

Crianza sobre lías, chips y microoxigenación, utilización conjunta en el envejecimiento de vinos tintos. Ventajas del uso de levaduras seleccionadas.

A. Morata, F. Calderón, M. C. González, B. Colomo y J. A. Suárez.

Universidad Politécnica de Madrid
E. T. S. Ingenieros Agrónomos
Dpto. Tecnología de Alimentos
Ciudad Universitaria, s/n
28040 Madrid
E-mail: amorata@ai.etsia.upm.es

Resumen

La crianza convencional en bodega es una técnica costosa, especialmente, cuando se pretende una renovación frecuente de los parques de bodegas. Además, supone un complicado manejo de los vinos en múltiples recipientes de pequeño tamaño. En la actualidad existen alternativas para el envejecimiento de los vinos, que pueden ser realizadas en depósitos de acero inoxidable con un menor coste y una gestión más fácil, permitiendo además la obtención de una calidad comparable a la del sistema tradicional.

En este marco la crianza sobre lías asociada a microoxigenación y uso de chips de madera de roble, supone una combinación de técnicas compatibles y complementarias para llegar a la obtención de un producto de elevada calidad a bajo coste.

Palabras clave

Lías, polisacáridos, manoproteínas, microoxigenación, chips, acetaldehído, antocianos.

La autólisis de levaduras

La crianza sobre lías es una técnica de envejecimiento tradicional para la crianza de vinos blancos utilizada originalmente en las elaboraciones de vinos fermentados en bodega en Borgoña (usualmente a partir de la variedad Chardonnay) y en el envejecimiento en botella de los vinos espumosos (Champagne, Cava). Su importancia radica en las características peculiares que aporta a los vinos y que tienen su origen en la autólisis de las levaduras y la cesión de compuestos de las estructuras celulares durante el tiempo de crianza sobre lías.

La autólisis de levaduras ha sido estudiada por diversos autores [1-8], es un proceso que sucede tras la muerte de las levaduras y que consiste en la ruptura y degradación de las estructuras celulares por su propia dotación enzimática. Charpentier y Freyssinet [9] plantean cuatro etapas diferenciadas a lo largo del proceso:

- Inicialmente las actividades de las enzimas endo- y exo- β -(1,3)-glucanasas liberan una mezcla de polisacáridos y de cadenas cortas oligosacarídicas. Una fracción de estos polisacáridos corresponde a las manoproteínas unidas covalentemente al glucano de la pared intacta.
- Posteriormente, la hidrólisis parcial del glucano provoca una desestabilización de la estructura de la pared, que supone una liberación de manoproteínas de elevado peso molecular con bajos contenidos de glucosa y que provienen mayoritariamente de la zona periplásmica.
- En una etapa más tardía continúa la degradación de los glucanos de la pared por las β -(1,3)-glucanasas en los restos de pared y en el medio extracelular.
- Finalmente las exo- β -(1,3)-glucanasas, solubilizadas en el medio, degradan el glucano unido a las manoproteínas y estas últimas a su vez pueden ser hidrolizadas por α -manosidasas y por otras proteasas que liberan peptidomananos de menor tamaño.

Moléculas liberadas durante la autólisis

Consecuencia de esta ruptura y fragmentación del material celular son liberados al vino moléculas de distinta naturaleza y que afectan a su equilibrio coloidal, estructura, estabilidad de color y perfil aromático, con importantes repercusiones organolépticas. Las moléculas mayoritariamente liberadas se pueden clasificar según el siguiente esquema [10-12] como procedentes del interior celular o bien de las paredes (**Figura 1**):

- Contenido celular: nucleótidos y nucleósidos (se comportan como agentes de flavor), aminoácidos y péptidos (actúan como precursores de aromas, algunos pueden presentar sabores dulces o amargos y juegan un importante papel como activadores de la fermentación maloláctica).
- Pared celular: Glucanos y manoproteínas (activadores del crecimiento de bacterias lácticas, presentan interacciones con volátiles aromáticos, tienen un importante papel en la modificación de la estructura y densidad en boca y actúan como coloides protectores estabilizando la materia colorante, evitando precipitaciones tartáricas y quiebras proteicas).

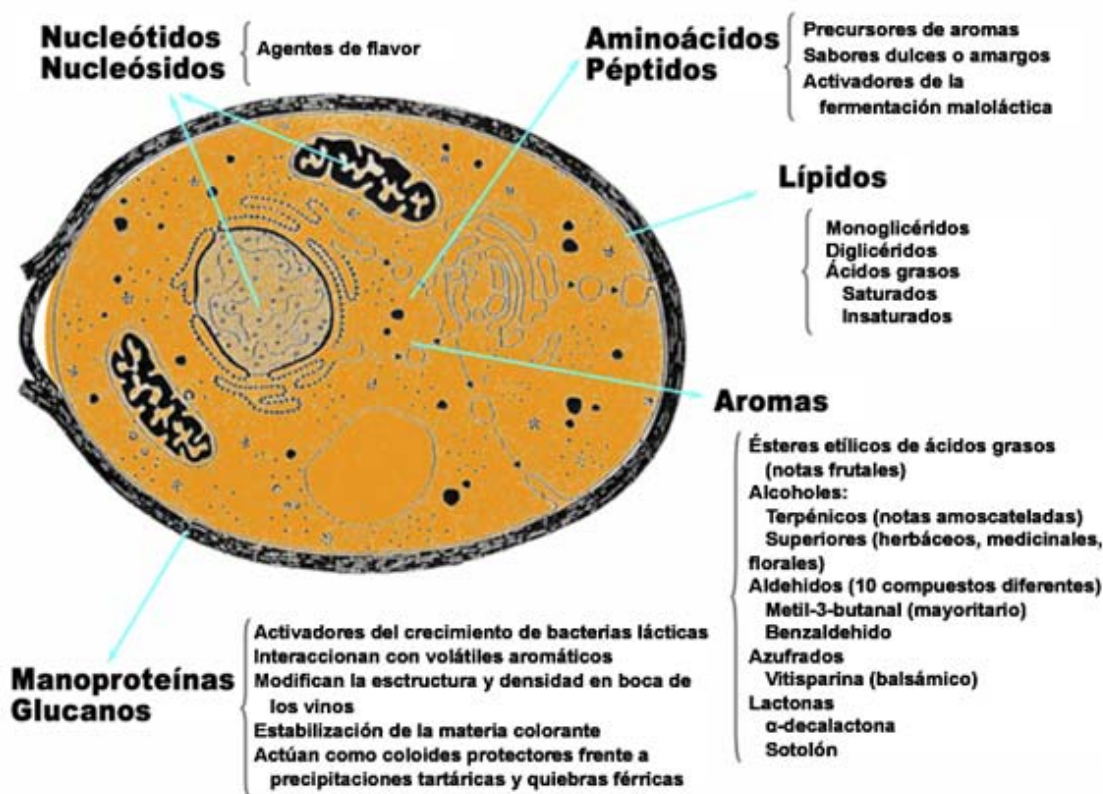


Figura 1. Compuestos liberados al mosto durante la autólisis de las levaduras.

La repercusión en el perfil aromático del vino debido a moléculas volátiles procedentes de la autólisis es notable. En el estudio de la autólisis en vinos modelo (medio hidroalcohólico con 12 % de etanol v/v tamponado a pH 3,5) con cepas de *Saccharomyces cerevisiae* a temperaturas de 15-20 °C o 35-40 °C, Chung [13] detectó entre 80-100 compuestos volátiles que se pueden clasificar en los siguientes grupos [14]:

- Esteres: Identificados hasta 39 compuestos la mayoría ésteres etílicos de ácidos grasos y que aportan al perfil aromático del vino notas frutales.
- Alcoholes: Identificados hasta 15 moléculas que se pueden clasificar en dos grupos mayoritarios. Alcoholes terpénicos, con aromas típicos de las variedades moscatel y alcoholes superiores, con aromas herbáceos, medicinales o florales (2-fenil-etanol).
- Aldehidos: Identificados hasta 10 compuestos diferentes de los cuales el mayoritario es el metil-3-butanal, que supone un 40% del total y que aparece en cantidades superiores a su umbral de percepción. También otros interesantes por su perfil aromático como el benzaldehido.

- **Compuestos azufrados:** aumentan a lo largo de la crianza sobre lías, se ha identificado como interesante la vitisparina, derivado norisoprenoide con aromas que recuerdan al eucaliptus.
- **Lactonas:** Identificados 8 compuestos con aromas similares a los que presenta la nuez de coco (α -decalactona). Otra lactona de gran interés es el sotolón con umbrales de percepción inferiores a 0,1 $\mu\text{g/L}$. El sotolón aparece en vinos que han sufrido largos envejecimientos y crianzas sobre lías como sucede en los champagnes de largos envejecimientos y en los vinos del Jura.

Papel de la madera. Los chips como sustitutos de la barrica

Si a la crianza sobre lías se le suma que se realiza en depósito en presencia de madera de roble (chips), o en barrica, se pueden aumentar los contenidos en determinados volátiles procedentes de la madera como lactonas, fenoles volátiles, derivados furánicos, aldehidos fenólicos, [15, 16] que a su vez pueden ser modificados por bacterias y levaduras a otros volátiles, en ocasiones de bajo umbral de percepción e interesante perfil organoléptico, como el guaicol, el 4-vinilguaiacol y el 4-etilfenol (aportan aromas ahumados, especiados y animales).

Del mismo modo, durante la crianza en barrica de vinos tintos en presencia de lías, se ha detectado recientemente [17] una molécula de agradable perfil organoléptico, el furfuriltiol, cuya síntesis es debida a la reacción del furfural procedente de la madera con el SH_2 que se origina en las lías. Esta molécula presenta aromas que recuerdan al café tostado y que tendría una repercusión interesante en el bouquet de los vinos envejecidos.

El envejecimiento sobre lías combinado con el uso de chips, permite suavizar los aportes de la madera [18], lo que ayuda a reducir su impacto organoléptico y evitar el problema cada vez más extendido, de los vinos maderizados, en los que el perfil aromático varietal y fermentativo, quedan completamente eclipsados bajo los típicos aromas de tostados y especiados, procedentes de la madera de roble.

Por otra parte la liberación en el vino durante la autólisis de una carga coloidal tan importante, supone un incremento de la estructura en boca, acentuando la sensación de untuosidad y de densidad [19]. Esto contribuye notablemente a un aumento de la permanencia en boca de los vinos y por tanto a una mayor complejidad, y como consecuencia de la interacción de los polisacáridos liberados durante la autólisis y la fracción polifenólica (procianidínica y elágica) se consigue una mejora en la astringencia [20]. Además la repercusión en la mayor estabilidad de color en presencia de autolisados de levaduras, se fundamenta en la protección de la estabilidad coloidal que produce la presencia en el vino de polisacáridos y manoproteínas.

Microoxigenación

La microoxigenación es una técnica de reciente desarrollo, pero de extendida aplicación en la elaboración de vinos tintos. Su uso durante la etapa de desarrollo celular al inicio de la fermentación permite acelerar el crecimiento y reproducción celular. En las fases finales de la fermentación, cuando las condiciones del mosto son marcadamente anaerobias, permite la síntesis de ácidos grasos insaturados y otros esteroides que son imprescindibles para el correcto funcionamiento celular [21, 22].

Además de la utilidad de las aplicaciones de oxígeno como activadores de fermentación, también existe otra faceta de la microoxigenación [23-25] en el envejecimiento de los vinos (especialmente de la fracción fenólica) y en la estabilidad de la materia colorante. Durante el envejecimiento en barrica de los vinos tintos se producen una serie de reacciones de evolución de la fracción fenólica. De estas son fundamentalmente importantes las reacciones de polimerización entre antocianos y procianidinas. Esta polimerización supone la síntesis de formas de color de mayor estabilidad y persistencia en el vino, y que a su vez implica un desplazamiento hipsocrómico de la λ_{max} de absorción de la antocianina. Debido a esto, los vinos tintos jóvenes tienen tonalidades violáceas y durante el envejecimiento tienden hacia los tonos anaranjados y tejas. Normalmente estas reacciones de polimerización son lentas, sin embargo se ven notablemente aceleradas en presencia de acetaldehído.

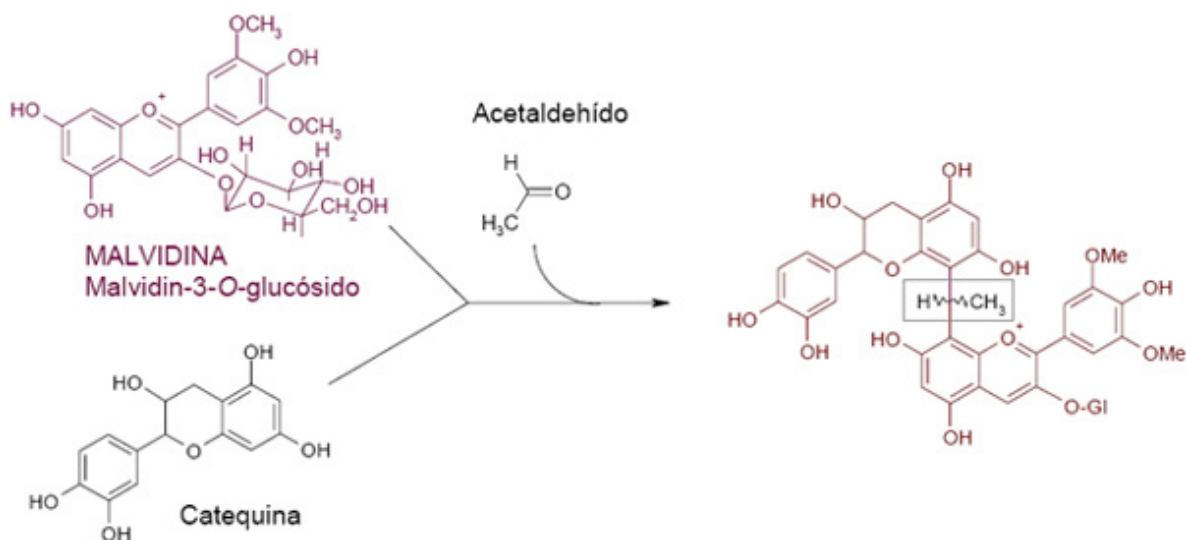


Figura 2. Formación de pigmentos poliméricos mediada por acetaldehído.

El acetaldehído actúa como molécula puente facilitando la unión de antocianos con procianidinas entre posiciones nucleofílicas de sus anillos aromáticos [26]. Estas moléculas además de ser estructuralmente más estables, poseen una mayor estabilidad de color frente a cambios de pH y son menos sensibles a decoloración por SO_2 [27-30].

La naturaleza de las moléculas sintetizadas se ha estudiado detalladamente por diversos autores [31, 32] y se han propuesto distintos modelos de unión entre distintos isómeros de catequinas y antocianos (**Figura 2**). El factor fundamental es la protección que produce la procianidina sobre el antociano, debido al impedimento estérico que supone frente al ataque nucleófilo por moléculas de agua [33-38]. Este ataque nucleófilo en antocianos libres supone el primer paso en su evolución a pseudobases carbinol calconas (formas no coloreadas) y por tanto sin un papel importante en el color de los vinos.

Levaduras seleccionadas para crianza sobre lías

Uno de los principales problemas de la crianza sobre lías de vinos tintos es el desarrollo de aromas desagradables especialmente de reducción y la dificultad de dirigirla sin producir desviaciones organolépticas. Una forma tradicional de reducir los problemas de la crianza sobre lías, intentando aportar solo restos de levaduras, es la crianza sobre lías finas, que supone trasegar el vino tras la fermentación y dejarlo en contacto solo con las levaduras que se encuentran en suspensión. De este modo se reduce la cantidad de levaduras con las que se va a realizar la crianza y se eliminan otros contaminantes que aumentan las posibilidades de generar aromas de reducción sulfhídricos.

Otra forma tecnológicamente más interesante, es el aporte postfermentativo de levaduras especialmente seleccionadas para facilitar la crianza sobre lías. Esto permite poner en contacto el vino terminado, con levaduras de una única especie, que se han producido exógenamente y que incluso pueden ser pasterizadas para reducir contaminaciones bacterianas.

La selección de levaduras para ser utilizadas en crianza sobre lías debe considerar una baja adsorción de antocianos en paredes celulares, ya que las cepas de levadura tienen una notable capacidad para adsorber antocianos, especialmente derivados cinamílicos [39], que son los que presentan rojos más azulados. Se pueden seleccionar levaduras que adsorban antocianos en porcentajes próximos al 1%, presentando muchas cepas comerciales valores entre el 3 y el 6% [40] para el contenido de antocianos totales, pero que pueden oscilar del 10 al 30% para los derivados cinamílicos.

En la selección de levaduras para crianza sobre lías se deben buscar cepas con una rápida autólisis y que liberen fragmentos de polisacáridos de pequeño peso molecular, lo suficientemente grandes para modificar densidad y estructura en los vinos, pero lo suficientemente pequeños para que sean estables en dispersión coloidal en el vino y que no precipiten o causen turbideces. Se ha estudiado por varios autores la evolución de la fracción de polisacáridos con pesos moleculares entre 3000 y 75000 Daltons por considerarse los polímeros de tamaños mayores que pueden ser soportados en dispersión coloidal en los vinos.

La técnica habitualmente empleada para la separación de polisacáridos en vinos es la precipitación en medio apolar ácido (por ejemplo, utilizando etanol acidificado con ácido clorhídrico). Así, se consigue forzar la insolubilización de los polisacáridos, evitando la precipitación de sales de ácidos orgánicos como tartratos y malatos. Posteriormente los precipitados se deshidratan para eliminar el etanol y se resuspenden en agua, para realizar un fraccionamiento por tamaño molecular mediante cromatografía de exclusión molecular. La detección se realiza mediante detectores de índice de refracción.

El seguimiento mediante esta técnica de la liberación de polisacáridos en autolisados en medios modelo permite seleccionar levaduras que liberen fragmentos de polisacáridos de un tamaño molecular adecuado y que esta autólisis sea lo más rápida posible. La **Figura 3** muestra las diferencias en la liberación de polisacáridos por dos cepas de *Saccharomyces* un testigo comercial la cepa S6U de Lallemand Inc. (Canadá) y otra levadura, seleccionada para la vinificación de vinos tintos en Rioja (cepa 5CV).

Se puede observar a igual tiempo de autólisis, una mayor liberación de polisacáridos por la cepa 5CV.

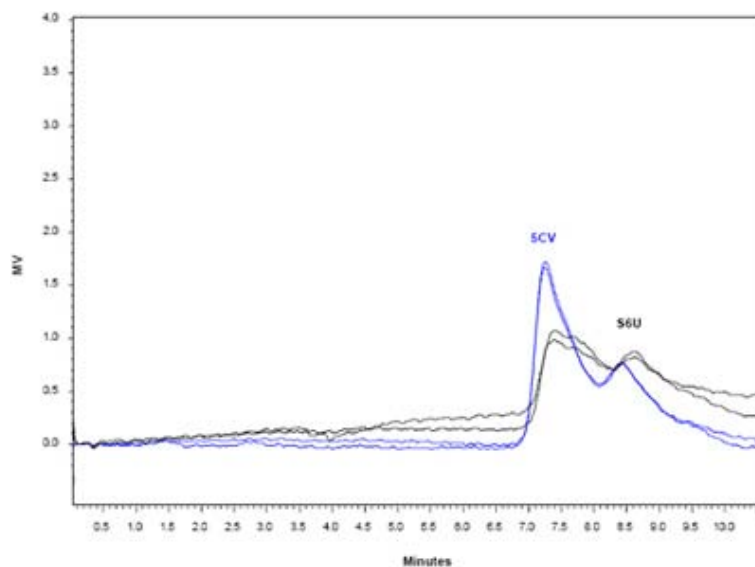


Figura 3. Separación cromatográfica de polisacáridos para las cepas S6U y 5CV en medio autolítico Feuillat. La separación se ha realizado por cromatografía de exclusión molecular con una columna Ultrahydrogel 250 (Waters, Mildford, MA) con separación isocrática utilizando NaNO_3 0,1 M como eluyente y detección por índice de refracción.

Además del uso de levaduras seleccionadas de rápida autólisis, el proceso puede ser facilitado a nivel industrial con la adición de β -glucanasas, enzimas que hidrolizan los β -glucanos, polisacáridos de estructura fibrilar que junto con la quitina ayudan a configurar la estructura de la pared celular, formando un entramado que soporta las manoproteínas.

Los sistemas de envejecimiento que asocian el uso de chips, microoxigenación y lías buscan emular de manera artificial la crianza en bodega, produciendo evoluciones importantes en tiempos más cortos y especialmente reduciendo costes. Una de las fracciones más sometidas a variación es la polifenólica y en especial la materia colorante. La **Figura 4** muestra la evolución del contenido de antocianos totales monoméricos durante el envejecimiento con crianza sobre lías con dosis de 1 g/L en cuatro ensayos distintos en los que se ha utilizado también microoxigenación y chips (**Tabla 1**). La crianza de vinos tintos en general, supone una pérdida de antocianos monoméricos, bien porque polimerizan a formas más estables, bien porque son degradados o evolucionan a formas no coloreadas. Se puede observar que el contenido inicial en todos los casos estudiados oscila entre 230 y 250 mg/L y tras 130 días de envejecimiento el contenido de antocianos monoméricos oscila entre 140 y 180 mg/L.

(Figura 4)

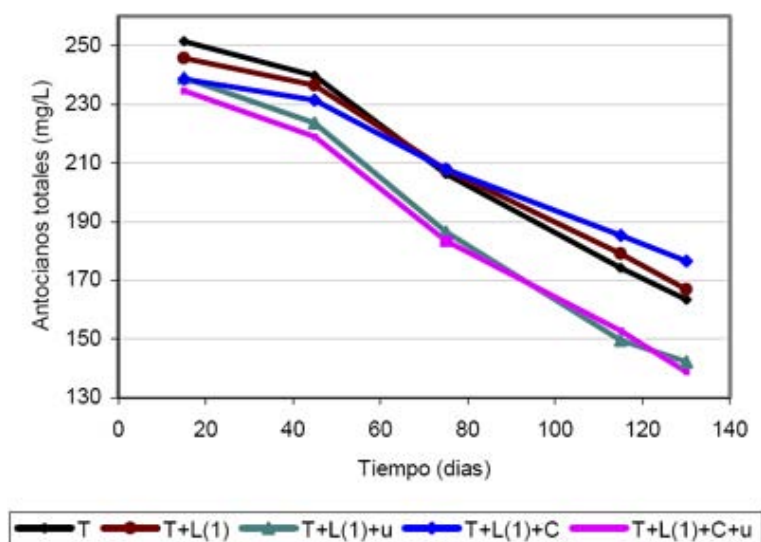


Figura 4. Antocianos totales en ensayos de envejecimiento con crianza sobre lías con una levaduras seleccionada en dosis de 1 g/L frente a testigo sin adición (T), uno de los ensayos se ha adicionado además con 1 g/L de chips (T+L(1)+C), en otro se ha aplicado microoxigenación en dosis de 3 mL O₂ por L y mes (T+L(1)+u) y en otro se ha aplicado microoxigenación y chips simultáneamente a la crianza sobre lías, en las dosis indicadas. Antocianos determinados mediante cromatografía HPLC-PDA, en columna Novapack C18 300 mm (Waters, Mildford, MA) con separación en gradiente utilizando HCOOH:H₂O/MeOH como eluyente y detección mediante array de diodos.

Tabla 1. Ensayos de crianza sobre lías en vinos tintos con microoxigenación y chips.

Ensayo	Lías (g/L)	Chips (g/L)	Microoxigenación (mL de O ₂ por L de vino y mes)
T	-	-	-
T+L(1)	1	-	-
T+L(1)+u	1	-	3
T+L(1)+C	1	1	-
T+L(1)+C+u	1	1	3

Sin embargo, los polisacáridos liberados durante la crianza sobre lías tienen un efecto protector, que permite una mayor persistencia en el vino de los antocianos monómeros, responsables de los colores azulados de los vinos tintos jóvenes. En la **Figura 1** se observa que inicialmente el testigo (T) presenta un mayor contenido de antocianos que el resto de los ensayos, por los antocianos que son retenidos en las lías adicionadas, pero el testigo tiende a perder antocianos monómeros más rápido que los vinos con lías y a partir del día 70 los de crianza sobre lías tienen más antocianos monómeros que el testigo por el efecto protector de los polisacáridos liberados.

En los vinos en los que la crianza sobre lías se acompaña de microoxigenación hay una pérdida más rápida de antocianos monoméricos porque esta técnica favorece la formación de polímeros de antocianos con otros flavonoides, ver **Figura 4**.

CONCLUSIONES

El uso combinado de las técnicas de crianza sobre lías, microoxigenación y chips es una alternativa interesante y de bajo coste a la crianza convencional en barrica. Las mejoras afectan a la estabilidad de color, al incremento de la estructura y al perfil organoléptico. El uso de levaduras seleccionadas con baja adsorción de antocianos y rápida autólisis es el complemento adecuado para acelerar esta técnica de crianza mejorando sus inconvenientes.

BIBLIOGRAFÍA

1. Feuillat, M. and Charpentier, C. **Autolysis of yeast in Champagne**. Am. J. Enol. Vitic. 38(1):6-13. **1982**.
2. Charpentier, C., Nguyen Van Long, T., Bonaly, R. and Feuillat, M. **Alteration of cell wall structure in *Saccharomyces cerevisiae* and *Saccharomyces bayanus* during autolysis**. Appl. Microbiol. Biotechnol. 24:405-413. **1986**.
3. Lurton, L., Seguin, Y. P., Feuillat, M. **Etude de la protéolyse au cours d l'autolyse de levures en milieu acide**. Sci. Alim. 9:111-124. **1989**.
4. Charpentier, C., and Feuillat, M. **Yeast Autolysis**. In: Fleet, G. H. **Wine microbiology and biotechnology**. Harwood Academic Publisher. Churc. 225-242. **1992**.
5. Arnold, W. N. **Autolysis**. In: Arnold, W. N. **Yeast cell envelopes biochemistry, biophysics and ultrastructure**. Vol 2. CRC Press, Boca Raton. 93-103. **1980**.
6. Babayan, T. L. and Bezrukov, M. G. **Autolysis in yeasts**. Acta Biotechnol. 5:129-136. **1985**.
7. Martínez, A. **Estudio de la autolisis de levaduras durante la elaboración de vinos de cava**. Tesis Doctoral. Universidad Autónoma de Madrid. **2000**.
8. Pueyo, E., Polo, C. and Martín, P. J. **Changes in the amino and composition of the nitrogenous fraction during the ageing of wine with yeast**. J. Agric. Food Chem. 46:4042-. **2000**.
9. Charpentier, C. and Freyssinet, M. **The mechanism of yeast autolysis in wine**. Yeast. 5:5181-5186. **1989**.
10. Guilloux-Benatier M., Guerreau, J. and Feuillat, M. **Influence of initial colloid content on yeast macromolecule production and on the metabolism of wine microorganisms**. Am. J. Enol. Vitic. 46(4):486-492. **1995**.
11. Ferrari G., Feuillat M. **L'élevage sur lies des vins blancs de Bourgogne. 1ère partie: Etude des composés azotés, des acides gras et analyse sensorielle des vins**. Vitis. 27:183-193. **1988**.
12. Feuillat, M., Freyssinet, M., Charpentier, C. **L'élevage sur lies des vins blancs de Bourgogne. 2ème partie: Evolution des macromolécules (polysaccharides et protéines)**. Vitis. 28:161-176. **1989**.
13. Chung, S. H. **Contribution a l'étude de la formation des composés volatils au cours de l'autolyse de levures de vinification**. Thèse de doctorat, université de Bourgogne, Dijón. **1986**.
14. Lubbers, S., Charpentier, C., Feuillat, M. and Voilley, A. **Influence of yeast walls on the behavior of aroma compounds in a model wine**. Am. J. Enol. Vitic. 45(1):29-33. **1994**.
15. Feuillat, F., Moio, L., Guichard E., Marinov, M., Fournier, N. and Puech, J. L. **Variation in the concentration of ellagitanins and cis- and trans-b-methyl-g-octolactone extracted from oak wood under model cask for wine conditions**. Am. J. Enol. Vitic. 48:509-515. **1997**.
16. Feuillat, M. **Élevage des vins blancs: incidence aromatique des fermentations en fût et d l'autolyse des levures**. Revue Française d'Oenologie. 174:19-23. **1999**.
17. Blanchard, L., Tominaga, T. y Dubordieu, D. **Formation of furfuralthiol exhibiting a strong coffee aroma durin oak barrel fermentation from furfural released by toasted staves**. J. Agric. Food Chem. 49:4833-4835. **2001**.
18. Zamora, F. **La crianza de vino tinto sobre lías; una nueva tendencia**. Enólogos. 19:24-28. **2002**.
19. Fornairon-Bonnefond, C., Camarasa, C., Moutonet, M. and Salmon, J. M. **New trends on yeast autolysis and wine ageing on lees: A bibliographic review**. J. Int. Vigne. Vin. 36:46-69. **2002**.
20. Feuillat, M., Escots, S., Charpentier, C. y Dulau, L. **Élevage des vins rouges sur lies fines. Intérêt des interactions entre polysaccharides de levure et polyphénols du vin**. Rev. Oenol. 98:17-18. **2001**.
21. Henry, S. A. **The membrane lipids of yeast: biochemical and genetics studies**. In: The molecular biology of the yeast *Saccharomyces*: Metabolism and Gene Expression. Cold Spring Harbor, New York. 101-158. **1982**.
22. Macy, J. and M. W. Miller. **Anaerobic growth of *Saccharomyces cerevisiae* in the absence of oleic acid and ergosterol?** Arch. Microbiol. 134:64-67. **1983**.
23. Moutounet, M., Ducournau, P., Chassin, M. y Lemaire, T. **Appareillage d'apport d'oxygène aux vins. Son intérêt technologique**. Oenologie. 95, 5ème Symposium Internationale d'Oenologie. Ed. Lavoisier. Paris. 411-414. **1995**.
24. Vivas, N., Zamora, F., Glories, Y. **Incidence de certains facteurs sur la consommation de l'oxygène et sur le potentiel d'oxydoréduction dans les vins**. J. Int. Sc. Vigne Vin. 27:23-34. **1993**.
25. Vivas, N., Glories, Y. **Les phénomènes d'oxydo-réduction liés à l'élevage en barrique des vins rouges: aspects technologiques**. Rev. Fr. OEnol. 142:33-38. **1993**.
26. Saucier, C., Little, D. and Glories, Y. **First evidence of acetaldehyde-flavanol condensation products in red wine**. Am. J. Enol. Vitic. 48:370-374. **1997**.
27. Rivas-Gonzalo, J. C., Bravo-Haro, S. And Santos, C. **Detection of compounds formed through the reaction of malvidin-3-monoglucoside**. J. Agric. Food Chem. 43:1444-1449. **1995**.

28. Timberlake, C. F., Bridle, P. **Interactions between anthocyanins, phenolic compounds and acetaldehyde and their significance in red wines.** *Am. J. Enol. Vitic.* 27:97-105. 1976.
29. Bakker, J., Picinelli, A., and Bridle, P. **Model wine solutions: color and composition changes during aging.** *Vitis.* 32:111-118. 1993.
30. Somers, T. C., Evans, M. E. **Spectral evaluation of young red wines: anthocyanin equilibria, total phenolic, free and molecular SO₂, "Chemical age".** *J. Sci. Food. Agric.* 28:279-287. 1977.
31. Escribano-Bailon, T., Álvarez-García, M., Rivas-Gonzalo, J. C., Heredia, F. J. and Santos-Buelga, C. **Color and stability of pigments derived from the acetaldehyde-mediated condensation between malvidin-3-O-glucoside and (+)-catechin.** *J. Agric. Food Chem.* 49:1213-1217. 2001.
32. Es-Safi, N. E., Fulcrand, H., Cheinier, V. and Montounet, M. **Studies on the acetaldehyde-induced condensation of (-)-epicatechin and malvidin 3-O-glucoside in a model solution system.** *J. Agric. Food Chem.* 47:2096-2102. 1999.
33. Brouillard, R. and Dubois, J. E. **Mechanism of the structural transformations of anthocyanins in aqueous media.** *J. Am. Chem. Soc.* 99:1359-. 1977.
34. Brouillard, R. and Delaport, B. **Chemistry of anthocyanin pigments. II. Kinetic and thermodynamic study of proton transfer, hydration and tautomeric reactions of malvidin 3-glucoside.** *J. Am. Chem. Soc.* 99:8461-. 1977.
35. Brouillard, R., Delaport, B. and Dubois, J. E. **Chemistry of anthocyanin pigments. III. Relaxation amplitudes in pH jump experiments.** *J. Am. Chem. Soc.* 100:6202-. 1978.
36. Brouillard, R. and Lang, J. **The hemiacetal-cis-chalcone equilibrium of malvin, a natural anthocyanin.** *Can. J. Chem.* 68:755-. 1990.
37. Cheminat, A. and Brouillard, R. **PMR investigation of 3-O-(β-D-glucosyl) malvidin structural transformations in aqueous solutions.** *Tetrahedron Lett.* 27:4457-. 1986.
38. Mazza, G. and Brouillard, R. **Color stability and structural transformations of cyanidin-3,5-diglucoside and four 3-deoxyanthocyanins in aqueous solutions.** *J. Agric. Food Chem.* 35:422-. 1987.
39. Morata, A., Gómez-Cordovés, M. C., Suberviola, J., Bartolomé, B., Colomo, B., Suárez, J. A. **Adsorption of anthocyanins by yeast cell walls during the fermentation of red wines.** *J. Agric. Food Chem.* 51 4084-4088. 2003.
40. Morata, A., Gómez-Cordovés, M. C., Colomo, B., Suárez, J. A. **Cell wall anthocyanin adsorption by different *Saccharomyces* strains during the fermentation of *Vitis vinifera* L. cv Graciano grapes.** *European Food Research and Tech.* In press. 2004.

Original publicado en la revista *Enólogos* nº 34. Marzo-Abril 2005.

First published in *Enólogos* magazine nº 34. March-April 2005.

ISSN 1695-7296

www.enologo.com