



Efecto del empleo de derivados de levaduras y β -glucanasas en la calidad del vino espumoso tinto de larga crianza

TRABAJO FIN DE MÁSTER
Curso: 2020/21

Alumno: Raúl Moyano Gracia
Tutor: Dr. José Manuel Rodríguez Nogales

Cotutoras: Dra. Encarnación Fernández Fernández

Dra. Josefina María Vila Crespo

Máster en Calidad, Desarrollo e Innovación de Alimentos
E.T.S. Ingenierías Agrarias, Campus de la Yutera (Palencia)
Universidad de Valladolid

Índice

	Página
0. Resumen.....	3
1. Introducción	4
1.1. Sistema de elaboración de vinos espumosos con carbónico endógeno	5
1.2. Técnicas de mejora	8
1.3. Coadyuvantes procedentes de las levaduras y β -glucanasas.....	8
2. Objetivos y plan de trabajo	11
3. Materiales y métodos	12
3.1. Protocolos de vinificación	12
3.2. Seguimiento de las fermentaciones	13
3.2.1. Seguimiento de la fermentación alcohólica	13
3.2.2. Seguimiento de la fermentación maloláctica	13
3.2.3. Seguimiento de la segunda fermentación alcohólica	14
3.3. Análisis físico-químico del mosto y del vino	14
3.4. Análisis sensorial de los vinos	16
3.5. Análisis estadístico	17
4. Resultados y discusión	18
4.1. Cinética de segunda fermentación	18
4.2. Análisis de componentes principales	19
4.2.1. Comparativa entre crianzas.....	22

EFFECTO DEL EMPLEO DE DERIVADOS DE LEVADURAS Y β -GLUCANASAS EN LA CALIDAD DEL VINO ESPUMOSO TINTO DE LARGA CRIANZA

4.3. Análisis de correspondencias simples	23
4.3.1. Comparativa entre crianzas	25
5. Conclusiones	27
Bibliografía	28

Resumen

Actualmente, los vinos espumosos tintos no son producidos en grandes cantidades debido a una serie de problemas que surgen en su proceso de elaboración, además de la dificultad de integrar de una manera adecuada las sensaciones en boca producidas por las sustancias polifenólicas presentes en los vinos tintos y el CO₂ disuelto en su interior.

En este trabajo se ha estudiado el impacto de diversos coadyuvantes tecnológicos sobre la calidad de los vinos espumosos tintos de larga crianza (21 meses). Concretamente, se realizó un análisis fisicoquímico y una caracterización sensorial de los vinos a través de un panel de consumidores. Se mostraron diferencias entre los vinos tratados mediante diferentes coadyuvantes y también entre los mismos vinos con un periodo de crianza menor (9 meses).

El tiempo de crianza fue un factor determinante en la evolución de distintos parámetros como el color o la espumabilidad.

Abstract

Sparkling red wines are currently not produced in large quantities due to a serie of problems that happen in their production process, in addition to the difficulty of properly integrating mouth sensations produced by the polyphenolic substances present in red wines and CO₂ dissolved inside.

The impact of various technological aids on the quality of long aging red sparkling wines (21 months) has been studied. Specifically, the physicochemical parameters were analyzed and they were sensory characterized through a panel of consumers. Differences were shown among the wines treated with different adjuvants and also among the same wines with a shorter aging period (9 months).

The aging time was a determining factor in the evolution of different parameters such as color or foamability.

1. Introducción

La gran variedad de vinos existentes se obtiene a partir de diferentes tipos de uva y mediante diferentes técnicas de elaboración en función del vino final. Los más conocidos son el blanco, tinto, rosado y espumoso.

En el caso de los vinos espumosos, estos se pueden clasificar en función de diversas variables, como pueden ser la variedad de uva utilizada, la zona de producción o el método de elaboración. Pero todos estos vinos tienen la característica común de poseer gas carbónico (CO_2) disuelto en su interior, que debe generar una sobrepresión mayor o igual a 3,5 atmósferas (atm). Este CO_2 puede tener su origen en la propia fermentación (endógeno) o bien ser añadido posteriormente mediante sistemas de gasificación (exógeno), siendo los vinos con CO_2 exógeno los peor valorados debido a que la burbuja no está igual de integrada y esta es de un mayor tamaño que la procedente de la fermentación (Hidalgo, 2019).

En 2018, la producción de vinos espumosos a nivel mundial alcanzó por primera vez los 20 millones de hectólitros, lo que supuso un incremento del 57% respecto a 2002. La producción de vinos espumosos en etapas previas a la crisis económica del 2008, presentaba valores superiores al 5% respecto a la producción mundial de vinos, en 2017 este valor ha llegado a situarse en un 8% (OIV, 2020), siendo Francia e Italia los países que producen casi la mitad del vino producido a nivel mundial.

En cuanto al consumo mundial, este se ha ido incrementando de forma constante, con una tasa de crecimiento anual promedio del 3% desde 2002. Este consumo se ha realizado mayoritariamente (62%) en Alemania, Francia, Estados Unidos, Rusia e Italia (OIV, 2020).

Actualmente, los vinos espumosos son producidos mayoritariamente a partir de vino blanco, aunque la elaboración de vinos espumosos tintos es una realidad que ya se está dando en el mercado. En España se producen vinos espumosos tintos con variedades como Tinta de Toro, Monastrell o Tempranillo. Otros países productores de este tipo de vino son Australia, Argentina, Italia, Portugal y Sudáfrica en los que han tenido buena aceptación por parte de los consumidores y distribuidores (Olarde et al., 2017), muestra por lo tanto de las amplias posibilidades que estos vinos pueden tener en el mercado.

Es conveniente tener en cuenta diferentes factores importantes a la hora de elaborar el vino espumoso tinto, ya que gran parte de los atributos sensoriales están directamente relacionados con el contenido polifenólico del vino (Del Llaudy et al., 2008), condicionando por tanto la vendimia ya que requiere una correcta madurez fenólica. Las

características de calidad de la espuma también se ven afectadas por las características fisicoquímicas, pues se encuentran estrechamente relacionadas (Esteruelas et al., 2015).

Dados los condicionantes, es conveniente establecer la fecha de vendimia en la que se cumplan las características tecnológicas deseadas para el vino base, que preferentemente son pH relativamente bajo, acidez total elevada y una concentración de azúcares fermentables adecuada, ya que el grado alcohólico final del vino base debe situarse en torno a 10-11% (v/v). En el caso de las uvas tintas, la madurez tecnológica suele encontrarse en contraposición a la madurez fenólica, lo que supone un aumento de la astringencia y menor extracción de color (Yuste, 2017).

Teniendo en cuenta todas estas características, surge la posibilidad de utilizar diferentes estrategias encaminadas a la obtención de un vino base adecuado para la elaboración deseada, bien mediante elaboraciones encaminadas a una mayor extracción polifenólica mediante tratamientos como maceraciones pre y post fermentativas, o bien mediante la reducción del grado alcohólico del vino base en el caso de vendimias con adecuada concentración polifenólica, pero grado alcohólico elevado.

1.1 Elaboración de vinos espumosos con gas carbónico endógeno

El proceso de elaboración de los vinos espumosos con gas carbónico endógeno se puede realizar tanto en grandes volúmenes como en pequeños, pero con dos etapas muy diferenciadas y claves para el proceso de elaboración. Una primera etapa que consiste en la obtención del vino base y una segunda en la que tiene lugar la segunda fermentación. En esta segunda etapa se obtiene la sobrepresión característica de los vinos espumosos y, además, se produce la autólisis de las levaduras, dando lugar a un proceso de crianza sobre lías. Esta última debe darse en condiciones isobáricas para evitar la pérdida de presión.

- Elaboración del vino base: Se realiza una vinificación estándar, ya sea en blanco, tinto o rosado. El producto final obtenido debe tener características de graduación alcohólica moderada y acidez total relativamente elevada.
- Segunda fermentación: El proceso comienza mediante la adición de lo que se conoce como licor de tiraje. Este se trata de una mezcla del vino base con elevada riqueza azucarada, junto con levaduras activas y coadyuvantes que

faciliten la posterior retirada de los sedimentos resultantes. La etapa clave de esta fase es la crianza sobre lías que tiene lugar una vez finalizada la fermentación, ya que, durante el proceso de autólisis, va a tener lugar una paulatina incorporación de los componentes celulares al vino. Esta fase va a producir mejoras organolépticas y fisicoquímicas en el vino. Finalmente, tras el degüelle se añade el licor de expedición, que variará en función de la riqueza azucarada deseada en el vino final.

Los métodos habitualmente más utilizados para la obtención de vinos espumosos son 3, el método charmat, el transfer y el tradicional (Hidalgo, 2019).

- Método Charmat: Utilizado por primera vez en 1912, se trata del método con volúmenes más grandes de vino, ya que todo el proceso se realiza en depósitos isobáricos. La segunda fermentación tiene lugar en estos depósitos y posteriormente se embotella tras la adición de licor de expedición si fuese necesario.
- Método transfer: A diferencia del método Charmat, la segunda fermentación tiene lugar en la botella, y posteriormente el vino es trasvasado a otra botella para la adición del licor de expedición, la estabilización y la filtración.
- Método tradicional: Por último, el método tradicional es el más ampliamente utilizado. El proceso de segunda fermentación y posterior crianza tiene lugar en la propia botella (Figura 1).

EFFECTO DEL EMPLEO DE DERIVADOS DE LEVADURAS Y β -GLUCANASAS EN LA CALIDAD DEL VINO ESPUMOSO TINTO DE LARGA CRIANZA

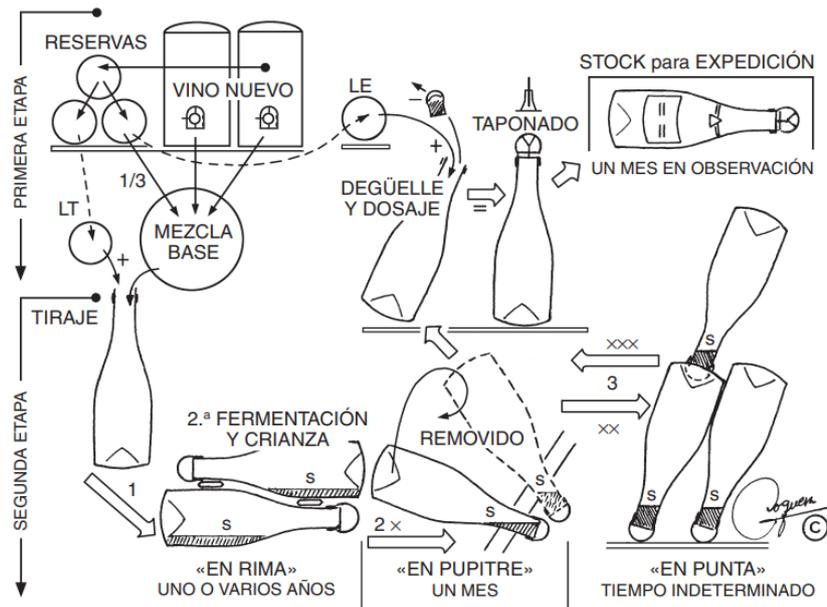


Figura 1: Diagrama de elaboración de los vinos espumosos de 2ª fermentación en botella por el método tradicional. 1, 2 y 3 fases sucesivas de crianza; LT, licor de tiraje; LE, licor de expedición; S, sedimentación de los residuos de fermentación en botella (Noguera, 1973).

El periodo de crianza es una de las fases más importantes en este tipo de elaboraciones, pues como hemos comentado, tiene lugar la autólisis de las levaduras responsables de la segunda fermentación. Esta fase puede variar su duración en función del vino final deseado, ya que el proceso de autólisis no comienza hasta 2-4 meses después de haber finalizado la fermentación alcohólica (FA) (Fornairon-Bonnefond, 2002).

De manera paulatina, en el interior de la botella se liberan al medio diferentes compuestos que favorecen la mejora organoléptica, estabilidad física, química y microbiológica del vino. Estos compuestos, son principalmente (Suárez, 2003):

- Proteínas, aminoácidos y pequeños péptidos.
- Polisacáridos, como manoproteínas.
- Ácidos grasos y sus ésteres correspondientes.
- Alcoholes volátiles, terpenos, aldehídos, lactonas y compuestos azufrados.
- Ácidos nucleicos y vitaminas.

Todos estos compuestos que forman parte de la pared celular o del contenido intracelular serán liberados en función de diversos factores, como las condiciones de almacenamiento o las características fisicoquímicas del vino (Babayán y Bezrukov, 1985).

1.2 Técnicas de mejora

Son diferentes las técnicas que se pueden utilizar con el objeto tanto de mejorar el vino base, como la calidad del vino espumoso tinto final. Pudiendo ser:

- Encaminar la elaboración del vino base hacia una mayor extracción de compuestos polifenólicos, como pueden ser maceraciones, “delestages” o uso de enzimas pectinolíticas, con el objetivo de aumentar el contenido en polifenoles (González-Lázaro et al., 2019).
- Reducción del grado alcohólico del vino base. Permite realizar la vendimia con la concentración de compuestos polifenólicos deseados sin el inconveniente del elevado grado alcohólico en el vino base. Estos procedimientos pueden ser la nanofiltración por membrana (Sainz, 2017) o la pervaporación (Asensio de la Riva, 2018).
- Uso de diferentes coadyuvantes derivados de levadura y β -glucanasas, para aumentar el contenido en componentes celulares como las manoproteínas y los β -glucanos (Rodríguez-Nogales et al., 2012).

Diversos estudios apuntan que el uso de manoproteínas purificadas, β -glucanasas y otros derivados podrían aumentar la sensación en boca, el cuerpo y dotar a los vinos de características más agradables para el consumidor (Pozo-Bayón et al., 2009, Rodríguez-Nogales et al., 2012).

1.3 Coadyuvantes procedentes de las levaduras y β -glucanasas

Se han obtenido diferentes coadyuvantes a partir de los componentes de la levadura de fermentación tales como las cortezas de levadura, las manoproteínas purificadas o las levaduras inactivas. Las manoproteínas son componentes de la pared celular (25-50%) que junto con los polisacáridos son liberados durante el periodo de autólisis y están compuestas por proteoglicanos (5-20%) y manosa (80-95%) (López-Cordón, 2010). Las cortezas de levadura son las paredes celulares (Figura 2) en su totalidad, sin haber sufrido ningún tipo de modificación, y por último las levaduras inactivas, compuestas por levaduras sin capacidad fermentativa, ni viabilidad. Todos estos productos tienen algo en común, y es que todos provienen del proceso de autólisis de las levaduras.

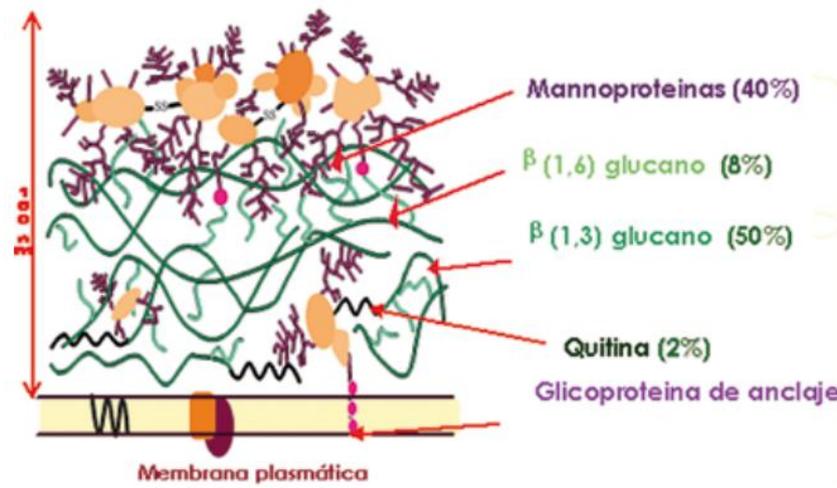


Figura 2: Estructura de la pared celular de las levaduras. (López-Cordón, 2010)

La autólisis es un proceso lítico de las células. Se trata de un proceso irreversible asociado con la muerte celular. Babayan et al. (1981) propusieron 4 fases en el proceso de autólisis: 1. Degradación de las estructuras endocelulares. 2. Activación de las proteasas. 3. Hidrólisis de componentes poliméricos. 4. Liberación de los productos hidrolíticos. Este proceso de autólisis tiene lugar en los vinos sometidos a crianza sobre lías, como es el caso de los vinos espumosos tintos.

Las manoproteínas son glicoproteínas asociadas a cadenas de manosa. Según los estudios realizados por Riou et al. (2002) y Poncet-Legrand et al. (2007) el uso de manoproteínas purificadas en vino puede dar lugar a la formación de coloides sobre los taninos provenientes de la pepita evitando su crecimiento. Por otro lado, respecto a los vinos espumosos, la investigación de Moreno-Arribas et al. (2000) demostró que el uso de manoproteínas purificadas mejora las características de la espuma, debido a sus propiedades de hidrofobicidad e hidrofiliidad.

Las levaduras inactivas están formadas por los productos de degradación de las levaduras que han sido sometidas a un proceso de lisis inducida. Están formadas principalmente por polisacáridos, manoproteínas y glucanos que provienen de la pared celular, y por componentes intracelulares como aminoácidos, nucleótidos, péptidos, diglicéridos, ácidos grasos y compuestos volátiles. Habitualmente se añaden al inicio de la FA para incrementar el contenido en polisacáridos y proteínas, en la crianza sobre lías para favorecer la persistencia aromática y en el vino final para mejorar la estabilidad tanto del color, como la estabilidad tartárica y la proteica. También pueden ser utilizadas para reducir la concentración de la ocratoxina A, cuya concentración máxima se encuentra regulada en el Reglamento de la UE 1881/2006, 19 de diciembre de 2006.

Sin embargo, cabe destacar que el uso inadecuado de estos productos puede favorecer la aparición de aminas biógenas como la tiramina o la cadaverina, cuya presencia en el vino da lugar a defectos importantes (Pozo-Bayón et al., 2009).

Las cortezas de levadura comerciales son componentes de *Saccharomyces* spp. Su uso se encuentra limitado a una dosis máxima de 40 g/hL (OIV, 2015). Son utilizadas como factor de supervivencia de las levaduras debido a su capacidad de adsorción de sustancias tóxicas, como ácidos grasos de cadena corta y media, así como residuos de fitosanitarios, evitando posibles paradas de fermentación.

Las β -glucanasas son las enzimas responsables de la descomposición de los enlaces glucosídicos de los β -glucanos, permitiendo la liberación al medio de glucosa y oligosacáridos (Dubourdieu et al., 1981). Esta herramienta permite disminuir los tiempos de crianza sobre lías, ya que los tiempos de liberación de los componentes de la pared se ven reducidos al aumentar la concentración de esta enzima. Inicialmente estos preparados se diseñaron para su uso en vinos tranquilos, pero se ha estudiado su eficacia en vinos espumosos, dado que permiten potenciar las características aportadas por la crianza sobre lías, así como mejorar la capacidad antioxidante de los vinos espumosos (Rodríguez-Nogales et al., 2012).

2. Objetivos y plan de trabajo

El principal objetivo del presente estudio fue determinar el impacto y las posibilidades que el uso de diferentes coadyuvantes tecnológicos procedentes de levadura y β -glucanasas presentan sobre la calidad del vino espumoso tinto.

Para conseguir los objetivos, se realizó un plan de trabajo que consistió en 5 puntos fundamentales:

1. Consulta bibliográfica para conocer las últimas actualizaciones en vino espumoso tinto, así como los posibles efectos que podían tener los coadyuvantes.
2. Elaboración de los vinos.
3. Caracterización sensorial y fisicoquímica de los vinos elaborados mediante pruebas sensoriales y analíticas fisicoquímicas.
4. Elaboración de los resultados, mediante el estudio de los datos obtenidos en el punto anterior, a través de herramientas estadísticas.
5. Redacción del desarrollo de los puntos previos, así como los resultados y discusión de estos.

En la figura 3 se expone un diagrama temporal de los hitos que han dado lugar al presente estudio.

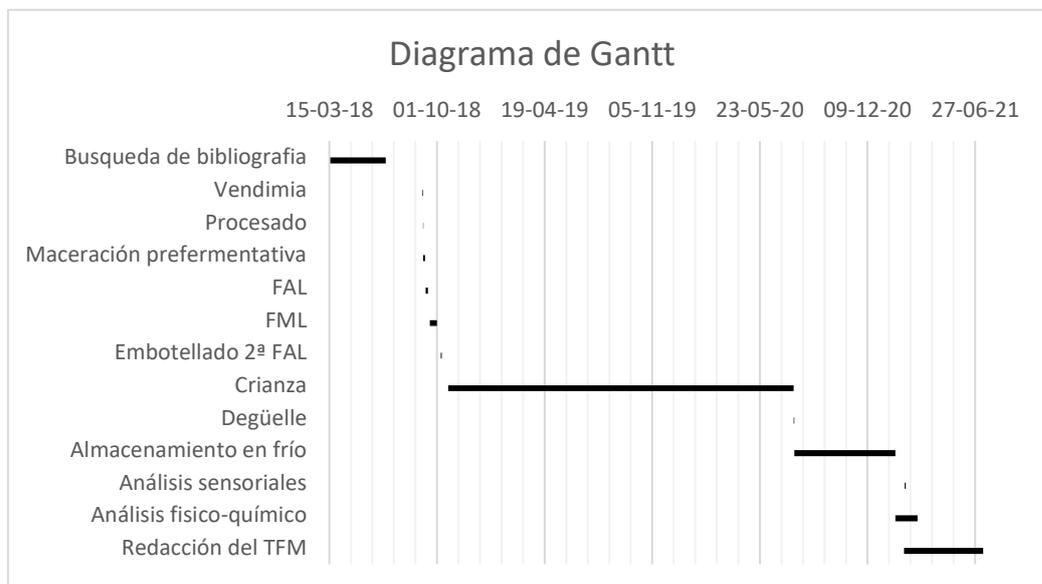


Ilustración 3: Diagrama temporal del estudio

3. Material y métodos

3.1 Vinificaciones

Para obtener los vinos, se emplearon 150 Kg de uva de la variedad Tempranillo, vendimiada en 2018, procedente de Villaveza del Agua (Zamora). La vendimia se realizó temprana, para que los parámetros de acidez total y grado alcohólico probable se adecuasen al tipo de elaboración. La uva se almacenó a -25°C durante 8 días.

La uva se procesó para elaborar el vino base mediante despallado y estrujado, obteniendo un total de 150 L de pasta tinta que fue sulfitada a razón de 3,5 g/hL de SO_2 mediante metabisulfito de potasio ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_5$). Previo a la fermentación, se realizó una maceración prefermentativa en frío durante 7 días con el objetivo de mejorar la extracción de compuestos fenólicos del hollejo (Parley et al., 2001), también se añadieron diferentes enzimas pectinasas y hemicelulasas (Lallzyme HC® y Lallzyme EX®, Lallemand, Francia) a la dosis de 1 y 6 g/hL, respectivamente, para potenciar el efecto de la maceración prefermentativa. Los parámetros del mosto previo a la fermentación fueron de 17,3° Brix y pH de 3,33.

La FA se realizó a 25°C durante 7 días mediante la siembra de *Saccharomyces cerevisiae* var. *bayanus* (Viniferm BY®, Agrovin, España) con la dosis recomendada por el fabricante de 30 g/hL. Posteriormente se realizó el prensado mediante prensa horizontal de membrana con dos ciclos de prensado y una presión máxima de 2,5 bar. Finalmente, y previa a la fermentación maloláctica (FML) se homogeneizaron los vinos yema y prensa.

Para asegurar el desarrollo de la FML, se procuró una inoculación de bacterias lácticas *Oenococcus oeni* (Lalvin VP41, Lallemand, Francia) a la dosis de 1 g/hL con control de temperatura a 20°C hasta la finalización de la fermentación, que fue determinada mediante control del ácido málico por cromatografía en papel (Barceló, 1990). Antes de embotellar se realizó un trasiego del vino para eliminar las lías gruesas.

Una vez obtenido el vino base, se continuó elaborando el vino espumoso objeto de estudio, mediante el método tradicional o *champenoise*. Se prepararon un total de 5 lotes de vinos espumosos con diferentes coadyuvantes y 1 grupo control. Los coadyuvantes fueron proporcionados por la empresa Agrovin S.A. (Alcázar de San Juan, España).

Los coadyuvantes estudiados fueron los siguientes:

- β -Glucanasas (Enozym Glucan®, 5 g/hL)
- Cortezas de levadura con tanino elágico (ManoArome®, 37,5 g/hL)
- Manoproteínas (Manoplus®, 10 g/hL)
- Levaduras inactivas (SuperBouquet®, 30 g/hL)
- Cortezas de levadura (SuperBouquet MN®, 30 g/hL)

Los coadyuvantes se añadieron junto con el licor de tiraje a excepción de las manoproteínas purificadas, que fueron añadidas tras el degüelle junto con el licor de expedición según las indicaciones del fabricante. El licor de tiraje consistió en una mezcla de sacarosa (25 g/L), levadura *Saccharomyces cerevisiae* var. *bayanus* (40 g/hL Viniferm BY®, Agrovin, España) y bentonita (20 g/hL Bengel®, Agrovin, España, para facilitar el removido de las lías en la puesta en punta tras el periodo de crianza, y asegurar la limpieza del vino).

Durante la segunda fermentación, las botellas se almacenaron a una temperatura constante de 17°C, en posición horizontal, para realizar el proceso de crianza sobre lías con una duración total de 21 meses hasta su degüelle. Tras el degüelle, se compensaron las pérdidas añadiendo el licor de expedición, que en este caso era el mismo vino del propio lote. Además, se añadieron las manoproteínas purificadas al lote correspondiente.

Finalmente, los vinos fueron almacenados en frío a 5°C durante 6 meses hasta su análisis fisicoquímico y sensorial.

3.2 Seguimiento de las fermentaciones

3.2.1 Seguimiento de la fermentación alcohólica

El seguimiento de la FA se realizó mediante toma diaria de densidad y temperatura. Para homogeneizar la pasta se hicieron bazuqueos previos a la toma de muestra. Cuando la densidad se situó próxima a 990 g/L se determinó que la FA había finalizado, asegurándolo mediante un análisis de la concentración de azúcares fermentables presentes por el método Rebeleim (OIV-MA-AS311-01A).

3.2.2 Seguimiento de la fermentación maloláctica

Tras la inoculación de las bacterias lácticas, se realizó el seguimiento del ácido málico mediante cromatografía en papel (Barceló, 1990) que permite determinar la presencia de diferentes ácidos presentes. La primera cromatografía se realizó el día 0 a partir de

la inoculación, y posteriormente se realizaron análisis periódicos con un intervalo de 3 días, hasta determinar la ausencia de ácido málico en la muestra.

3.2.3 Seguimiento de la segunda fermentación alcohólica

Para comprobar el correcto desarrollo de la segunda FA, se utilizaron afrómetros que mostraban el aumento de presión interna de la botella, que se empleó para comprobar que se estaba llevando a cabo la segunda fermentación.

3.3 Análisis fisicoquímicos del vino

A continuación, se detallan los análisis fisicoquímicos realizados, así como sus fundamentos:

- pH: Determinado por la diferencia de potencial entre los electrodos (OIV, 2011a).
- Grado alcohólico probable: Mediante refractometría, cuya determinación se basa en la modificación del índice de refracción del agua en presencia de azúcares (OIV, 2012).
- Acidez volátil: Mediante destilación, que se fundamenta en la diferencia de temperaturas de evaporación de los diferentes compuestos volátiles presentes, en especial el ácido acético (Barceló, 1990).
- Acidez total: Mediante potenciometría, se fundamenta en la variación de pH en valoración ácido-base con NaOH 0,1N (OIV, 2011b).
- Grado alcohólico: Mediante ebulloimetría, se fundamenta en la diferencia de la temperatura de ebullición de una solución hidroalcohólica con respecto al agua (Barceló, 1990).
- Índice de polifenoles totales (IPT): Por absorbancia de la muestra mediante espectrofotometría a 280 nm. Los núcleos bencénicos de los polifenoles presentan su mayor absorbancia a esa longitud de onda y permite su cuantificación (Betés-Saura et al., 1996).
- Ácidos hidroxicinámicos: Mediante espectrofotometría, los ácidos hidroxicinámicos presentan su máxima absorbancia a 320 nm (Betés-Saura et al., 1996).

- Flavonoles: Mediante espectrofotometría, los flavonoles presentan su máxima absorbancia a 365 nm (Betés-Saura et al., 1996).
- Taninos totales: En medio ácido y calor, los enlaces intermonoméricos de los taninos dan lugar a sus antocianidinas, que pueden ser cuantificadas mediante espectrofotometría, presentando su máxima absorbancia a 550nm (Bate-Smith, 1981).
- Nitrógeno fácilmente asimilable (NFA): El nitrógeno presente en forma amónica y α -amino libera 2 protones en formaldehido y estos se cuantifican mediante potenciometría valorando con NaOH 0,1N (Shively y Henick-Kling, 2001).
- Proteínas solubles: Fundamentado en la capacidad del azul brillante de Coomassie de unirse a las proteínas, presenta su máximo de absorbancia a 595 nm y permite su cuantificación (Murphey et al., 1989).
- Polisacáridos totales: Se fundamenta en la desnaturalización de los polisacáridos en presencia de ácido sulfúrico y posterior capacidad de formar complejos coloreados con el fenol, que presenta máximo de absorbancia a 485 nm (Lindner y Shomer, 1984).
- Características cromáticas: Vienen dadas por las absorbancias de la muestra a 450, 520, 570 y 630 nm, mediante su transformación para obtener las coordenadas CIELAB (CIE, 1986).
- Calidad de la espuma: Este parámetro fue medido mediante el método Mosalux, en el Centro Tecnológico del Vino (VITEC, Falset). En este método, un gas es inyectado a la muestra con un flujo (7 L/h) y presión (100 kPa) constantes para provocar que el vino previamente desgasificado forme espuma. Durante el desarrollo de la prueba, una serie de captadores de luz infrarroja determinan la altura de la espuma (Maujean et al., 1990). Los parámetros medidos fueron:
 - Espumabilidad (HM): Altura máxima que alcanza la columna de espuma después de la inyección. Se asimila a la formación de la espuma inmediatamente después de verter un vino espumoso en una copa. Se mide en milímetros (mm).

- Persistencia de la espuma (HS): Es la altura máxima a la cual se estabiliza la espuma en las condiciones de flujo y presión constantes. Se asimila a la permanencia de la corona en la copa, y/o a la capacidad de producción de espuma estable. Se mide en mm.
- Tiempo de estabilidad (TS): Es el tiempo que tarda en desaparecer la espuma desde que cesa el flujo de gas. Se asimila al tiempo de permanencia de la espuma cuando la efervescencia decrece. Se mide en segundos (s).

Todos los análisis se realizaron por duplicado en dos botellas de vino distintas (n=4).7

3.4 Análisis sensorial

Las pruebas de análisis sensorial se realizaron mediante un grupo de 108 consumidores, de los cuales el 58,5% eran mujeres y el 41,5% hombres, estando comprendidos el 92,6% entre los 18 y los 30 años (Tabla 1).

Tabla 1: Características de los consumidores (n=108)

RANGO DE EDAD	MUJERES (%)	HOMBRES (%)	TOTAL (%)
<20	24%	13%	37%
21-30	28%	27.6%	55,6%
31-40	2,8%	0,9%	3,7%
41-50	0,9%	0%	0,9%
51-60	2,8%	0%	2,8%
TOTAL (%)	58,5%	41,5%	100%

En primer lugar, los consumidores realizaron una prueba de aceptabilidad en la que debían evaluar, en una escala hedónica de 9 puntos (Lim, 2011), diferentes características como el color, el olor, el sabor, el picor y la persistencia en boca y la aceptabilidad global.

Tras la prueba de aceptabilidad, los consumidores realizaron una prueba CATA (*Check-All-That-Apply*) (Varela y Ares, 2012), también llamada “marque todo lo que corresponda”. Esta prueba es una alternativa al análisis descriptivo clásico, que se caracteriza por la facilidad de uso con consumidores.

Se presentaron un total de 20 términos, que incluían características tanto sensoriales como hedónicas, entre las cuales debían señalar las que a su juicio estaban presentes en las muestras. Estos términos fueron seleccionados en base a la bibliografía (McMahon et al., 2017) y fueron: color violáceo, color rojo intenso, color rojo evolucionado, olor intenso, alcohólico, picante o aguja, cremoso, astringente, volumen, dulce, ácido, amargo, herbáceo, afrutado, caramelo, tostado, persistente, equilibrado, me gusta y no me gusta.

Las muestras fueron presentadas en copas tipo flauta, codificadas de forma aleatoria y se presentaron siguiendo un diseño de bloques completamente aleatorizado. En cada copa se sirvieron 25 mL de la muestra en cuestión a una temperatura de entre 6-8°C.

Las pruebas de análisis sensorial se realizaron en la sala de catas de la ETSIIAA del Campus de Palencia de la Universidad de Valladolid y en cabinas individuales, siguiendo los protocolos COVID. Dicha sala cumple con los requisitos que se indican en la Norma UNE-EN ISO 8589 (2010).

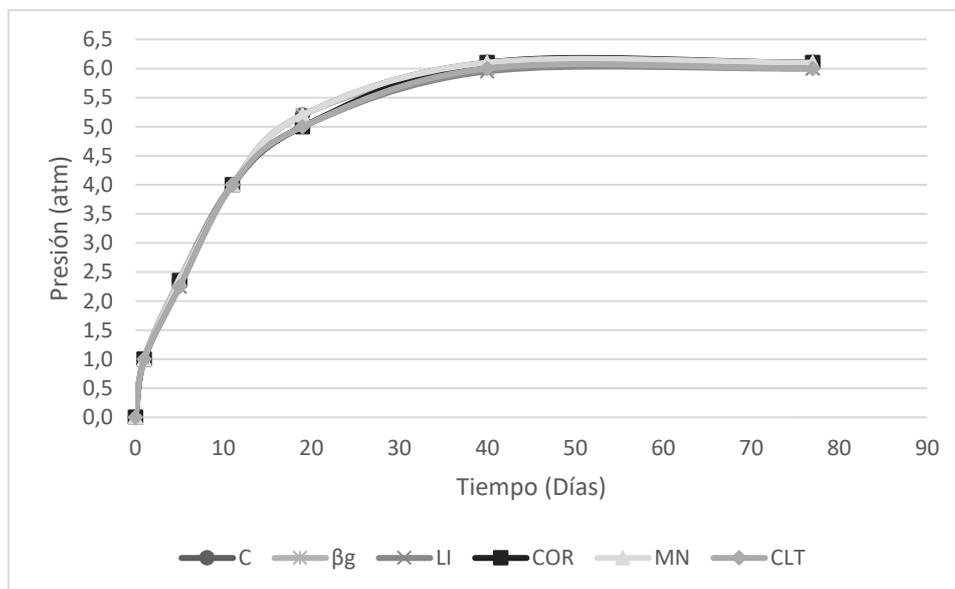
3.5 Análisis estadístico

Para realizar el análisis estadístico de los datos obtenidos, tanto analíticos como sensoriales, se han utilizado dos programas específicos para el tratamiento de datos, Statgraphics Centurion XVII (Statpoint Technologies, Inc., Warrenton, USA) e IBM SPSS Statistics versión 24 (IBM, Armonk, USA). Se realizaron análisis de componentes principales (ACP) y análisis de correspondencias (AC).

4. Resultados y discusión

4.1 Cinética fermentativa en botella

En primer lugar, se evaluó la cinética fermentativa de la segunda fermentación (Gráfica 1). La presión en el interior de la botella fue aumentando a medida que se desarrolló la segunda fermentación, hasta situarse en un máximo de 6 atm, adecuándose a la cantidad de sacarosa añadida. La segunda fermentación tuvo una duración total de 40 días, no apreciándose diferencias entre los distintos lotes de coadyuvantes en cuanto a la cinética fermentativa se refiere.



Gráfica 1: Cinética de la segunda fermentación.

C: Control, Bg: Beta-glucanasas, LI: Levaduras inactivas, COR: Cortezas de levadura, MN: Manoproteínas, CLT: Corteza de levadura+ tanino.

4.2 Análisis de componentes principales.

Se realizó un análisis de componentes principales (ACP) con los datos obtenidos en los análisis fisicoquímicos y sensoriales de la prueba de aceptabilidad. Este estudio nos permite caracterizar los vinos en función de las diferentes variables estudiadas, quedando reflejada la mayor cantidad de información posible.

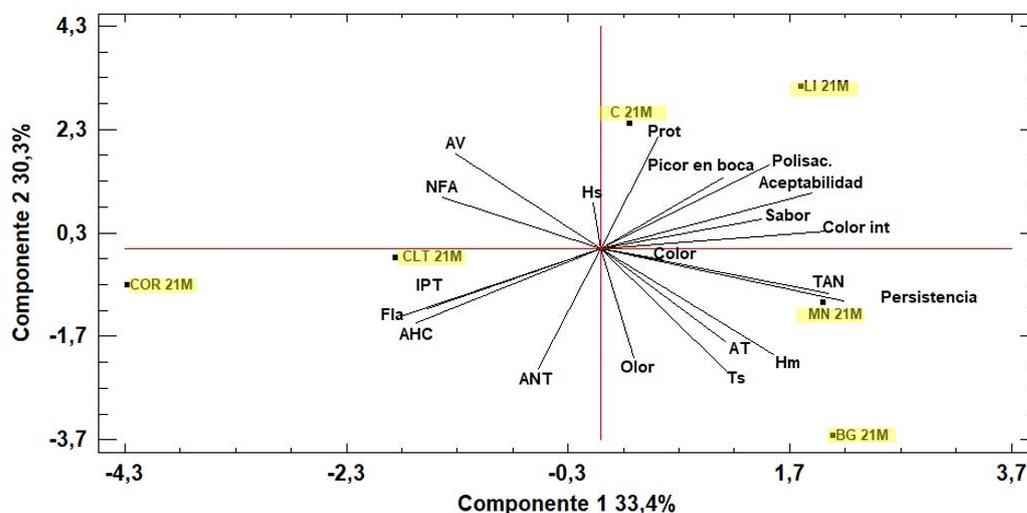
La Tabla 2 muestra la distribución de los distintos vinos, así como los parámetros fisicoquímicos y de aceptabilidad, en el espacio vectorial definido por los diferentes componentes principales (CP1 y CP2). Estos componentes explican el 63,7% de la variabilidad de los datos, de modo que la CP1 muestra el 33,4% de la variabilidad y se encuentra relacionada positivamente con los parámetros de acidez total, índice de color, espumabilidad, polisacáridos, proteínas, taninos, tiempo de estabilidad de la espuma, aceptabilidad global, color, olor, sabor, picor y persistencia en boca. Por otro lado, el CP2 muestra el 30,4% de esta variabilidad y se encuentra correlacionado positivamente con los parámetros de acidez volátil, índice de color, persistencia de la espuma, NFA, polisacáridos, proteínas, aceptabilidad global, sabor y picor en boca.

Tabla 2: Pesos de los componentes en el ACP

	CP1	CP2
AHC	-0,2617	-0,2130
ANT	-0,0902	-0,3437
AT	0,1750	-0,2665
AV	-0,2067	0,2713
IC	0,3196	0,0481
FLA	-0,2847	-0,1937
Hm	0,2445	-0,3039
Hs	-0,0110	0,1295
IPT	-0,2473	-0,1719
NFA	-0,2245	0,1458
Polisac	0,2376	0,2402
Prot	0,0798	0,3175
TAN	0,3215	-0,1293
Ts	0,1770	-0,3507
ACEPT	0,2985	0,1580
COLOR	0,0864	-0,0325
OLOR	0,0460	-0,3114
SABOR	0,2269	0,0833
PICOR	0,1723	0,2038
PER_boca	0,3436	-0,1496

*Codificación: AHC: ácidos hidroxicinámicos; ANT: antocianos; AT: acidez total ; AV: acidez volátil; IC: índice de color; FLA: flavonoles; Hm: espumabilidad; Hs: persistencia de la espuma; IPT: índice de polifenoles totales; NFA: nitrógeno fácilmente asimilable; Polisac.: polisacáridos; Prot: proteínas totales; TAN: taninos; Ts: tiempo de estabilidad de la espuma; ACEPT: aceptabilidad global; COLOR; OLOR; PER_boca: persistencia en boca; SABOR; PICOR: picor en boca

En la Tabla 2 se muestra la distribución de los distintos vinos espumosos en función de sus características fisicoquímicas y aceptabilidad. Como se puede comprobar, se encuentran 3 grupos bien diferenciados.



Gráfica 2. Análisis de componentes principales de los diferentes tratamientos y las características fisicoquímicas y de aceptabilidad

*Codificación: Hs: persistencia de la espuma; AV: acidez volátil; NFA: nitrógeno fácilmente asimilable; CLT: Corteza de levadura + tanino; IPT: índice de polifenoles totales; FLA: flavonoles; AHC: ácidos hidroxicinámicos; ANT: antocianos; AT: acidez total; Ts: tiempo de estabilidad de la espuma; Hm: espumabilidad; MN: MANoproteínas; BG: Beta Glucanasas; TAN: taninos; Prot: proteínas totales; Polisac.: polisacáridos; LI: Levadura inactiva; C: Control; Aceptabilidad, Sabor, Color Intenso, Picor en boca, Color, Persistencia

En el espacio delimitado por los valores negativos para CP1 y CP2, se encuentran los vinos tratados con cortezas de levadura, con y sin tanino (COR y CLT). Estos vinos se caracterizan por mostrar mejoras en cuanto a los parámetros de índice de polifenoles totales, ácidos hidroxicinámicos, flavonoles y antocianos se refiere. Cabe destacar que la naturaleza de todos estos parámetros es de naturaleza fenólica (Riquelme et al., 2016).

El índice de polifenoles totales se encuentra directamente relacionado con el contenido en flavonoles, ácidos hidroxicinámicos y antocianos. La mejora en estos parámetros se podría explicar dado que las cortezas de levadura poseen capacidad de adsorción de los compuestos polifenólicos, evitando por tanto su oxidación y polimerización, contribuyendo a su mantenimiento en el vino (Suárez y Morata, 2015).

En el espacio vectorial correspondiente a valores positivos para CP1 y negativos para CP2 se encuentran englobados los vinos tratados mediante manoproteínas purificadas y β -glucanasas (MN y Bg), estos vinos mostraron mejoras en parámetros como el

contenido en taninos, acidez total, espumabilidad, tiempo de estabilidad, persistencia en boca y olor.

Tanto las manoproteínas purificadas como las resultantes de la lisis enzimática inducida por las β -glucanasas, poseen características que favorecen el mantenimiento de la acidez total de los vinos, ya que las manoproteínas inhiben la formación de núcleos de cristalización, ejerciendo por tanto un papel de coloide protector frente a precipitaciones tartáricas, aunque su rendimiento se ve disminuido a bajas temperaturas (Gerbaud et al., 1997; Palacios et al., 2006). Al igual que ocurre con la acidez total, las manoproteínas contribuyen al mantenimiento de los taninos en el vino, ya que estabilizan el crecimiento de estos (Rodrigues et al., 2012; Riou et al., 2002).

Las mejoras en los parámetros de espumabilidad (Hs y Ts), tuvieron una influencia directa sobre la persistencia en boca del vino que fue valorada más positivamente en los vinos tratados con manoproteínas y β -glucanasas que el resto.

Por último, en el espacio vectorial con valores positivos para CP1 y CP2 encontramos los vinos tratados con levaduras inactivas (LI), los cuales mostraron mejores resultados desde el punto de vista sensorial en los parámetros de sabor, picor en boca y aceptabilidad global, quedando de manifiesto que el sabor junto el picor son los atributos más valorados por el consumidor de cara a aceptar el vino espumoso tinto.

Por último, el vino control (C) obtiene valores muy pequeños para el CP1 y por lo tanto no quedaría caracterizado por un mayor contenido en proteínas que el resto.

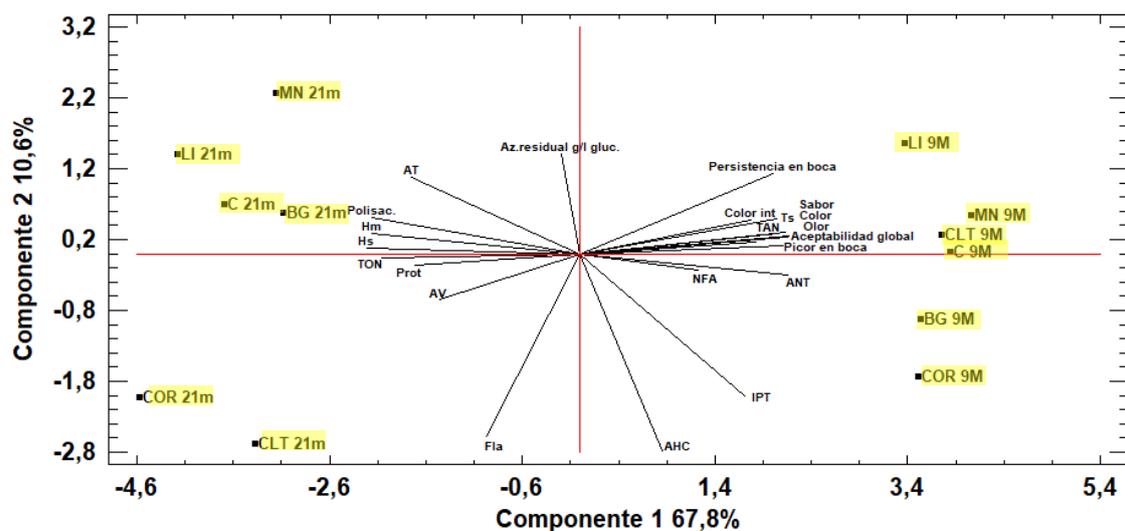
El contenido en polisacáridos influye directamente en la intensidad del color, ya que actúan como coloides protectores que contribuyen a la estabilización del color, debido a la formación de complejos con los antocianos. Además, estos compuestos contribuyen a la reducción de la astringencia, mejorando por tanto las características de sabor, haciendo el vino más aceptable por parte de los consumidores (Escot et al., 2001).

Las proteínas contribuyen también a un mayor cuerpo del vino, dando lugar a sensación de untuosidad que generalmente es valorado positivamente por los consumidores (Esteruelas et al., 2009).

4.2.1 Comparativa entre crianzas

En ensayos previos (Moyano-Gracia, 2020), se evaluó el efecto que estos coadyuvantes produjeron en los vinos durante un periodo de crianza sobre lías de 9 meses. En la ilustración 6 se muestran los datos obtenidos en los mismos vinos con diferentes tiempos de crianza, se pueden observar diferencias claras entre ambos periodos. El análisis (Gráfica 3) explica el 78,4% de la variedad de los datos, siendo el CP1 el 67,8% y explicando las diferencias inter-temporales, y el CP2 con 10,6% que explicaría las diferencias intra-temporales.

Los vinos de larga crianza poseen mejores características de espumabilidad (Hm y Hs), esto es debido a que la presión se ha mantenido durante más tiempo y por tanto el CO₂ ha quedado más integrado en el interior de la botella, aumentando la permanencia de la espuma y generando más cantidad de esta (Andrés-Lacueva et al., 1996). Los vinos de larga crianza también muestran mejores resultados de acidez total, contenido en proteínas y polisacáridos, y un ligero aumento de la acidez volátil.



Gráfica 3. Análisis de componentes principales comparativo entre 9 meses y 21 meses de crianza sobre lías

*Codificación: Hs: persistencia de la espuma; AV: acidez volátil; NFA: nitrogeno fácilmente asimilable; CLT: Corteza de levadura + tanino; IPT: índice de polifenoles totales; FLA: flavonoles; AHC: ácidos hidroxicinámicos; ANT: antocianos; AT: acidez total; Ts: tiempo de estabilidad de la espuma; Hm: espumabilidad; MN: MANoproteínas; BG: Beta Glucanasas; TAN: taninos; Prot: proteínas totales; Poliac.: polisacáridos; LI: Levadura inactiva; C: Control; Aceptabilidad global, Sabor, Color Intenso, Picor en boca, Color, Persistencia en boca; COR: Corteza de levaduras.

Por otro lado, encontramos los vinos de 9 meses de crianza sobre lías, que se han caracterizado por obtener mejor valoración por parte de los consumidores en todos los descriptores de aceptabilidad estudiados (color, olor, sabor, picor y persistencia en boca y aceptabilidad global). También mostraron mejores resultados, con respecto a los vinos de larga crianza, en intensidad de color, que está directamente relacionado con el

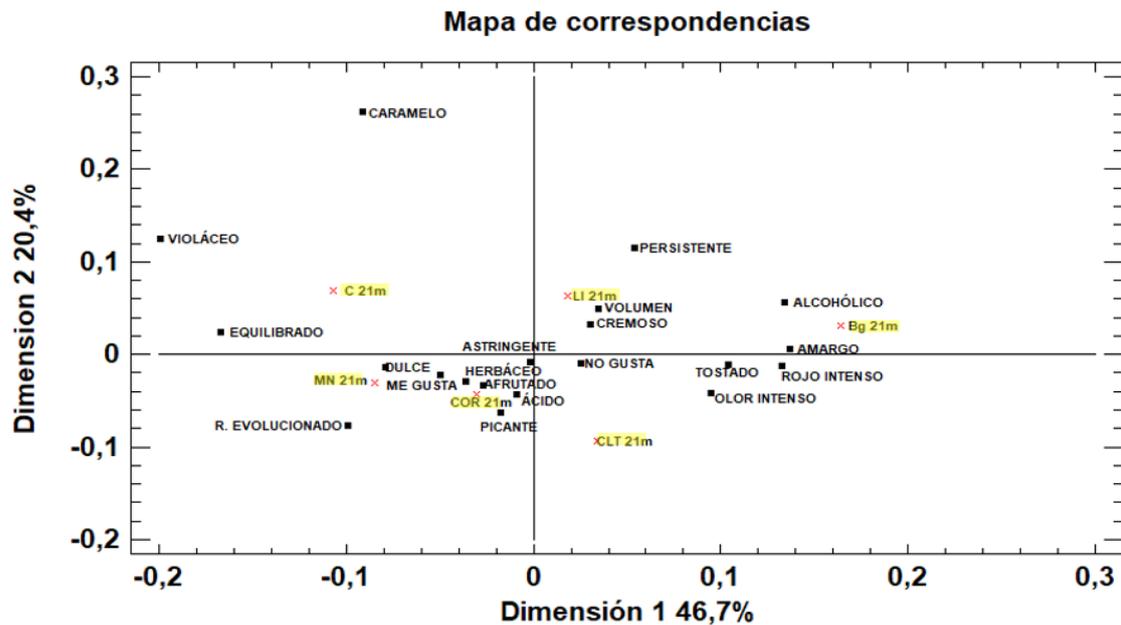
contenido en antocianos y taninos (Cheynier, 2003). Estudios previos (Rodríguez-Nogales et al., 2012) demuestran que los consumidores jóvenes (<30 años) prefieren vinos cuyas características de crianza no sean muy marcadas y por lo tanto eligiendo los vinos con 9 meses de forma preferente.

4.3 Análisis de correspondencias

Para el análisis de los datos obtenidos en la prueba *CATA* (*Check-All-That-Apply*), se ha realizado un análisis de correspondencias (AC) con el objetivo de caracterizar los vinos según las respuestas de los consumidores. Se utilizó la frecuencia de mención en cada uno de los atributos. Al igual que en el ACP, se trata de mostrar la mayor variabilidad de los datos posible en dos dimensiones, para plasmar la mayor información posible en relación con la caracterización de las diferentes muestras.

En la Gráfica 4 se muestra el análisis en el que se han caracterizado las diferentes muestras en función de la frecuencia de mención de los consumidores, la dimensión 1 explicó el 46,7% de la variabilidad de todos los datos y la dimensión 2 el 20,4%. El vino control (C 21m) se encuentra en la zona de valores negativos para la dimensión 1 (D1), y valores positivos para la dimensión 2 (D2). Este vino fue caracterizado por los consumidores como equilibrado y con mayor frecuencia de mención en el descriptor color rojo violáceo.

Gráfica 4. Análisis de correspondencias prueba CATA a los 21 meses.



*Codificación: β -Glucanasas (BG: 5 G/HL), Levaduras inactivas (LI: 30 G/HL), Cortezas de levadura (COR: 30 G/HL), Manoproteínas (MN: 10 G/HL), Cortezas de levadura + TANINO (CLT: 37,5 G/HL), Control (C).

Los vinos tratados con manoproteínas (MN 21m) y cortezas de levadura (COR 21m) se encuentran localizados en la zona de valores negativos para D1 y D2. Estos fueron caracterizados por los consumidores como dulces, afrutados, ácidos, picantes, herbáceos, color rojo evolucionado y fueron los que más gustaron por los consumidores. En relación con la ilustración 5 del ACP, los vinos tratados con levadura inactiva (LI) y el control fueron los que presentaron una mayor puntuación en aceptabilidad global, pero teniendo en cuenta la frecuencia de mención en la prueba CATA, fueron las cortezas (COR 21m) y manoproteínas purificadas (MN 21m) las que obtuvieron la calificación de me gusta por un mayor número de consumidores (Jaeger et al., 2020).

En cuanto a los vinos a los que se añadieron cortezas de levadura + tanino (CLT 21m), se encuentran en la zona delimitada por los valores positivos para D1 y negativos para D2. Estos vinos fueron clasificados por los descriptores de olor intenso, aroma tostado, color rojo intenso, y fueron los vinos que obtuvieron mayor número de menciones en el parámetro “no me gusta”, siendo por tanto los vinos más rechazados por los consumidores.

Finalmente, encontramos los vinos tratados con β -glucanasas (β g 21m) y levaduras inactivas (LI 21m) que se encuentran en la zona delimitada por los valores positivos para ambas dimensiones, y fueron valorados por los consumidores como vinos voluminosos, con espuma cremosa, persistentes en boca, alcohólicos y ligeramente amargos. En

relación con la ilustración 5 del ACP, los vinos tratados mediante el uso de levaduras inactivas fueron los mejor aceptados globalmente, por lo que teniendo en cuenta el AC, podemos afirmar que el carácter voluminoso y de cremosidad de la espuma fue muy bien valorado por los consumidores.

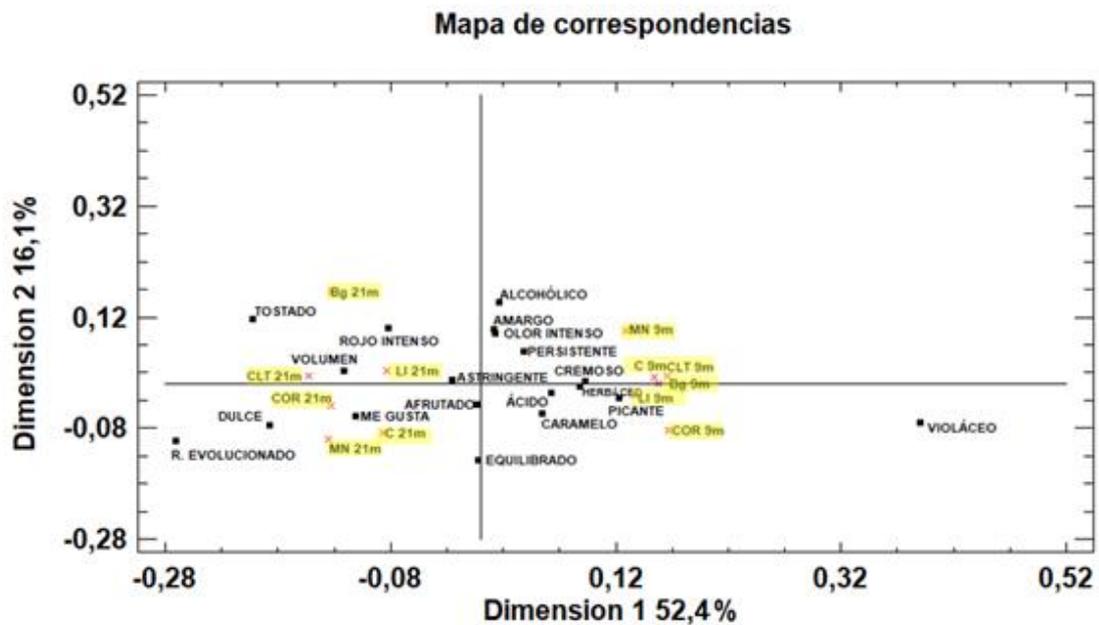
En el punto de corte de ambos ejes D1 y D2, encontramos el parámetro de astringencia, que al encontrarse en el centro no podemos afirmar que sea un descriptor que caracterice a ninguno de los vinos.

4.3.1 Comparativa entre crianzas

A continuación, en la gráfica 5 se muestra la comparativa entre los datos obtenidos en la prueba CATA de los vinos con 21 meses de crianza, con los datos obtenidos en estudios previos con 9 meses de crianza (Moyano Gracia, 2020).

Al igual que en la comparativa mediante ACP mostrada en la gráfica 3, se encuentra una clara diferenciación entre los vinos en función de su tiempo de crianza en botella. Más concretamente en la D1, que explica el 52,4% de la variabilidad de los datos, encontramos las diferencias inter-temporales, mientras que, en la D2, que explica el 16,1% de la variabilidad de los datos, encontramos las diferencias intra-temporales.

En la zona de valores positivos para D1 se localizan los vinos con 9 meses de crianza en botella, que podrían clasificarse mediante los descriptores picante, ácido, persistente, amargo, alcohólico y herbáceo. Esta clasificación podría explicarse ya que, al tratarse de vinos con menos crianza, la acidez y los compuestos responsables del amargor no se encuentran tan integrados como en el caso de los vinos con larga crianza, al igual que ocurre con el picor en boca, ya que un mayor tiempo de crianza favorece la integración del gas carbónico en el vino (Andrés-Lacueva et al., 1996).



Gráfica 5: Análisis de correspondencias. Datos CATA 9m y 21m.

Por otro lado, se encuentran los vinos de larga crianza en la zona de valores negativos para D1, cuya caracterización por parte de los consumidores fue como vinos de color rojo intenso o evolucionado, voluminosos, aceptables y dulces.

Los vinos de 21 meses de crianza obtuvieron una evolución del color con respecto a los vinos de 9 meses de crianza, debido a la evolución de los compuestos responsables del color durante el proceso de crianza (Benucci, 2020), pasando de tonos violetas hacia tonos más rojizos o teja, estos vinos fueron clasificados como vinos con volumen, y fueron los que mayor frecuencia de mención obtuvieron en el parámetro “me gusta”, pero no fueron los mejor valorados, ya que como muestra la gráfica 3, fueron los vinos con 9 meses los mejor valorados. Esto puede deberse a la acomplexación de los compuestos presentes como consecuencia de la larga crianza, que mejoró la untuosidad de los vinos (González-Royo, 2015).

5. Conclusiones

Una vez estudiados y discutidos los resultados obtenidos, podemos llegar a las siguientes conclusiones:

- Los vinos espumosos elaborados con cortezas de levaduras se caracterizaron por una mejora de la composición polifenólica, mientras que los vinos elaborados con manoproteínas y β -glucanasas presentaron mejoras en sus características espumantes, persistencia en boca y olor y los vinos con levaduras inactivas en cuanto al sabor, picor en boca y aceptabilidad global.
- Los vinos elaborados con manoproteínas purificadas y cortezas de levadura obtuvieron una mayor frecuencia de mención en el parámetro “me gusta” y por lo tanto siendo aceptados por un mayor número de consumidores.
- En la prueba de aceptabilidad se observó que los vinos de menor crianza fueron mejor valorados por los consumidores.
- En la comparativa de la prueba CATA, los vinos con 9 meses de crianza presentaron mayor número de descriptores, pero fueron los vinos con 21 meses los que mayor frecuencia de mención en el parámetro “me gusta” obtuvieron.
- Los parámetros de espumabilidad mejoran al realizar periodos de crianza más largos, aunque en detrimento de otros parámetros.
- Los vinos de larga crianza obtuvieron una mayor frecuencia de mención por un mayor número de consumidores que los vinos de menor crianza.
- La larga crianza afecta a las características de color de los vinos, siendo detectable por los consumidores.

Bibliografía

- Andrés-Lacueva, C., Gallart, M., López-Tamames, E., y Lamuela-Raventós, R. M. (1996). Influence of variety and aging on foaming properties of sparkling wine (Cava). 1. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44(12), 3826–3829. <https://doi.org/10.1021/jf9605153>
- Asensio de la Riva, J. (2018). Uso de pervaporación en la desalcoholización de vinos blancos. Trabajo Fin de Grado. Universidad de Valladolid. Retrieved from <http://uvadoc.uva.es/handle/10324/31725>
- Babayan, T. L., y Bezrukov, M. G. (1985). Autolysis in yeasts. *Acta Biotechnologica*, 5(2), 129–136. <https://doi.org/10.1002/abio.370050205>
- Babayan, Tatyana L, Bezrukov, M. G., Latov, V. K., Belikov, V. M., Belavtseva, E. M., y Titova, E. F. (1981). Induced autolysis of *Saccharomyces cerevisiae*: morphological effects, rheological effects, and dynamics of accumulation of extracellular hydrolysis products. *Current Microbiology*, 5, 163–168.
- Barceló, J. G. (1990). Técnicas analíticas para vinos. Cap 1-6. GAB. Barcelona. Retrieved from [http://shop.gabsystem.com/data/descargas/Capitulo 1-6.pdf](http://shop.gabsystem.com/data/descargas/Capitulo%201-6.pdf)
- Bate-smith, E. C. (1981). Astringent tannins of the leaves of *Geranium* species. *Phytochemistry*, 20(2), 211–216. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(81\)85095-9](https://doi.org/10.1016/0031-9422(81)85095-9)
- Benucci, I. (2020). Impact of post-bottling storage conditions on colour and sensory profile of a rosé sparkling wine. *LWT- Food Science and Technology* 118, 108732. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108732>
- Betés-Saura, C., Andrés-Lacueva, C., y Lamuela-Raventós, R. M. (1996). Phenolics in white free run juices and wines from penedès by high-performance liquid chromatography: changes during vinification. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44(10), 3040–3046. <https://doi.org/10.1021/jf9601628>
- Cheynier, V. (2003). El color de los vinos. *Infowine- Internet Journal of Viticulture and Enology*, 4, 1–9.
- CIE. (1986). Colorimetry 2nd edn, publication CIE No 12.5. CIE. Vienna.

Del Llaudy, M. C., Canals, R., Canals, J. M., y Zamora, F. (2008). Influence of ripening stage and maceration length on the contribution of grape skins, seeds and stems to phenolic composition and astringency in wine-simulated macerations. *European Food Research and Technology*, 226(3), 337–344. <https://doi.org/10.1007/s00217-006-0542-3>

Dubourdiou, D., Villettaz, J.-C., Desplanques, C., y Pascal, R.-G. (1981). Dégradation enzymatique du glucane de *Botrytis cinerea*. Application à l'amélioration de la clarification des vins issus de raisins pourris. *OENO One*, 15(3), 161. <https://doi.org/10.20870/oeno-one.1981.15.3.1360>

Escot, S., Feuillat, M., Dulau, L., y Charpentier, C. (2001). Release of polysaccharides by yeasts and the influence of released polysaccharides on colour stability and wine astringency. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 7(3), 153–159. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.2001.tb00204.x>

Esteruelas, M., Poinsaut, P., Sieczkowski, N., Manteau, S., Fort, M. F., Canals, J. M., y Zamora, F. (2009). Characterization of natural haze protein in sauvignon white wine. *Food Chemistry*, 113(1), 28–35. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.07.031>

Esteruelas, Mireia, González-Royo, E., Kontoudakis, N., Orte, A., Cantos, A., Canals, J. M., y Zamora, F. (2015). Influence of grape maturity on the foaming properties of base wines and sparkling wines (Cava). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(10), 2071–2080. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6922>

Fornairon-Bonnefond, C., Camarasa, C., Moutounet, M., y Salmon, J.M. (2002). New trends on yeast autolysis and wine ageing on lees: a Bibliographic Review. *International Journal of Vine and Wine Sciences*. 36(2), 49–69.

Gerbaud, V., Gabas, N., Blouin, J., Pellerin, P., y Moutoune, M. (1997). Influence of wine polysaccharides and polyphenols on the crystallization of potassium hydrogen tartrate. *Journal International Des Sciences de La Vigne et Du Vin*, 31(2).

González-Lázaro, M., Martínez-Lapuente, L., Palacios, A., Guadalupe, Z., Ayestarán, B., Bueno-Herrera, M., ... Pérez-Magariño, S. (2019). Effects of different oenological techniques on the elaboration of adequate base wines for red sparkling wine production: phenolic composition, sensory properties and foam parameters. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99(10), 4580–4592. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9697>

González-Royo, E. (2015). Aplicación de nuevas herramientas biotecnológicas para compensar los efectos negativos del cambio climático sobre vinos espumosos (Cava) y vinos tintos. Tesis Doctoral. Universidad Rovira i Virgili

Hidalgo Togores J. (2019). Tratado de enología: tomo II. Mundi-Prensa. Madrid.

Jaeger, S. R., Chheang, S. L., Jin, D., Roigard, C. M., y Ares, G. (2020). Check-all-that-apply (CATA) questions: Sensory term citation frequency reflects rated term intensity and applicability. *Food Quality and Preference*, 86(May), 103986. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2020.103986>

Lindner, P., y Shomer, I. (1984). Interference of azide in assays of carbohydrates. *Food Chemistry*, 14(2), 141–153. [https://doi.org/10.1016/0308-8146\(84\)90053-0](https://doi.org/10.1016/0308-8146(84)90053-0)

López-Cordón, E. N. (2006). El papel de las manoproteínas. Ponencias del VI Curso de verano Viticultura y Enología en la D.O. Ribera del Duero, 2006. Consejo Regulador de la Denominación de Origen Ribera del Duero, 73-79.

Maujean, A; Poinaut, P; Dantan, H; Brissonnet, F; Cossiez, E. (1990). Etude de la tenue et de la qualité de mousse des vins effervescents. II: Mise au point d'une technique de mesure de la moussabilité de la tenue et de la stabilité de la mousse des vins effervescents. *Bulletin de l'OIV*, 63(711–712), 405–4027.

McMahon, K. M., Culver, C., Castura, J. C., y Ross, C. F. (2017). Perception of carbonation in sparkling wines using descriptive analysis (DA) and temporal check-all-that-apply (TCATA). *Food Quality and Preference*, 59, 14–26. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2017.01.017>

Moreno-Arribas, V., Pueyo, E., Nieto, F. J., Martín-Álvarez, P. J., y Polo, M. C. (2000). Influence of the polysaccharides and the nitrogen compounds on foaming properties of sparkling wines. *Food Chemistry*, 70(3), 309–317. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(00\)00088-1](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(00)00088-1)

Moyano-Gracia, R. (2020). Impacto de diversos coadyuvantes tecnológicos en la calidad del vino espumoso tinto. Trabajo Fin de Grado. Universidad de Valladolid. Retrieved from <http://uvadoc.uva.es/handle/10324/43623>

Murphey, J. M., Powers, J. R., y Spayd, S. E. (1989). Estimation of soluble protein concentration of white wines using coomassie brilliant blue G-250. *American Journal of Enology and Viticulture*, 40(3), 189 LP – 193. Retrieved from <http://www.ajevonline.org/content/40/3/189.abstract>

Noguera Pujol, J. y F. G. S. A. (1973). Los grandes vinos: (Ensayo sistemático para el estudio de los vinos españoles): los vinos alicantinos, mistelas, anís y aguardientes. Ediciones Alicantinas. Alicante.

OIV. (2011a). Method OIV-MA-AS313-15. OIV methods. 3–5.

OIV. (2011b). Total Acidity. OIV Methods, 5–7.

OIV. (2012). Evaluation by refractometry of the sugar concentration in grape musts , concentrated grape musts and rectified concentrated grape musts. OIV Methods, 1–23.

OIV. (2015). Annex : maximum acceptable limits. International Code of Oenological Practices.

OIV. (2020). The Global Sparkling Wine Market. Focus OIV, 1–21.

Olarte, C., Pelegrín, J., y Reinares, E. (2017). Model of acceptance of a new type of beverage: Application to natural sparkling red wine. Spanish Journal of Agricultural Research, 15(1), 1–11. <https://doi.org/10.5424/sjar/2017151-10064>

Palacios, A., Suárez, C., y Heras, J. M. (2006). Manejo de la acidez del vino base cava desde el punto de vista organoléptico. ACE Revista de Enología, 66.

Parley, A., Vanhanen, L., y Heatherbell, D. (2001). Effects of pre-fermentation enzyme maceration on extraction and colour stability in Pinot Noir wine. Australian Journal of Grape and Wine Research, 7(3), 146–152. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.2001.tb00203.x>

Poncet-Legrand, C., Doco, T., Williams, P., y Vernhet, A. (2007). Inhibition of grape seed tannin aggregation by wine mannoproteins: Effect of polysaccharide molecular weight. American Journal of Enology and Viticulture, 58(1), 87–91.

Pozo-Bayón, M. A., Andújar-Ortiz, I., y Moreno-Arribas, M. V. (2009). Scientific evidences beyond the application of inactive dry yeast preparations in winemaking. Food Research International, 42(7), 754–761. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.03.004>

Riquelme, R, Berradre M. (2016). Evaluation and control of polyphenols in grape must and red wine. Revista Facultad de Agronomía, 30, 90–113.

Riou, V., Vernhet, A., Doco, T., y Moutounet, M. (2002). Aggregation of grape seed tannins in model wine - Effect of wine polysaccharides. Food Hydrocolloids, 16(1), 17–23. [https://doi.org/10.1016/S0268-005X\(01\)00034-0](https://doi.org/10.1016/S0268-005X(01)00034-0)

Rodrigues, A., Ricardo-Da-Silva, J. M., Lucas, C., y Laureano, O. (2012). Effect of commercial mannoproteins on wine colour and tannins stability. *Food Chemistry*, 131(3), 907–914. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.09.075>

Rodriguez-Nogales, J. M., Fernández-Fernández, E., y Vila-Crespo, J. (2012). Effect of the addition of β -glucanases and commercial yeast preparations on the chemical and sensorial characteristics of traditional sparkling wine. *European Food Research and Technology*, 235(4), 729–744. <https://doi.org/10.1007/s00217-012-1801-0>

Sainz, D. (2017). Aplicación de nanofiltración por membrana y pervaporación para la desalcoholización de vinos comerciales y recuperación de aromas. Trabajo Fin de Grado. Universidad de Valladolid. Retrieved from <https://uvadoc.uva.es/handle/10324/26527>

Shively, C. E., y Henick-Kling, T. (2001). comparison of two procedures for assay of free amino nitrogen. *American Journal of Enology and Viticulture*, 52(4), 400 LP – 401. Retrieved from <http://www.ajevonline.org/content/52/4/400.abstract>

Suárez, J.A., y Morata A. (2015). Levaduras para vinificación en Tinto (Yeasts for red winemaking). Antonio Madrid Vicente Ediciones. Madrid. Retrieved from <https://www.researchgate.net/publication/283289823>

Suárez, J.A. (2003). Microbiología enológica: fundamentos de vinificación Mundi-Prensa. Madrid.

Varela, P., y Ares, G. (2012). Sensory profiling, the blurred line between sensory and consumer science. A review of novel methods for product characterization. *Food Research International*, 48(2), 893–908. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.06.037>

Yuste, J. (2017). Estrategias vitícolas frente al cambio climático: influencia en la maduración tecnológica y fenólica, en el aroma y la composición nitrogenada de la uva. Fundación para la Cultura del Vino. XII Encuentro Técnico, 29–41.