje de vino Viognier agregado al vino base. Para Vidal *et al.* (2004), estos resultados implicarían una reducción de la astringencia y una modificación polifenólica del vino final.

### **Análisis polisacáridos mezcla Cabernet Sauvignon / Syrah**

Los cuadros 9 y 10 muestran los resultados de los análisis de polisacáridos presentes en los tratamientos correspondientes al ensayo 2 (Cabernet Sauvignon / Syrah) con respecto a la cantidad de polisacáridos presentes en cada tratamiento además de su fraccionamiento o clasificación según su peso molecular.

**Cuadro 9. Análisis de polisacáridos mezcla Cabernet Sauvignon / Syrah.**

Tratamiento	Contenido Total Polisacáridos *
<b>C.Sauvignon (100%)</b>	<b>3,2832 ± 0,0183 a</b>
<b>Syrah (100%)</b>	<b>1,5212 ± 0,0345 d</b>
C.Sauvignon / Syrah (90/10%)	2,2421 ± 0,0265 b
C.Sauvignon / Syrah (80/20%)	1,9433 ± 0,0286 b
C.Sauvignon / Syrah (75/25%)	1,7621 ± 0,0398 c

(\*) Valor expresado en g/l

Letras iguales en la misma columna indican que no existe diferencia estadística significativa a un nivel de significancia del 5% de acuerdo con el test de Tukey.

En cuanto al contenido total de polisacáridos, los resultados muestran una diferencia estadísticamente significativa entre los vinos base. Con respecto a los tratamientos de mezclas, solamente el último tratamiento (Cabernet Sauvignon / Syrah 75/25%) mostró una diferencia estadísticamente significativa con respecto a los tratamientos de mezcla y vinos base.

En los tratamientos de mezclas, el último tratamiento CS / Syrah (75/25%) presentó una diferencia estadísticamente significativa, generando un aumento del contenido total de polisacáridos con respecto al que posee el vino modificador (Syrah), pero con solo la mitad del contenido total de polisacáridos del vino base Cabernet Sauvignon. Estos resultados permiten postular que al agregar un vino modificador al vino base, se pueden generar procesos de dilución que pueden generar una disminución del contenido de polisacáridos presentes en el vino resultante, la intensidad de dicha pérdida, dependerá de la proporción del vino modificador.

Sin embargo, esta disminución del valor no puede interpretarse como una pérdida neta de polisacáridos, debido a que la prueba mide solamente los polisacáridos libres sin tomar en cuenta los polisacáridos que forman parte de procesos como copigmentación (unión de polisacáridos y antocianos) o bien formación de compuestos ternarios (tanino-proteína-polisacáridos) que pueden generar procesos de reducción de la astringencia.

A pesar de que la diferencia entre los tratamientos de los vinos base es menor con respecto al ensayo 1, es suficiente para ser estadísticamente significativa. Esto se debería principalmente a la composición polifenólica y de polisacáridos propia de cada cepa. Los valores de ambos tratamientos (vinos base tanto en el ensayo 1 como en el ensayo 2) validan los establecidos por Flanzky (2003), quien estableció que los polisacáridos se encuentran en el vino en concentraciones que varían entre 0,2 y 2,0 g/L.

En el vino, los polisacáridos son originados por distintas fuentes. Algunos provienen de la degradación enzimática de las paredes celulares de las bayas de uva durante su maduración, otros derivan de los tratamientos de vinificación y otros se obtienen de las paredes de las levaduras durante la fermentación alcohólica. Junto a los polifenoles y proteínas, los polisacáridos forman uno de los mayores grupos de macromoléculas en el vino (Flanzky, 2003).

Por tanto, las diferencias entre las concentraciones de polisacáridos de las diferentes cepas, especialmente las tintas, puede deberse a las distintas técnicas utilizadas durante el proceso de vinificación. Cada cepa se maneja de forma distinta, utilizando para ello diversas técnicas como maceraciones, remontajes o utilización de levaduras nativas o comerciales.

El cuadro 10 muestra los resultados de los análisis de fraccionamiento de polisacáridos en los tratamientos de mezclas C. Sauvignon / Syrah.

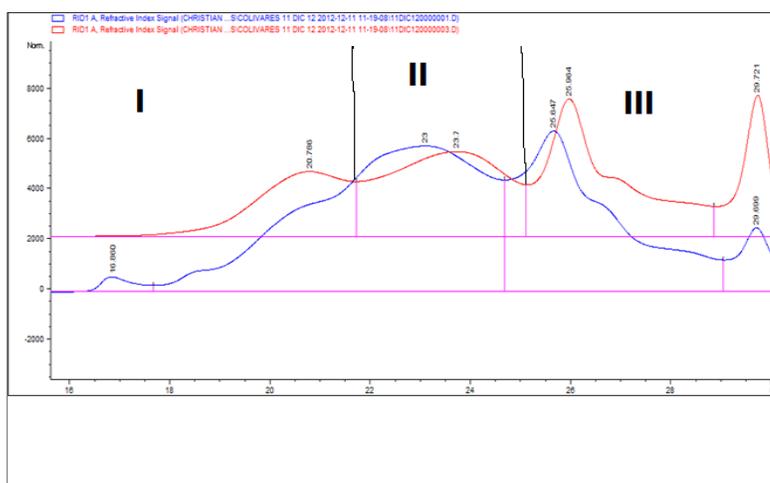
**Cuadro 10. Análisis fraccionamiento polisacáridos en mezcla C.Sauvignon / Syrah.**

Fracción	CS	Syrah	CS/S (90/10%)	CS/S (80/20%)	CS/S (75/25%)
Polisacáridos neutros *	<b>47 %</b>	<b>21,4 %</b>	38,9 %	33 %	28 %
Polisacáridos ácidos *	<b>17,5 %</b>	<b>45,1 %</b>	26 %	29,3 %	33,1 %
Oligosacáridos *	<b>35,5 %</b>	<b>33,5 %</b>	35,1 %	37,7 %	38,9 %

(\*) Polisacáridos neutros: > 22800 Dalton; Polisacáridos ácidos: 6000 – 22800 Dalton; Oligosacáridos: < 6000 Dalton

CS / S: Cabernet Sauvignon / Syrah

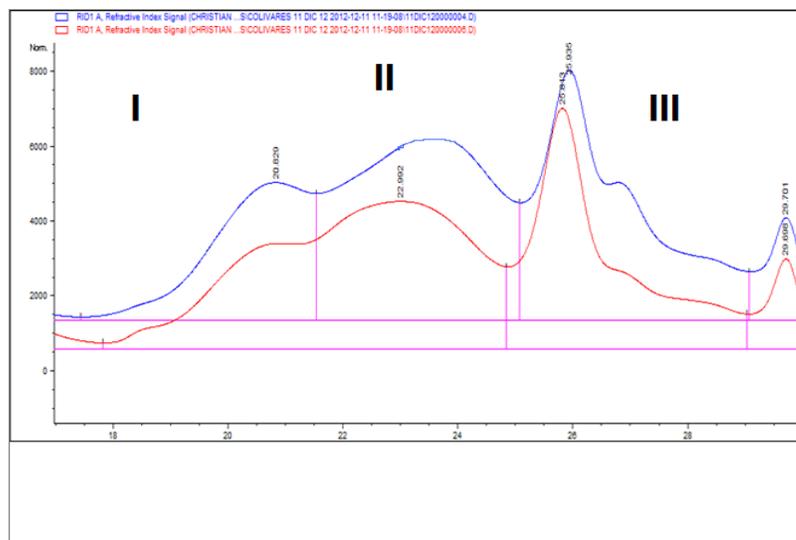
Las figuras 5, 6, 7 y 8 muestran las graficas de diferencia de las distintas fracciones de polisacáridos entre el vino base principal y los distintos tratamientos de mezcla.



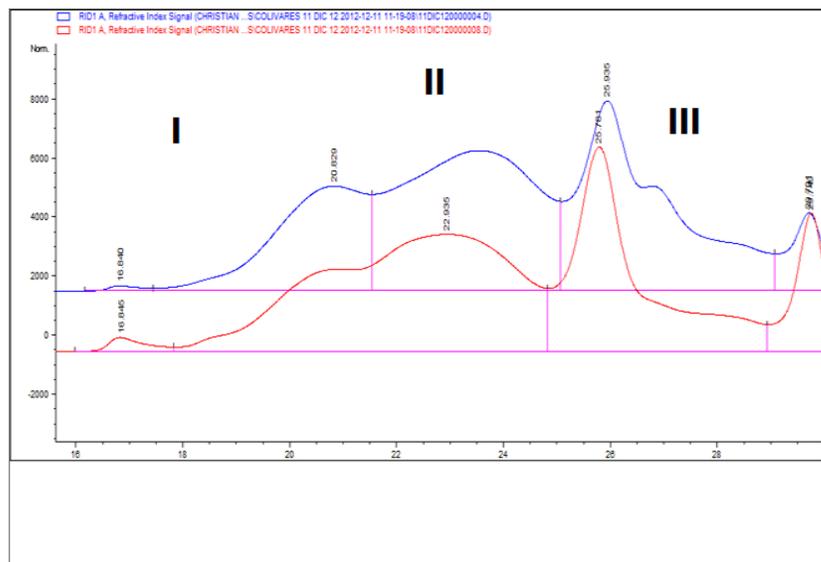
**Figura 5. Fracciones de polisacáridos (I: Neutros; II: Ácidos; III: Oligosacáridos) en vinos base Cabernet Sauvignon (100%) (---) y Syrah (100%) (---), obtenidas mediante un análisis cromatográfico por HPLC-IR.**

Dentro de los polisacáridos derivados de la degradación enzimática de las paredes celulares de las bayas de uva se encuentran hemicelulosas y pectinas. Las pectinas están constituidas de azúcares ácidos como el ácido galacturónico y azúcares neutros como la ramnosa, galactosa y arabinosa. De este modo, el carácter ácido o neutro de un polisacárido depende del tipo de azúcares con los que estén constituidos. Uno de los polisacáridos pécnicos más abundantes son los ramnagalacturonanos. Además, se encuentran polisacáridos simples

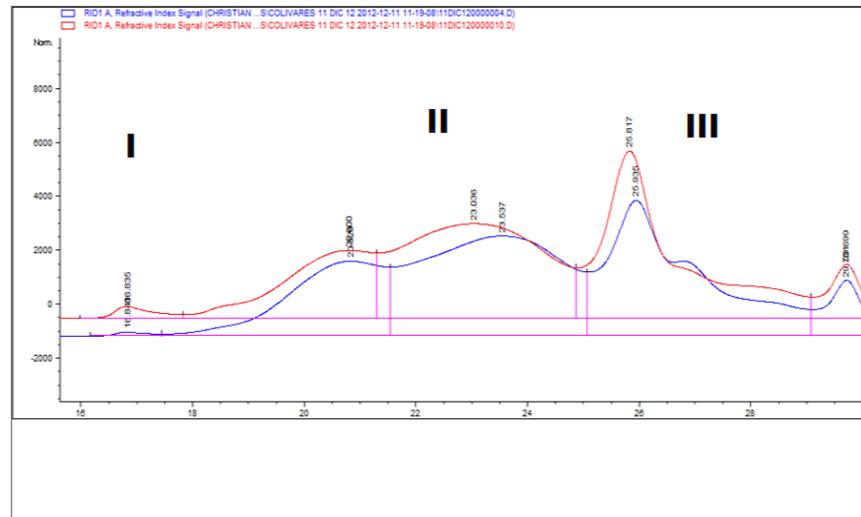
como los homogalacturonanos, arabinogalactanos y arabinogalactanos unidos a proteínas (Flanzy, 2003; Taiz, 2006).



**Figura 6.** Fracciones de polisacáridos (I: Neutros; II: Ácidos; III: Oligosacáridos) en vino base Cabernet Sauvignon (100%) (----) y en mezcla CS / Syrah (90/10%) (----), obtenidas mediante un análisis cromatográfico por HPLC-IR



**Figura 7.** Fracciones de polisacáridos (I: Neutros; II: Ácidos; III: Oligosacáridos) en vino base Cabernet Sauvignon (100%) (----) y en mezcla CS / Syrah (80/20%) (----), obtenidas mediante un análisis cromatográfico por HPLC-IR



**Figura 8. Fracciones de polisacáridos (I: Neutros; II: Ácidos; III: Oligosacáridos) en vino base Cabernet Sauvignon (100%) (----) y en mezcla CS / Syrah (75/25%) (----), obtenidas mediante un análisis cromatográfico por HPLC-IR.**

En los tratamientos de mezclas, los resultados muestran un cambio en las fracciones de polisacáridos en el vino final, con respecto al vino Cabernet Sauvignon. Así, a medida que aumenta la adición de vino Syrah se produce un aumento de la fracción correspondiente a los polisacáridos del tipo ácido, disminuyendo en forma importante la fracción correspondiente a los polisacáridos de mayor peso molecular (neutros).

Este cambio en la fracciones de polisacáridos se pueden originar, al igual que en el ensayo 1, a procesos de hidrólisis que destruyen los enlaces glucosídicos que unen los monosacáridos, generando polisacáridos más pequeños y de menor peso molecular (Zamora, 2003). Los resultados de los tratamientos de vinos bases confirman los resultados de numerosos autores que señalan que cada cepa, ya sea de vinos tintos o blancos, posee diferencias en los elementos macromoleculares y que, por ende, afectan la calidad organoléptica del vino (Gawel, 1998; Shultz, 2002; Zamora, 2003; Riberau-Gayon *et al.*, 2006)

Dols-Lafargue *et al.*, (2007) establecieron que los polisacáridos neutros como arabinogalactanos (AGP 's) y los ácidos como los Raminogalacturanos I y II (RG I y RG II) pueden modificar o interrumpir la agregación de taninos en el vino, lo que implica una disminución en la percepción de astringencia, aspecto esencial dentro de la calidad de un vino.

Se ha demostrado así que las diferentes clases de polisacáridos pueden modificar o interrumpir la agregación de taninos en el vino, lo que disminuiría la percepción de astringencia. Esta condición es importante, ya que generaría un equilibrio coloidal, evitando la precipitación de moléculas como taninos y la inestabilidad del vino. Esta característica es

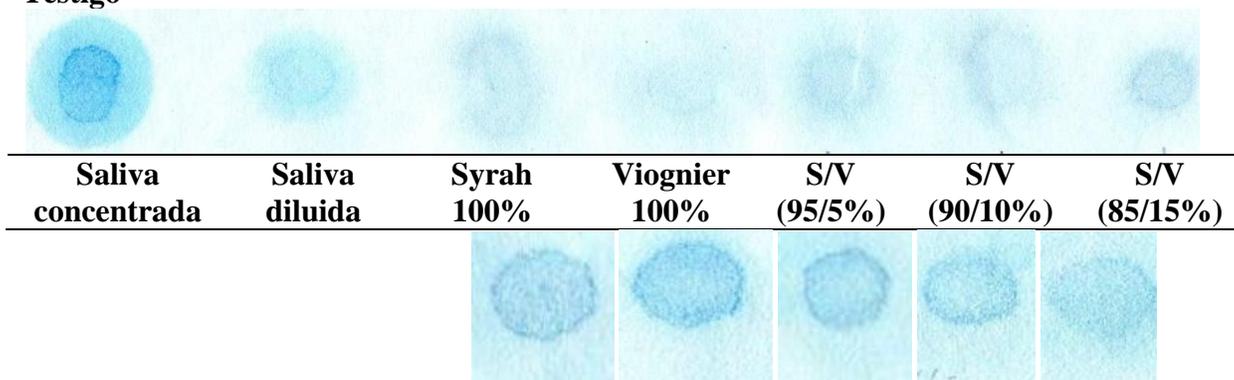
comúnmente considerada como un parámetro clave en las propiedades sensoriales del vino (De Freitas y Mateus 2001). Es importante destacar que la estructura de los polisacáridos puede tener una incidencia directa sobre las propiedades fisicoquímicas de los vinos y por lo tanto en su calidad y característica organoléptica (Doco *et al.*, 2007).

### Análisis de difusión y precipitación

#### Análisis de difusión mezcla Syrah / Viognier

La figura 9 muestra los resultados de los análisis de difusión para los vinos base y las mezclas de Syrah / Viognier en sus distintas proporciones.

#### Testigo



**Figura 9.- Análisis de difusión mezcla Syrah / Viognier. En primera línea se observan los testigos correspondientes a saliva concentrada, saliva diluida en agua (1:15) y los tratamientos de vinos y mezclas. La segunda línea muestra los tratamientos en proporción 1:15 con saliva.**

Las muestras testigo correspondiente a la saliva humana (saliva concentrada y diluida) usada en las pruebas de difusión y precipitación muestran, gracias al uso del Coomassie Blue, una clara distribución bifásica, conformada por una fracción de proteína no difusible ubicada al centro del punto de inyección sobre la membrana de celulosa, rodeada por una fracción de proteína difusible de un tono un poco más claro que el punto central. Dicha distribución se aprecia más claramente en la saliva concentrada que en la muestra de saliva diluida en agua. Para el resto de los testigos (vinos base, modificador y mezclas) se aprecia una leve coloración de forma radial alrededor del punto de contacto sobre la matriz de celulosa.

La prueba de difusión permite establecer que la mezcla de 60  $\mu$ L de saliva en las muestras de vino base, modificador y mezclas permitió una mayor condensación de la fracción no difusible sobre la matriz de celulosa, desapareciendo en su totalidad la fracción difusible.

Solo en el tratamiento de mezcla Syrah / Viognier (85/15%) se aprecia una leve banda de fracción difusible de proteína rodeando a la fracción no difusible, sin embargo esta observación puede ser considerado solo como un efecto del secado de las muestras. La observación visual de los resultados son similares a los descritos por Obreque-Slier *et al.*, (2010, 2011) en muestras con valores de pH de 3 a 3,5 y niveles de etanol de 14%, características propias de los vinos utilizados para este ensayo.

El cuadro 11 muestra los resultados del diámetro del área de difusión en las muestras testigos y tratamientos.

**Cuadro 11. Área de Difusión**

Tratamientos	Testigo (*)	c/saliva (*)
<b>Syrah</b>	<b>2,12 ± 0,01 a</b>	<b>2,11 ± 0,002 a</b>
<b>Viognier</b>	<b>2,09 ± 0,005 a</b>	<b>2,1 ± 0,01 a</b>
S/V (95/5%)	2,07 ± 0,01a	2,06 ± 0,01 a
S/V (90/10%)	2,07 ± 0,0 a	2,07 ± 0,02 a
S/V (85/15%)	2.04 ± 0,02 a	2,06 ± 0,01 a

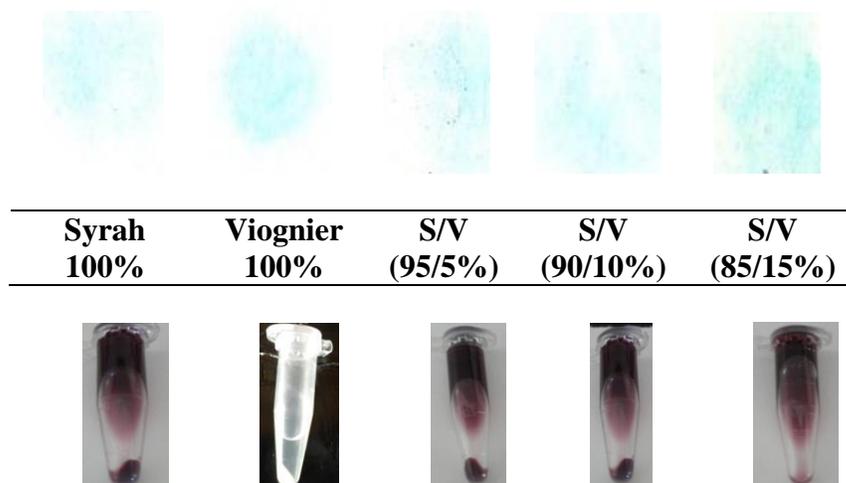
Letras iguales en la misma columna indican que no existe diferencia estadística significativa a un nivel de significancia del 5% de acuerdo con el test de Tukey.

(\*) Valores expresados en cm/pixeles

Estos resultados no muestran una diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos tanto en las muestras testigo como en los tratamientos con saliva, siendo mínimas las diferencias de área en las muestras analizadas. Los tratamientos correspondientes a los vinos base (Syrah y Viognier) presentan un mayor tamaño de la fracción con respecto a los testigos, en el caso del tratamiento de mezcla Syrah / Viognier (85/15%) presento el menor valor con respecto al área de difusión.

### Análisis de precipitación mezcla Syrah / Viognier

La figura 10 muestra los resultados de los análisis de precipitación para los vinos base y las mezclas de Syrah / Viognier en sus distintas proporciones.



**Figura 10.- Análisis de Precipitación mezcla Syrah / Viognier. La primera línea muestra la reacción del sobrenadante de los tubos del ensayo de difusión, posterior a una centrifugación, sobre la membrana de celulosa. La segunda línea muestra los tubos donde se aprecia el material precipitado.**

La prueba de precipitación permite apreciar la interacción entre las proteínas y los taninos presentes en la muestra. La intensidad de la coloración en la membrana de celulosa es muestra de la presencia de proteína, lo que se complementa con el registro de los sedimentos apreciados en los tubos de ensayo propios de la precipitación del complejo tanino – proteína.

La observación visual permite apreciar que los tratamientos correspondiente al vino base Viognier y al tratamiento de mezcla Syrah / Viognier 85/15% presentan una mayor intensidad de coloración sobre la membrana de celulosa lo que se complementa con una menor cantidad de sedimento en el tubo. El tratamiento correspondiente al vino base Syrah es el que presenta una menor coloración y por ende una mayor cantidad de sedimento en el tubo lo que implica una mayor interacción tanino-proteína dado por el mayor nivel de taninos presentes en esta cepa.

El cuadro 12 muestra los resultados de la intensidad de la precipitación analizados a través del software IMAGE 1.42J.

**Cuadro 12. Intensidad de Precipitación**

Tratamientos	Intensidad Precipitación
<b>Syrah</b>	<b>230,2 ± 0,002 a</b>
<b>Viognier</b>	<b>211,1 ± 0,01 a</b>
S/V (95/5%)	226,2 ± 0,01 a
S/V (90/10%)	216,7 ± 0,02 a
S/V (85/15%)	203,2 ± 0,01 b

Letras iguales en la misma columna indican que no existe diferencia estadística significativa a un nivel de significancia del 5% de acuerdo con el test de Tukey.

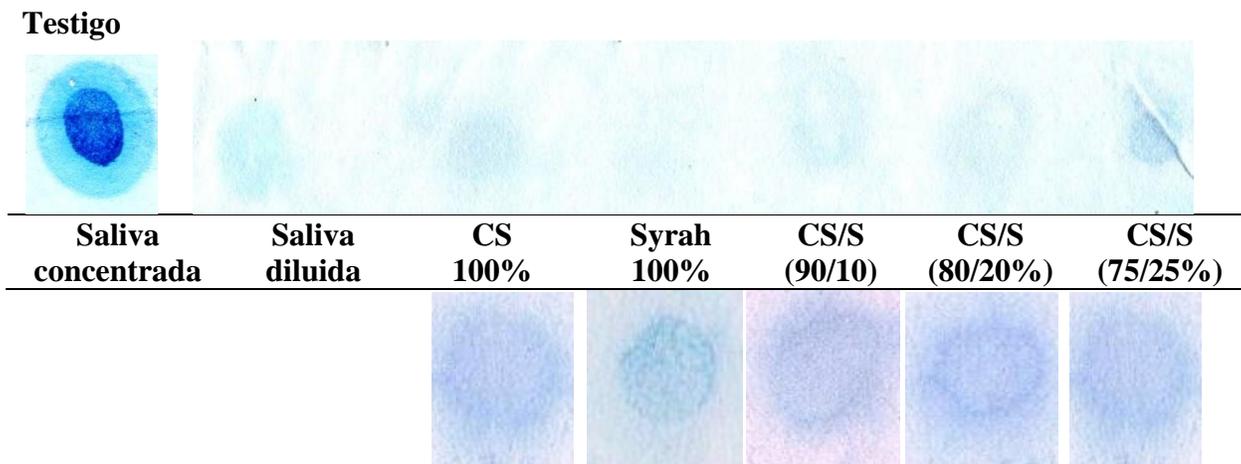
S/V: mezcla Syrah / Viognier.

Estos resultados muestran que solo el tratamiento de mezcla Syrah / Viognier (85/15%) presenta una diferencia estadísticamente significativa en relación a los demás tratamientos, presentando el menor valor en lo que respecta a la intensidad de la coloración en la membrana de celulosa. Estos resultados coinciden en parte con los obtenidos en la observación visual de los tubos.

Los menores valores presentados por los tratamientos tanto de vino modificador Viognier (100%) como de mezcla Syrah / Viognier (85/15%) se debe no sólo a los bajos niveles de taninos que presentan sino que también a los niveles de polisacáridos que de acuerdo a los diferentes autores antes descritos han demostrado que interfieren con la interacción tanino – proteína evitando su agregación y precipitación. Por el contrario, el tratamiento de vino base Syrah (100%) al contar con un mayor nivel de taninos, a pesar de su alto nivel de polisacáridos; permite una mejor interacción lo que se traduce en una menor coloración de la membrana de celulosa y una mayor precipitación en el tubo.

### Análisis de difusión mezcla Cabernet Sauvignon / Syrah

La figura 11 muestra los resultados de los análisis de difusión para los vinos base y mezclas en distintas proporciones del ensayo 2 (Cabernet Sauvignon / Syrah).



**Figura 11.- Análisis de Difusión mezcla Cabernet Sauvignon / Syrah. En primera línea se observan los testigos correspondientes a saliva concentrada, saliva diluida en agua (1:15) y los tratamientos de vinos y mezclas. La segunda línea muestra todos los tratamientos en proporción 1:15 con saliva humana.**

Las muestras testigo establecen que solo la saliva concentrada muestra un patrón de difusión bifásica, a diferencia de la saliva diluida que solo muestra una coloración radial un poco más intensa que los testigos correspondientes a los vinos base y mezclas.

La observación visual de la prueba de difusión muestra claramente una distribución radial muy marcada de la fracción de proteína no difusible en la totalidad de los tratamientos salvo el tratamiento correspondiente a las mezclas Cabernet Sauvignon / Syrah 90/10% y 80/20% donde se aprecia un pequeño halo correspondiente a la fracción de proteína difusible. Con respecto a su tamaño, el tratamiento de mezcla Cabernet Sauvignon / Syrah 80 /20% presenta un mayor tamaño aunque no estadísticamente significativo.

Estas diferencias en la marcación radial de los tratamientos de vino base y mezclas se debe especialmente a sus características de pH y nivel de etanol descrito por Obreque Slier *et al.*, (2010 y 2011). En estos trabajos los autores establecieron que cambios en el pH pueden generar cambios en la carga eléctrica o en la estructura de los enlaces de hidrogeno, generando una modificación de los sitios donde se produce la interacción entre los taninos y las proteínas salivares, modificando la sensación de astringencia.

El cuadro 13 muestra los resultados del análisis del área de difusión a través del software IMAGE 1.42J.

**Cuadro 13. Área de Difusión**

Tratamientos	Sin saliva (*)	Con saliva (*)
<b>Cabernet Sauvignon</b>	<b>1,94 ± 0,018 a</b>	<b>2,12 ± 0,03 a</b>
<b>Syrah (100%)</b>	<b>1,98 ± 0,05 a</b>	<b>2,09 ± 0,01 a</b>
CS/S (90/10%)	1,87 ± 0,1 a	2,06 ± 0,011 a
CS/S (80/20%)	1,89 ± 0,1 a	2,08 ± 0,02 a
CS/S (75/25%)	1,85 ± 0,02 a	2,02 ± 0,018 a

Letras iguales en la misma columna indican que no existe diferencia estadística significativa a un nivel de significancia del 5% de acuerdo con el test de Tukey.

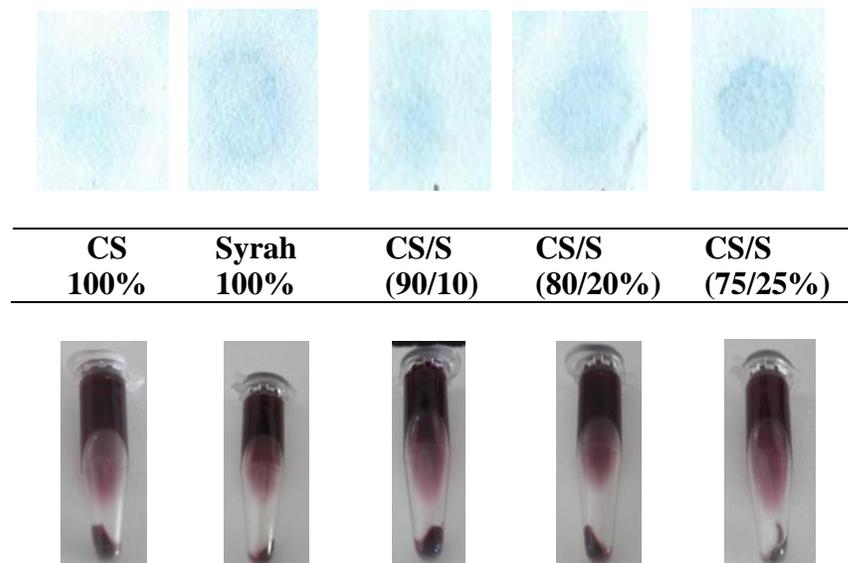
CS/S: mezcla Cabernet Sauvignon / Syrah.

(\*) Valores expresados en cm/píxeles.

Los resultados del análisis no muestran diferencias estadísticamente significativas entre los diversos tratamientos tanto en las muestras testigos (sin saliva) como en las muestras con saliva, aunque se puede observar un leve aumento del área de difusión en todos los tratamientos de las muestras con saliva con respecto a las muestras testigo, pero no estadísticamente significativa.

**Análisis de precipitación mezcla Cabernet Sauvignon / Syrah**

La figura 12 muestra los resultados de los análisis de precipitación para los vinos base y mezclas en distintas proporciones del ensayo 2 (Cabernet Sauvignon / Syrah).



**Figura 12.- Análisis de Precipitación mezcla Cabernet Sauvignon / Syrah. La primera línea muestra la reacción del sobrenadante de los tubos del ensayo de difusión, posterior a una centrifugación, sobre la membrana de celulosa. La segunda línea muestra los tubos donde se aprecia el material precipitado formado por taninos, antocianos y proteínas presentes en el vino y que reaccionan ante la presencia de proteínas salivales.**

La observación visual de la prueba de precipitación muestra una intensidad de pigmentación mayor en el último tratamiento de mezcla (Cabernet Sauvignon / Syrah 75/25%) lo que se complementa con un menor nivel de precipitación o sedimentación en el tubo. Por el contrario, el tratamiento correspondiente al vino base Cabernet Sauvignon presentó la menor coloración sobre la membrana de celulosa y por ende la mayor precipitación en el tubo.

El cuadro 14 muestra los resultados del análisis de la intensidad de la precipitación (coloración de la membrana de celulosa) a través del software IMAGE 1.42J.

#### **Cuadro 14. Intensidad de Precipitación**

Tratamientos	Intensidad Precipitación
<b>Cabernet Sauvignon</b>	<b>241,7 ± 0,02 b</b>
<b>Syrah</b>	<b>232,2 ± 0,015 b</b>
CS/S (90/10%)	238,6 ± 0,03 b
CS/S (80/20%)	226,7 ± 0,01 b
CS/S (75/25%)	216,1 ± 0,02 a

Letras iguales en la misma columna indican que no existe diferencia estadística significativa a un nivel de significancia del 5% de acuerdo con el test de Tukey.

CS/S: mezcla Cabernet Sauvignon / Syrah.

El análisis computacional de las muestras indicó sólo diferencia estadísticamente significativa en el tratamiento mezcla Cabernet Sauvignon / Syrah (75/25%) lo que corrobora lo apreciado por la observación visual de los sedimentos encontrados en el tubo.

Los resultados de las pruebas descritas anteriormente (polifenólicas y de polisacáridos) han determinado que los tratamientos de mezclas que poseen una mayor proporción de vino Syrah, presentan un menor nivel de taninos y un alto nivel de polisacáridos, lo que generaría una eventual interrupción de la formación del complejo tanino-proteína, al formar un complejo ternario de tanino – proteína – polisacárido, descrito por Mateus *et al.*, (2003), provocando una menor precipitación en el tubo.

Confirmando los resultados Candía (2012), estableció también que el uso de manoproteínas; polisacáridos derivados de la pared celular de las levaduras; compiten con los taninos por los sitios de interacción con las proteínas, interfiriendo con la interacción tanino-proteína alterando así la percepción de astringencia.

### Análisis sensorial mezcla Syrah / Viognier (Ensayo 1)

El cuadro 15 muestra los resultados del análisis sensorial del atributo astringencia realizado a los vinos base y mezclas Syrah / Viognier. Es posible apreciar que en el ensayo 1 existieron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos correspondientes a los vinos base y las mezclas realizadas, siendo el tratamiento de vino base Viognier el que presentó el menor puntaje, mientras que el tratamiento correspondiente al vinos base Syrah (100%) fue el que obtuvo la mayor puntuación.

**Cuadro 15. Análisis sensorial mezcla Syrah / Viognier**

<b>Tratamiento</b>	<b>Astringencia</b>
Syrah (100%)	<b>11,4 ± 2,84 a</b>
Viognier (100%)	<b>3,5 ± 1,35 d</b>
Syrah / Viognier (95/5%)	10,5 ± 2,09 b
Syrah / Viognier (90/10%)	9,7 ± 2,56 b
Syrah / Viognier (85/15%)	7,9 ± 1,35 c

Letras iguales en la misma columna indican que no existe diferencia estadística significativa a un nivel de significancia del 5% de acuerdo con el test de Tukey.

Con respecto a los vinos base, las diferencias significativas entre los tratamientos era esperable debido a que los vinos son sometidos a procesos de vinificación distintos. Los bajos niveles de taninos presentes en Viognier implican un nivel mínimo en la percepción de astringencia, lo que es corroborado por el panel sensorial en donde la totalidad de los jueces le otorgaron una mínima puntuación con respecto a la apreciación del atributo. En el caso de Syrah, su proceso de vinificación implica procesos de maceración antes y durante la fermentación alcohólica para favorecer la extracción de compuestos fenólicos, específicamente taninos, por lo tanto una mayor percepción en intensidad de la astringencia (Zamora, 2003; Dinnella *et al.*, 2009).

Con respecto a los tratamientos de mezcla, todos los tratamientos mostraron una diferencia significativa con respecto al tratamiento de vino Syrah (100%). Sin embargo, entre ellos, sólo el ultimo tratamiento (Syrah / Viognier 85/15%), mostró una diferencia estadísticamente significativa. Este resultado implica que a mayor proporción de vino blanco (Viognier) utilizada en el vino base generara una mayor disminución de la sensación de astringencia. Los resultados antes descritos se asemejan a los obtenidos por Garrido (2006) quien estudió el efecto de la mezcla de vinos Carmenere con Pinot Noir y Syrah con Sauvignon Blanc sobre la copigmentación, estableciendo que mezclas en altos porcentajes de Pinot Noir y bajos porcentajes en Sauvignon Blanc pueden lograr una mayor estabilidad de la materia colorante, aumentando el fenómeno de la copigmentación. También determinó que altos porcentajes de Sauvignon Blanc sobre Pinot Noir genera cambios en la composición de los fenoles.

Cabe destacar que cambios en la composición de los taninos, ya sea por pérdida a través de procesos de dilución o agregación por medio de procesos de polimerización, generarán cambios en la percepción de astringencia, los que en procesos de mezclas se verán incrementados. Así, Gawel (1998) citado por Narváez (2011), establece que una de las

causas de cambios de los niveles de astringencia en vinos tintos se refieren a cambios en la estructura y solubilidad de los taninos.

### **Análisis sensorial de mezclas Cabernet Sauvignon / Syrah (Ensayo 2)**

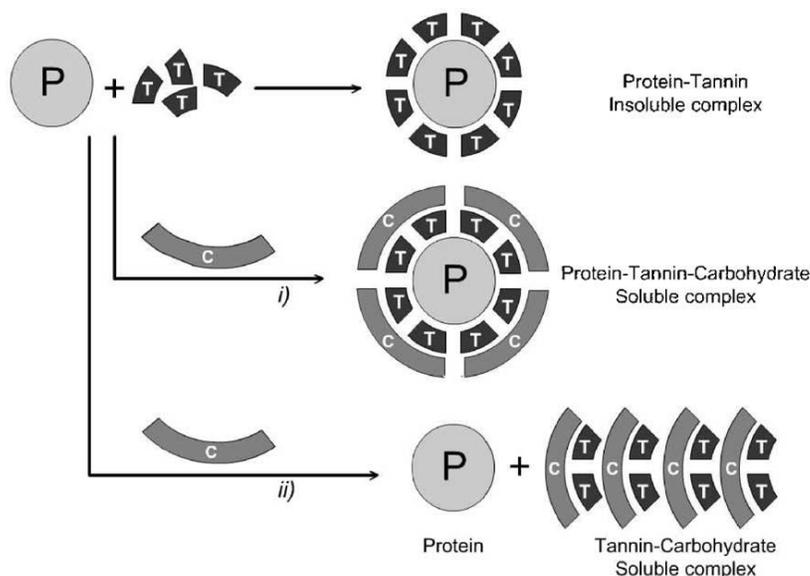
El cuadro 16 muestra los resultados del análisis sensorial del atributo astringencia realizado a los vinos base y mezclas Cabernet Sauvignon / Syrah. Es posible apreciar que en el ensayo 2 existieron diferencias estadísticamente significativas en el último tratamiento de mezclas (C. Sauvignon / Syrah 75/25%) y en el tratamiento de vino base Cabernet Sauvignon (100%). El tratamiento de mezcla Cabernet Sauvignon / Syrah 75/25% presentó el menor puntaje mientras que el tratamiento correspondiente al vino base Cabernet Sauvignon (100%) fue el que obtuvo la mayor puntuación.

**Cuadro 16. Análisis sensorial de mezclas Cabernet Sauvignon / Syrah**

<b>Tratamiento</b>	<b>Astringencia</b>
Cabernet Sauvignon (100%)	<b>13,5 ± 1,05 a</b>
Syrah (100%)	<b>11,6 ± 1,54 b</b>
CS / Syrah (90/10%)	12,2 ± 1,15 b
CS / Syrah (80/20%)	11,2 ± 1,35 b
CS / Syrah (75/25%)	9,3 ± 1,18 c

Letras iguales en la misma columna indican que no existe diferencia estadística significativa a un nivel de significancia del 5% de acuerdo con el test de Tukey.

Con respecto a los vinos base, la diferencia entre las evaluaciones se relaciona con las características que tiene cada cepa en relación al contenido de taninos, tipo de tanino y presencia de elementos que pudieran interferir la interacción tanino-proteína, como son los polisacáridos. Zamora (2003) estableció que los polisacáridos se unen a los polifenoles compitiendo con las proteínas por los sitios de enlace, evitando que se produzcan interacciones tanino-proteína e impidiendo así su precipitación. Por otra parte, Mateus *et al.*, (2004) establecieron que los polisacáridos pueden formar complejos ternarios proteína – polifenol – polisacáridos, que mejoran su solubilidad en un medio acuoso. Las uniones que forman estos complejos pueden resultar de enlaces de hidrógeno formados a través de la cooperación de un átomo de oxígeno de los polisacáridos y un grupo hidróxilo de los compuestos fenólicos, además de enlaces hidrófobos con las proteínas presentes (Figura 13).



**Figura 13. Proceso de inhibición de la agregación de taninos y proteínas por polisacáridos, este proceso consta de 2 mecanismos, en el primero (i), los polisacáridos forman con los taninos del vino y las proteínas salivales un complejo ternario soluble que evita la precipitación del complejo tanino-proteína disminuyendo así la astringencia. En el segundo mecanismo (ii) los polisacáridos compiten con las proteínas por los sitios de unión de los taninos (grupo hidroxilo), evitando la formación del complejo tanino-proteína y su posterior precipitación. P: proteínas, T: tanino, C: polisacáridos (Mateus *et al.*, 2004).**

Con respecto a los tratamientos de mezcla, la diferencia estadísticamente significativa se produce en el tratamiento que arrojó los mayores valores de contenido total de polisacáridos y los menores valores de taninos (mezcla Cabernet Sauvignon / Syrah 75/25%). Esto implica que la generación de complejos ternarios de proteína-polisacáridos-tanino o la formación de complejos polisacárido-tanino se asociarían a una disminución de la astringencia. Estos resultados también corroboran los resultados de la observación visual y el análisis computacional de la prueba de precipitación.

Cabe recordar que los procesos de mezclas producen cambios que pueden generar un aumento o disminución de algunas de las características organolépticas de los vinos. Así, por ejemplo, Vidal *et al.* (2004) determinaron que la modificación de ciertas propiedades del vino, como la viscosidad, produce un aumento en la untuosidad y sensación en boca, producida especialmente por la presencia de polisacáridos del tipo ácido cuyo nivel de viscosidad permite compensar la pérdida de lubricación en la boca. Dichas características están presentes en el último tratamiento de mezcla, aunque en el caso de la viscosidad, este tratamiento no presenta una diferencia estadísticamente significativa con respecto a los demás tratamientos, aunque si el mayor valor dentro del ensayo 2.

Monagas *et al.*, (2005a) determinaron cambios en el perfil de antocianinas y los compuestos fenólicos del vino base cv. Tempranillo al mezclarlo con vinos cvs. Graciano y Cabernet Sauvignon. Así, dependiendo del vino modificador utilizado (cvs Graciano y Cabernet Sauvignon), se logró un cambio en la intensidad del color de la mezcla resultante, el cual fue incluso perceptible al ojo humano (Monagas *et al.*, 2005b). Posteriormente, Monagas *et al.*, (2006) establecieron que en términos de compuestos fenólicos, los vinos del cv. Graciano presentaban propiedades muy similares (estructura y composición fenólica) al cv. Cabernet Sauvignon para ser utilizados para la mezcla de vinos cv. Tempranillo.

Por otro lado Avilés (2012) estudió el efecto de las mezclas de distintas proporciones de vinos cvs. Carménere, Merlot y Cabernet Franc, sobre un vino base cv. Cabernet Sauvignon, determinando que la mezcla de vinos aumentó la polimerización de taninos y la intensidad colorante de las mezclas resultantes. Este estudio también reveló que las modificaciones en la composición fenólica de los vinos y las mezclas dependen del aporte de la o las variedades adicionadas. Así, la cantidad inicial de cada variedad influye en el producto final (intensidad de la modificación fenólica). Los resultados de los análisis químicos realizados en ambos ensayos ratifican lo expuestos por los autores al establecer cambios en el perfil de antocianos y taninos de los vinos base una vez realizadas las mezclas.

Cada cepa tiene una matriz polifenólica distinta. Al realizar procesos de mezcla, esas matrices van cambiando al producirse procesos que van desde la dilución hasta la agregación de moléculas, no sólo taninos sino también polisacáridos y fenoles, modificándose atributos sensoriales como aromas, color y astringencia. Así, en ambos ensayos de nuestro estudio, la disminución de la intensidad de la astringencia se ha visto relacionada con la proporción del vino adicionado (Viognier y Syrah).

## CONCLUSIONES

Los resultados de ambos ensayos permiten concluir que el proceso de mezcla genera un cambio no sólo en las fracciones de polisacáridos sino también en su contenido total.

Para el ensayo 1 los vinos resultantes presentaron cambios en la fracciones, aumentando en casi un 15% los polisacáridos ácidos, principalmente por efectos de hidrólisis y dilución, pero con una disminución del 7% con respecto a las fracciones restantes, también existe una pérdida de casi un 30% del contenido total de polisacáridos a medida que aumenta la proporción de mezcla. Esto se manifiesta a medida que aumenta la proporción del vino blanco Viognier.

En el ensayo 2 los vinos resultantes también presentaron cambios en la proporción de las fracciones. Sin embargo, en el último tratamiento se alcanzó un vino más equilibrado entre las distintas fracciones, con una mayor proporción de polisacáridos de bajo peso molecular. Con respecto al contenido total de polisacáridos, los resultados mostraron un aumento de un 10% con respecto al vino modificador, lo que se manifiesta en una modificación en los niveles de viscosidad de los tratamientos de mezcla, aunque no alcanzaron a ser estadísticamente significativos.

Con respecto a los análisis químicos, sólo existió variación en el contenido de antocianos y taninos propio de procesos de mezcla de cepas con perfiles de antocianos y taninos distintos.

El análisis sensorial estableció que en ambos ensayos existe una disminución de la percepción de astringencia sólo en los tratamientos que presentan una mayor proporción de vino agregado (Viognier y Syrah). Estos resultados coinciden con lo observado en las pruebas de precipitación, lo que implica cambios en la interacción tanino – proteína. Las pruebas de difusión no presentaron cambios en ambos ensayos.

Por tanto, solo se acepta en parte la hipótesis de trabajo pues solo algunas fracciones experimentaron un aumento en su proporción, lo que influyó en la interacción tanino-proteína modificando la percepción de astringencia, estableciendo además una correlación positiva entre la proporción de la mezcla, los cambios en la fracción de polisacáridos y la percepción de astringencia de los vinos resultantes.

**BIBLIOGRAFIA**

- Avilés, P., 2012. Efecto de diferentes niveles de mezcla sobre la composición fenólica y propiedades sensoriales de vinos tintos. Ingeniero Agrónomo. Facultad de Ciencias Agronómicas. Escuela de Postgrado. Universidad de Chile. 65p.
- Ayestaran, B., Z. Guadalupe and D. Leon. 2004. Quantification of major grape polysaccharides (Tempranillo V.) released by maceration enzymes during fermentation process. *Analytica Chimica Acta* 513: 29-39.
- Blouin, J., E. Peynaud. 2004. *Enología práctica: conocimiento y elaboración del vino*. Ediciones MundiPrensa. España. Madrid. 352p
- Bordeu, E., J. Scarpa. 1998. *Análisis químico del vino*. Ediciones PUC. Chile. 203 p.
- Boulton R. 2001. The copigmentation of anthocyanins and its role in the color of red wine: A Critical Review. *American Journal of Enology and Viticulture* 52: 67-87.
- Candía, M., 2012. Efecto de una manoproteína sobre la interacción tanino-proteína salival. Ingeniero Agrónomo. Facultad de Ciencias Agronómicas. Departamento de Agroindustria y Enología. Universidad de Chile. 24p.
- De Freitas, V. and N. Mateus. 2001. Structural features of procyanidin interactions with salivary proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49: 940-945.
- DeMiglio, P., G. J. Pickering and A. G. Reynolds. 2002. Astringent sub-qualities elicited by red wine: the rol of ethanol and pH. In Cullen, C.W., Pickering G.J., and Phillips, R. (eds). *Proceedings of the international Bacchus to the Future Conference*, St Catherine, Ontario. 31-52.
- Dinella, C., A. Recchia, G. Fia, M. Bertolucci and E. Monteleone. 2009. Saliva characteristics and individual sensitivity of phenolic astringent stimulus. *Chem Senses* 34: 295-304.
- Doco, T., P. Williams and V. Cheynier. 2007. Effect of flash release and pectinolytic enzyme treatments on wine polysaccharide composition. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55: 6643-6649.
- Dols-Lafargue, M., E. Gindreau E, C. Le Marrec, G. Chambat, A. Heyraud and A. Lonvaud-Funel. 2007. Changes in red wine soluble polysaccharide composition induced bye malolactic fermentation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55: 9592-9599.
- Flanzy, C. 2003. *Enología: fundamentos científicos y tecnológicos*. 2da ed. Ediciones mundi-prensa, Madrid, España. 805p.

- García-Barceló, J. 1990. Técnicas analíticas para vinos. Ediciones FAB. Barcelona, España. 1713 p.
- Garrido, A. 2006. Efecto sobre la copigmentación en mezclas de vinos de las variedades carménère con pinot noir y syrah con sauvignon Blanc. Ingeniero Agrónomo. Universidad de Chile. Facultad de Ciencias Agronómicas, Departamento de Agroindustria y Enología. Santiago. Chile. 89p.
- Gawel R. 1998. Red wine astringency: a review. Australian Journal of Grape and Wine Research, 4: 74-95.
- Hidalgo, J. 2003. Tratado de enología. Ediciones Mundi-prensa. Madrid. España. 1423p.
- Ibarz, A. 2005. Operaciones unitarias en la ingeniería de alimentos. Ediciones Mundi-prensa. Madrid. España. 865p.
- Llaudy, M. 2007. Contribución al estudio de los factores que afectan la astringencia del vino tinto. Universitat Rovira i Virgili. Facultat d'enologia. Italia. 205 p.
- Lawlees H. T. J. Home and P. Giasi. 1996. Astringency of organic acid is related to pH. Chem. Sense 21: 397-403.
- Mateus, N., E. Carvalho, L. Caterina, and V. De Freitas, 2004. Influence of tannin structure on the disruption effect of carbohydrates on protein – tannin aggregates. Analytica Chimica Acta 513: 135-140.
- Monagas, M., P. J. Martin-Álvarez, C. Gomez-Cordoves and B. Bartolome. (2005a). Effect of the modifier (Graciano vs Cabernet Sauvignon) on blends of tempranillo during ageing in the bottle. I. Anthocyanins, Piranoanthocyanins and no-anthocyanin phenolics. LWT Food Science and Technology 39: 1133-1142.
- Monagas, M., P. J. Martin-Alvarez, G. Gomez-Cordoves. and B. Bartolome. (2005b). Effect of the modifier (Graciano vs Cabernet Sauvignon) on blends of tempranillo during ageing in the bottle. II. Colour and overall appreciation. LWT Food Science and Technology 40: 107-115.
- Monagas, M., V. Nuñez, B. Bartolome and G. Gomez-Cordoves. 2006. Phenolic content of blends of tempranillo with graciano or cabernet sauvignon wines produced in Spain. Food Technology and Biotechnology 44: 507-513.
- Muller, K., C. Figueroa, C. Martinez, R. Lopez-Solis, M. Medel, E. Obreque and A. Peña-Neira. 2010. Measurement of saliva volumen in the mouth of members of trained sensory panel using beetroot (*Beta vulgaris*) extract. Food Quality and Preference 21: 569-574.
- Narváez, J. 2011. Comparación de tres métodos de medición de taninos totales y su relación con la astringencia y amargor percibidos por un panel de degustación entrenado.

Ingeniero Agrónomo Magister en Enología y Vitivinicultura. Universidad de Chile. Facultad de Ciencias Agronómicas. Santiago. Chile. 118p.

Obreque, E. 2010. Caracterización fenólica de uvas del cultivar Carmenére y su relación con la reducción de astringencia. Doctor en Enología. Ingeniero Agrónomo. Universitat Rovira i Virgili. Facultat d'Enologia. 245 p.

Obreque-Slier, E., A. Peña-Neira and R. Lopez-Solis. 2010. Enhancement of both salivary protein enological tannin interactions and astringency perception by ethanol. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 58: 3729-3735.

Obreque, E., A. Peña-Neira and R. Lopez-Solis. 2011. Interactions of enological tannins with the protein fraction of saliva and astringency perceptions are affected by pH. *LWT - Food Science and Technology* 30: 1-6.

Riberau-Gayon, P., Y. Glories, A. Maujeau and D. Dubordieu. 1998. *Traité d'oenologie chimie du vin, stabilisation et traitements*. Editorial Dunod. Paris, Francia. 214-224p.

Riberau-Gayon, P., Y. Glories, A. Maujeau and D. Dubordieu. 2006. *Handbook of enology volume 2: The chemistry of wine and stabilization and treatments*. 2<sup>nd</sup> ed. John Wiley & Sons, Ltd. Chichester, Inglaterra. 441p.

Sarni-Marchado, P. V. Chaynier and M. Mouttaniet. 1999. Interaction of grape seed tannins with salivary proteins. *Journal Agricultural Food Chemistry* 47: 42-47.

Shultz, M. 2002. Evaluación de las características de uvas y vinos de las variedades Cabernet franc y Syrah para la zona de Alto Jahuel. Ingeniero Agrónomo. Universidad de Chile. Facultad de Ciencias Agronómicas. Santiago, Chile. 68 p.

Servicio Agrícola Ganadero. 1995. Decreto Ley 464. Zonificación Vitícola y Denominación de Origen. Modificado Septiembre 2005. Disponible en <http://www.sag.gob.cl/common/asp/pagAtachadorVisualizador.asp?argCryptedData=GPITkTXdhRJAS2Wp3v88hInyGENASSZA&argModo=&argOrigen=BD&argFlagYaGrabados=&argArchivoId=3734>. Leído el 30 de Octubre 2012.

Simon, C., K. Baratheiu, E. Dufourc, E. Fouquet, M. Laguerre, J. Schmitter and I. Pianet. 2003. Three-dimensional structure and dynamics of wine tannin-saliva protein complex. *Biochemistry* 42: 10385-10395.

Taiz, L., E. Zeiger. 2006. *Fisiología Vegetal*. 3era ed. Universitat Jaume. California, Los Angeles. 1338p.

Trozynska, A., O. Naroluewzka, S. Robredo, I. Estrella, T. Hernández, G. Lamparsky and R. Amarowicz. 2010. The effect of polysaccharides on the astringency induced by phenolic compounds. *Food Quality and Preference* 21: 463 -469.

Vidal, S., L. Francis, P. Williams, M. Kwiatkowsky, R. Gawell, V. Cheinier and E. Waters. 2004. The mouth – feel properties of polysaccharides and anthocyanins in a wine like medium. *Food Chemistry* 85: 519 -525.

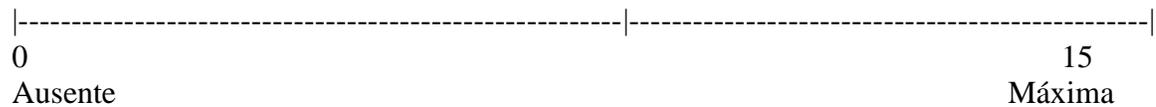
Zamora, F. 2003. *Elaboración y crianza del vino tinto: Aspectos científicos y prácticos*. AMV Ediciones. Ediciones MundiPrensa. Madrid. España. 224p.

**ANEXO 1****PAUTA DE ANÁLISIS SENSORIAL MEZCLA SYRAH / VIOGNIER (CS / SYRAH)**

Nombre:

Muestra N° \_\_\_\_\_

Por favor indique con una **línea vertical** sobre la horizontal, el punto que mejor describa el atributo de la muestra:

**ASTRINGENCIA**

OBSERVACIONES: