



**Área de Nutrición y Bromatología  
Facultad de Farmacia. Universidad de Sevilla**

**ESTUDIO DEL COLOR Y LA RELACIÓN CON LA  
COMPOSICIÓN ANTOCIÁNICA EN VINOS TINTOS  
ESPAÑOLES DE VARIEDAD TEMPRANILLO**

**Cristina Montes Berriatua**

**Sevilla, 2004**



La Tesis titulada *"Estudio del color y la relación con la composición antocianica en vinos tintos españoles de variedad tempranillo"* presentada por la Licenciada en Farmacia **Cristina Montes Berriatua** para optar al grado de Doctor, ha sido realizada en el Área de Nutrición y Bromatología del Departamento de Bioquímica, Bromatología, Toxicología y Medicina Legal (Facultad de Farmacia, Universidad de Sevilla), bajo la dirección del Dr. Francisco José Heredia Mira.

En Sevilla, a 13 de Mayo de 2004

Francisco José Heredia Mira  
Director de la Tesis

Cristina Montes Berriatua

111 355  
19-05-04  
Sevilla  
Pleno de la Junta



**Área de Nutrición y Bromatología**  
**Dpto. Bioquímica, Bromatología Toxicología y Medicina Legal**  
**Facultad de Farmacia. Universidad de Sevilla**

**ESTUDIO DEL COLOR Y LA RELACIÓN CON LA COMPOSICIÓN  
ANTOCIÁNICA EN VINOS TINTOS ESPAÑOLES DE VARIEDAD  
TEMPRANILLO**

**Memoria presentada por la Licenciada  
Cristina Montes Berriatua para optar al  
grado de Doctor en Farmacia.**

**Sevilla, 2004**

## **AGRADECIMIENTOS**

Quiero expresar mi agradecimiento:

Al Dr. Francisco J. Heredia, Director de esta Memoria, que en su día me propuso comenzar esta investigación, animándome y confiando en mí en todo momento. Por su dedicación, orientaciones y buenos consejos. Sin él, hoy no estaría aquí.

A todos mis compañeros y amigos de Nutrición y Bromatología que, además de animarme y compartir sus conocimientos conmigo, me han ayudado en la realización de este trabajo.

A Jose, mi marido, por estar siempre y aguantar esos momentos malos, que no han sido pocos.

A Marta, mi hermana y compañera de trabajo, por trabajar mas de lo que le correspondía y tranquilizarme siempre, o intentarlo.

A tí papá, a mamá y a toda la familia por vuestro incondicional apoyo y colaboración y por animarme a tomar la decisión. Sin vosotros no podría haberlo hecho.

A mis abuelos que han estado animándome a conseguir mis objetivos.

A mi abuela Tina que le habría gustado verlo.

A ti y a todos.

**GRACIAS**

---

# ÍNDICE

<b>I.</b>	<b>INTRODUCCIÓN</b>	
	1.1. EL VINO TINTO	8
	1.1.1. Variedad Tempranillo	
	1.1.2. Elaboración del vino tinto	
	1.1.3. Características químicas del vino	
	1.2. COMPUESTOS ANTOCIÁNICOS	20
	1.2.1. Estructura química	
	1.2.2. Biosíntesis	
	1.2.3. Características espectroscópicas	
	1.2.4. Factores que influyen en el color	
	1.2.5. Interacciones moleculares	
	1.2.6. Análisis de antocianos	
	1.3. EL COLOR	50
	1.3.1. Evaluación visual del color	
	1.3.2. Evaluación instrumental del color	
	1.4. EL COLOR DE LA UVA Y EL VINO TINTO	58
<b>II.</b>	<b>OBJETIVOS</b>	64
<b>III.</b>	<b>PARTE EXPERIMENTAL</b>	
	3.1. MUESTRAS	70
	3.2. METODOLOGÍA	73
	3.2.1. Instrumental y reactivos	
	3.2.1.1. Aparatos y material	
	3.2.1.2. Reactivos	
	3.2.2. Determinación de parámetros fisicoquímicos	
	3.2.3. Índices antociánicos	
	3.2.4. Espectro de absorción	
	3.2.5. Espectro de reflexión	
	3.2.6. Colorimetría	
	3.2.7. Examen visual	

---

<b>IV. COMPOSICIÓN QUÍMICA</b>	
4.1. Parámetros enológicos	90
4.2. Compuestos antociánicos	95
<b>V. ESTUDIO COLORIMÉTRICO DEL VINO TINTO</b>	
5.1. Espectrofotometría	110
5.2. Espectrorradiometría	123
5.3. Análisis visual	127
<b>VI. RELACIONES COLOR - COMPOSICIÓN ANTOCIÁNICA</b>	
6.1. Color de los antocianos aislados	132
6.2. Regresiones múltiples antocianos-color	140
<b>VII. ERRORES INSTRUMENTALES</b>	
7.1. Errores por el intervalo de integración	154
7.2. Errores por el ancho de banda espectral	162
7.3. Funciones de peso	168
<b>VIII. CONCLUSIONES</b>	176
<b>IX. APÉNDICE 1. Colorimetría Triestímulo</b>	182
<b>APÉNDICE 2. Tablas</b>	200
<b>X. BIBLIOGRAFÍA</b>	284

## **I. INTRODUCCIÓN**

## 1.1. ESTUDIO DE LOS VINOS TINTOS

España es uno de los productores de vino más importantes del mundo, con Francia e Italia, y posee una gran variedad de vinos de alta calidad, cultivados y elaborados en más de 57 áreas geográficas diferentes, donde se cultivan más de x variedades de uva (*Vitis Vinífera*) distintas, entre las que destacan, por una especial relevancia en sus zonas de producción o que cuentan con una amplia superficie de cultivo, están: como uvas tintas, Tempranillo, Cariñano, Graciano, Bobal y Garnacha; y entre las uvas blancas destacan Albariño, Pedro Ximenez, Viura, Malvasia, Macabeo, Moscatel y Palomino.

Diversos son los factores que intervienen en la calidad de un vino: tanto desde el punto de vista vitícola (cepa, suelo, clima, añada, variedad de uva) como enológicos (fases prefermentativas, fermentación, vinificación y crianza) (*Aleixandre y Lizama, 1998*).

La cepa imprime las características propias del vino; la variedad de la cepa determina, incluso, la elaboración de vinos diferentes, en viñedos cultivados en las mismas regiones y suelos. El clima influye igualmente en las cualidades del vino: los microclimas son decisivos, incluso dentro de una misma zona. Los vinos más ricos en azúcar y menos ácidos se producen en las regiones más soleadas; en cambio, los vinos más enjutos, ácidos y menos alcohólicos se dan en las regiones más frías. Las singulares características de la añada están determinadas igualmente por otros factores, como la evolución del clima a lo largo del año; influencia que se considera del todo decisiva durante los meses estivales, puesto que el clima de los meses de julio y agosto es el responsable de la calidad de la añada.

### 1.1.1. Variedad Tempranillo

La uva tinta por excelencia, que se cultiva en España y que sobresale por su calidad es la variedad Tempranillo. Está presente en 28 de las 54 Denominaciones de Origen y en 27 de las 49 comarcas productoras de Vino de la Tierra. También se cultiva en Portugal, Francia, Argentina y Estados Unidos.

Esta uva tinta ha sido cultivada desde antiguo en varias regiones españolas. Se dice que la tempranillo podría tener un origen borgoñón por la similitud con el proceso vegetativo de la Pinot Noir. Según esta hipótesis, procedería de los esquejes que los monjes borgoñeses de Cluny dispersaron por los diferentes monasterios castellanos de la orden. En la etimología popular, *tempranillo* quiere decir uva temprana, es decir, que madura antes que el resto de las variedades tintas, sobre todo en los lugares más fríos, zonas septentrionales o tierras elevadas. Por ello, la tempranillo es considerada una variedad de origen septentrional, distinta de otras variedades más mediterráneas, como son la garnacha, la palomino, la monastrell, etc.

Está considerada variedad tinta principal en las Denominaciones de Origen de Calatayud, Cigales, Conca de Barberà, Costers del Segre, La Mancha, Penedès, Ribera del Duero, La Rioja, Somontano, Utiel-Requena, Valdepeñas y Vinos de Madrid. Su cultivo también es abundante en Burgos, Álava, Cuenca y Ciudad Real.

Dependiendo de su zona de cultivo se la reconoce con multitud de sinonimias: *escobera* y *chinchillana* en Badajoz; *cencibel* en Ciudad Real, Cuenca, Guadalajara y Madrid; *tinto fino* en Madrid, *tinta de Toro* en Zamora; *tinto del país* en Burgos, Soria y Valladolid; *tinto Madrid* en Toledo, Santander, Salamanca, Soria y Valladolid; *ull de lebre* en Cataluña; *vid de Aranda* en Burgos. En Francia, y en el resto de Europa, se le denomina *tempranillo*, mientras que en California y, en general, en toda América, se utiliza el término *valdepeñas*.

Su producción es moderada (2.5 a 3.2 kilos por cepa), y muy sensible a enfermedades como el oídio y algo menos al mildiu. Es una cepa de porte erguido, de brotación tardía a media y madurez temprana. Sus hojas son de tamaño grande, de forma pentagonal, poseen siete lóbulos y unos senos laterales muy profundos, con haz de color verde oscuro y envés afelpado. Sus racimos son de tamaño medio, muy compactos, con uvas de color negro azulado, hollejo bastante espeso y pulpa carnosa.

La tempranillo representa a una de las uvas características y con más personalidad en buena parte del viñedo peninsular. Esta variedad tiende a ofrecer un escaso poder oxidativo y, por lo tanto, sus vinos poseen buenas aptitudes para soportar una crianza más o menos larga. Vegeta bien en suelos arcillo-calcáreos y con ella se obtienen vinos de característico color rubí, de notable acidez y adecuada graduación alcohólica.

Por lo general, son vinos aromáticos, muy afrutados, frescos y secos, con buena estructura tánica y suficiente acidez, con matices de mora o zarzamora, cereza, ciruelas y grosellas en los jóvenes, y frutas maduras, vainilla, cuero y canela en los de crianza. Sus taninos tienen la particularidad de que se redondean con bastante rapidez.

En líneas generales, los mejores vinos de tempranillo se obtienen en zonas con alta insolación y con temperaturas nocturnas muy frías. En estas condiciones se alcanzan graduaciones alcohólicas más altas y una buena acidez, lo que permite obtener vinos de gran calidad. Las características generales presentan ciertas particularidades según la zona (*Hidalgo, 1993*):

- En la Rioja Alta, la uva tempranillo da vinos de poco color por ser una zona más fresca y húmeda y con una graduación alcohólica entre los 11 y 12.5°. En la Rioja Alavesa, la graduación y pigmentación es algo más alta, mientras que la acidez es baja por el elevado índice de potasio de los suelos. De ahí que se mezclen habitualmente uvas de ambas zonas. Es muy apreciada en toda La

Rioja, que junto a la graciano y mazuelo constituyen la base de los crianzas y reservas.

- En la Ribera del Duero, la tempranillo o Tinto Fino (como se denomina en la región), posee mayor equilibrio. Sus vinos conservan tanto color como en la Rioja Alta, por la mayor insolación diurna y más acidez que en la Rioja Alavesa al sufrir temperaturas nocturnas más frías. Es la variedad tinta por antonomasia.
- En Cataluña, la cepa (Ull de Llebre) se adapta muy bien en la zona de Lérida que comprende la DO Costers del Segre al tener un clima similar al castellano. Fuera de esta zona la tempranillo se acompaña con Garnacha para que sea mas sabrosa o Cabernet para obtener una mayor intensidad de aroma y carácter.
- Los vinos de Cencibel de La Mancha y Valdepeñas tienen más estructura, menor acidez y una evolución en crianza más rápida que los riojanos.
- En el alto Douro portugués se cultiva bajo el nombre de tinta Roriz. Es la uva destacada en el viñedo de la región de Oporto. Tiene rasgos parecidos a los de la tinta de Toro, potente y con mucho color aunque con mayor acidez.
- En California, en el valle de San Joaquín la tempranillo ocupa más de 480 hectáreas con la que se producen vinos tintos relativamente corrientes. El calor de esta zona los perjudica dando vinos faltos de color, acidez y expresividad.

### 1.1.2. *Elaboración del vino tinto*

El estado de maduración de la uva condiciona la calidad e incluso el tipo de vino. Es por tanto, uno de los principales factores que hay que considerar en la elaboración. Así, el trabajo del enólogo comienza con el seguimiento de la maduración de la uva y la determinación del momento idóneo de la vendimia. En el caso de la uva tinta, es aconsejable recoger las uvas cuando claramente se ha alcanzado la madurez. Tal criterio tiene como objetivo aumentar las sustancias extractivas presentes en el hollejo responsables del color y disminuir el contenido en ácidos. Ya en la bodega se comienza con el estrujado de la uva, que consiste en romper el hollejo para liberar el zumo. Al estrujado sigue el despallado, opcional, para eliminar el escobajo del racimo y evitar el exceso de taninos, aspereza y metanol en el vino. La pasta despallada se pasa a los depósitos de maceración y fermentación, en los que se debe dejar, como mínimo, un 20% de su capacidad vacío, ya que al fermentar, la masa aumenta de volumen y se produce espuma al hervir el mosto, lo cual podría producir reboses en los depósitos. Este trasvase es lo que se conoce como encubado. La vinificación en tinto supone, por tanto, una maceración y fermentación de la totalidad de la baya.

El sulfitado debe realizarse después del estrujado y antes de que se inicie la fermentación. Consiste en añadir anhídrido sulfuroso al mosto para evitar oxidaciones, favorecer el desarrollo de las levaduras, actuar como bactericida y facilitar la maceración mejorando el color de los vinos y la disolución de diversas sustancias (*Bakker y col., 1998*).

La maceración consiste en el paso por solubilización de un complejo de sustancias extractivas de los hollejos y pepitas al líquido que embebe, donde se está realizando, al mismo tiempo, la fermentación alcohólica. Entre las sustancias extractivas predominan los compuestos fenólicos, en particular los antocianos y taninos, siguen después las sustancias que constituyen los aromas primarios, y por

último sustancias pécticas, ácidos orgánicos y sus sales, sustancias nitrogenadas y fosforadas, etc.

La fermentación alcohólica consiste en la transformación de los azúcares de la uva en alcohol por la acción de las levaduras a temperatura inferior a 30 °C. Las levaduras de la vinificación pertenecen al género *Saccharomyces* y las especies utilizadas son numerosas. En este proceso, las partes sólidas afloran a la superficie, formando lo que se llama el sombrero, que debe remojar frecuentemente con mosto en fermentación (remontado), para lograr la homogenización de la mezcla y reactivar las levaduras por oxigenación del depósito.

Una vez terminada la maceración, el descube consiste en la separación del caldo y orujos mediante trasiego otro depósito. En el nuevo recipiente se completa la fermentación alcohólica separado de las partes sólidas. A continuación se realiza, opcionalmente, la fermentación maloláctica que consiste en la transformación del ácido málico, procedente de la uva, en láctico con el fin de suavizar el vino, ya que el ácido málico es un ácido fuerte y el láctico es débil.

Una vez terminada la fermentación maloláctica, el vino contiene en suspensión levaduras, bacterias y desechos celulares procedentes de la uva que deben eliminarse. Estas partículas sedimentan parcialmente con el reposo, pero suele ser necesario añadir al vino un producto clarificante y ser sometido a varias filtraciones combinadas con descensos de temperatura para que los tartratos precipiten. Por último, inmediatamente después de la filtración esterilizante se realiza el embotellado en botellas de vidrio y con tapón de corcho.

Actualmente, existen nuevas técnicas de vinificación en tinto como son: la vinificación continua, la termovinificación y la maceración carbónica. La maceración carbónica se usa cada vez más y consiste en causar la fermentación por medio de la introducción de racimos enteros de uva, sin estrujado y despalillado, en un depósito cerrado con ambiente de CO<sub>2</sub> y sin apenas oxígeno.

La uva, que está intacta, sufre una fermentación intracelular. Después de esta maceración se procede al estrujado y se completa la fermentación de manera tradicional. Este sistema produce vinos muy suaves, con bastante cuerpo e intenso color, muy afrutados, aptos para consumir como vinos jóvenes, no adecuados para crianza y que con el tiempo pierden estas cualidades.

La crianza es el proceso destinado a mejorar las características del vino tinto, mediante procesos oxidativos en barricas de madera, generalmente. Los vinos destinados a crianza deben tener buenas cualidades, deben ser recios, con la adecuada aspereza y acidez y colores vivos e intensos. El primer año de crianza suele realizarse en depósitos de acero inoxidable con el fin de decantar las partículas más finas, para después pasar a barricas de madera de roble, en las que puede permanecer diferentes períodos de tiempo según el tipo de vino que se desea obtener. La duración de la crianza en botella puede durar varios años. En muchos casos el proceso se completa con periodos variables de crianza en botella, en adecuadas condiciones de temperatura y humedad ambiental.

La clasificación de los vinos según el periodo de envejecimiento varía de unas regiones a otras. Aunque se puede considerar que existen cuatro tipos básicos de vino tinto en función de la edad:

**Joven:** Son los vinos que se consumen en el año siguiente de la cosecha sin haber sido sometidos a envejecimiento. Se caracterizan por tonos rojos púrpuras y rojos granates

**Crianza:** Son todos aquellos vinos que han madurado durante alrededor de un año en barril y otro en botella. Su color se transforma en rojos rubí.

**Reserva:** Vinos que envejecen al menos dos años en barrica, más uno de reposo en botella. El color rojo demuestra cierta estabilidad y tiende a mantenerse en los tonos rubí.

Gran Reserva: crianza en roble de un mínimo de tres años, más otro año en botella en locales generalmente subterráneos. Son los vinos que corresponden a las mejores añadas y suelen presentar tonos rojos castaños de calidad.

### ***1.1.3. Características químicas del vino***

Los sistemas característicos de obtención de los vinos tintos, esto es la maduración más o menos completa de las partes sólidas en el mosto que esté en un mayor o menor grado de fermentación, influyen sensiblemente en la composición de éste. Cualitativamente, los componentes del extracto son los mismos que para los vinos blancos con la excepción de los compuestos antociánicos. Cuantitativamente, en los tintos el contenido es mucho mayor en sustancias fenólicas y en sales, dado que las partes sólidas son ricas en estos compuestos.

El componente mayoritario del vino es el agua, en torno al 85% del total, y en segundo lugar el alcohol etílico o etanol, que es el componente más importante. La graduación alcohólica de los vinos en España varía entre 9° y 15°, por tanto la cantidad de alcohol presente en el vino oscila de 72 a 120 g/L, correspondiendo el 0.5% de esta cantidad a otros alcoholes distintos del etílico. El glicerol o glicerina, es el componente más abundante en el vino tras el Etanol, de 5 a 10 g/L. Es un producto resultante de la fermentación del mosto y contribuye a endulzar el vino. Otros alcoholes presentes en el vino y que proceden en parte del metabolismo de los glúcidos y en parte del de los aminoácidos, son los alcoholes superiores. Los cuatro principales son: 1-propanol, 2-metil-1-propanol, 3-metil-1-butanol y el 2-metil-1-butanol. Los alcoholes superiores totales (refiriéndose a los cuatro principales) varían entre 100 y 600 mg/100 g de alcohol anhidro.

La mayor parte de las propiedades del vino y de los fenómenos que en él ocurren dependen de su acidez. Los ácidos principales que se pueden encontrar en

la uva y que pasan al vino son el ácido tartárico, el ácido málico, cinámico y el ácido cítrico. Se tiende generalmente a favorecer la degradación biológica del ácido málico (fermentación maloláctica) produciéndose ácido láctico. Además, en la fermentación se forman pequeñas cantidades de ácidos orgánicos, acético principalmente, que son volátiles. Los valores normales en ácido acético después de la fermentación están en torno a 0.4 g/L, mientras que el valor de ácidos totales se encuentra en torno a los 5 g/L.

Las sustancias minerales presentes en el vino son las que se encuentran representadas por las cenizas. El elemento más representativo es el potasio seguido del calcio y magnesio. El sodio es generalmente menos abundante, excepto en cultivos cercanos al mar, y en muy pequeñas cantidades están el hierro, cobre, cinc y manganeso. Junto a los cationes se encuentran los aniones minerales, representados esencialmente por fosfatos, sulfatos y cloruros. En los vinos tintos elaborados con un tiempo de maceración medio, las cenizas alcanzan valores en torno a los 2.4 g/L.

También hay que mencionar la presencia de compuestos volátiles de naturaleza no fenólica (*Baumes y col., 1986*). Por otro lado, la pruina, sustancia cerosa que recubre la piel del grano y que, en el caso de vinificación con maceración, pasa al líquido (*De Rosa, 1988; Usseglio-Tomasset, 1989*).

Las distintas concentraciones de estos compuestos, como ya se ha dicho de forma general, dependen de numerosos factores edafoclimáticos, genéticos y tecnológicos (*Sun y col., 2001*).

### *Composición fenólica del vino*

Los compuestos fenólicos confieren al vino una gran parte de sus propiedades: ejercen un papel determinante sobre el color y en las características gustativas y olfativas, y además, están relacionados con algunos de sus efectos fisiológicos. Además, los fenoles juegan un papel importante en la elaboración del

vino, en las etapas de clarificación, conservación y envejecimiento (*Zamora-Marín, 1999*).

La composición fenólica del vino va a depender de varios factores. Por un lado, del desarrollo de la maduración de la uva, es decir, de las condiciones climáticas y la composición del suelo (factores edafoclimáticos). También depende de factores genéticos, así el tipo de variedad de *V. vinífera* condiciona la composición fenólica (*Arozarena y col., 2001*). Y, en tercer lugar, del tratamiento del cultivo y de las técnicas aplicadas para la elaboración y conservación del vino (factores tecnológicos) (*Zamora-Marín, 1999; Burns y col., 2001; Sun y col., 2001*).

El proceso de maduración de la uva tinta, como cualquier otro fruto, atraviesa una serie de etapas que, esencialmente, consiste en una pérdida paulatina de ácidos transformándose en azúcares, desde las fases iniciales o “verdes” hasta la maduración completa. En ese momento, la uva verde pierde su clorofila y se colorea por la aparición de diferentes compuestos de naturaleza polifenólica, oscureciéndose progresivamente durante todo el transcurso de la maduración.

Los fenoles se encuentran, principalmente, en el hollejo, y en menor proporción, en pepitas, raspón y pulpa. Son liberados durante el estrujado y prensado de la uva y la maceración del mosto, desde las partes sólidas hacia el líquido. Los fenoles totales están repartidos orientativamente de la forma siguiente: hollejos 30-35 %, pulpa y zumo 5 %, pepitas 60-65 %. Su distribución y estructura están bien determinadas en la bibliografía (*Bourzeix, 1982; De Rosa, 1988; Santos-Buelga, 1997; Abril y Casp, 1999*) (*Zamora-Marín, 1999*) distinguiéndose dos grupos, según su naturaleza flavonoide o no.

### 1. Fenoles no flavonoideos

- Ácidos fenólicos (benzoicos y cinámicos), que se encuentran en la uva en forma de combinaciones tipo éster, y de la que son liberados

por hidrólisis alcalina durante la elaboración y conservación del vino. Los ácidos benzoicos (hidroxibenzoico, gálico, protocatéquico.....) forman combinaciones ésteres de naturaleza no bien conocida, mientras que los ácidos cinámicos (cumárico, cafeico y ferúlico) reaccionan con los antocianos y el ácido tartárico.

- Derivados de tirosina (ácido tirosol), que se encuentra presente en todos los vinos, es sintetizado por las levaduras en el curso de la fermentación.
- Compuestos volátiles, que se forman mediante la actividad de la levadura alcohólica y dan lugar a la aparición de aromas muy particulares como el olor a clavel o clavo de olor.
- Otros como los taninos hidrolizables que pasan al vino desde la madera durante el envejecimiento.

## 2. *Fenoles de naturaleza flavonoide*

- Taninos condensados, de color amarillento, que se caracterizan por su capacidad para precipitar proteínas. Están compuestos por oligómeros y polímeros de catequina y epicatequina. Se llaman proantocianidinas.
- Flavanoles (catequina y epicatequina) , de color amarillo, son los monómeros precursores de los taninos condensados
- Flavonoles (miricetina y quercetina) , de color amarillo, están en la uva como glucósidos pero en el vino sufren la hidrólisis y se encuentran las agluconas.
- Flavonas, de color amarillo, que sólo están en las películas de las uvas tintas.

- Antocianos, sólo presentes en uvas tintas: (cianidina, delphinidina, peonidina, petunidina y malvidina), con propiedades fisicoquímicas que influyen en el color rojo de las uvas, por lo que su estudio es importante para la determinación del color de los vinos. Se presentan como monoglucósidos, diglucósidos y derivados acilados. La composición antociánica de la uva ha sido bien estudiada y se usa en estudios taxonómicos. Tan específicos son los pigmentos presentes en la uva tinta, que es posible la diferenciación de varias especies de *Vitis* haciendo un estudio de la composición antociánica (*Ortega-Meder y col., 1994; Carreño y col., 1997*) (*Ribéreau-Gayon, 1982; Hong y Wrolstad, 1990*).

## 1.2. ESTUDIO DE LOS ANTOCIANOS

El término “antociano”, derivado del griego, significa flor azul (“Anthos”, flor y “Cyanos”, azul) y fue acuñado por *Marquart* en 1835 para designar los pigmentos azules que poseían las flores. Posteriormente, se comprobó que no sólo las tonalidades azules, sino que prácticamente todos los tonos rojos, azules y violetas de flores, frutos, tallos, hojas y raíces, eran atribuibles a pigmentos de esta naturaleza (*Jackman y col., 1987*).

Considerado como uno de los grupos más importantes de pigmentos vegetales, los antocianos se encuentran en la mayoría de las plantas superiores, localizados principalmente en las flores y frutos, en los cuales son los pigmentos más frecuentemente implicados en la coloración (*Meyer, 1982; Bobbio y Scamparini, 1982; Mazza y Miniati, 1993*) (*Baublis y Berber-Jimenez, 1995*) (*Fossen y col., 1996; Cabrita y col., 2000; Fossen y col., 2001*).

Los antocianos están presentes en casi todos los alimentos vegetales, y aunque no son considerados como nutrientes, poseen una gran importancia en la dieta (*Pietta y Simonetti, 1999*).

En 1966 se describieron los efectos favorables que los antocianos mostraban sobre la visión en el hombre, particularmente aumentando la agudeza visual; y se comprobó que los antocianos facilitaban la regeneración de la rodopsina al comienzo de la adaptación a la oscuridad en conejos (*Belleoud y col., 1966; Zadok y col., 1999*).

Desde 1986 se utilizan para inhibir la agregación plaquetaria y fragilidad venosa (*Morazzoni y Magistretti, 1986*). Igualmente, se demostró que estos preparados aceleraban el proceso espontáneo de cicatrización y que poseían una actividad preventiva y curativa de úlceras gastroduodenales inducidas en ratas, ya que activan la biosíntesis de mucopolisacáridos, lo que mejora la eficacia de la capa mucosa gástrica y aumenta la substancia base del tejido conectivo y de los capilares (*Mazza y Miniati, 1993*).

Otro efecto observado es la inhibición *in vitro* que ciertos antocianos muestran sobre la elastasa pancreática porcina. Esta enzima ataca las fibras y el colágeno, por lo que tiene un papel importante en ciertas patologías, como arteriosclerosis, enfisema pulmonar, artritis reumatoide, etc. Se han visto efectos beneficiosos sobre la microangiopatía de los diabéticos, debida al espesamiento de los capilares por incremento del colágeno polimérico y de las glucoproteínas estructurales (Vivar-Quintana y col., 1999).

En lo que respecta a su toxicidad, Breider (1971), en experimentos realizados con gallinas en el año 1963, observó que los vinos y mostos de uvas híbridas tenían efectos sobre la descendencia. Estos resultados no han sido posteriormente confirmados por otros autores y, de hecho, en ensayos de toxicidad realizados con ratas no se han encontrado efectos adversos (Timberlake, 1988).

Existen diversas preparaciones farmacéuticas patentadas que contienen antocianos para el tratamiento de heridas, úlceras gastroduodenales, inflamaciones de boca y de garganta, enfermedades vasculares y otras ligadas al metabolismo lipídico y glicérico y, más recientemente, para el tratamiento de enfermedades circulatorias. Los antocianos son reconocidos por sus diversas propiedades farmacológicas y propiedades medicinales incluso anticarcinogénicas, antiinflamatorias y antimicrobianas, así como la prevención de la oxidación de las LDL (lipoproteínas de baja densidad) y por supuesto la prevención de enfermedades cardiovasculares por su naturaleza fenólica (Kamei y col., 1995; Heinonen y col., 1998; Lapidot y col., 1999; Frankel, 1999; Downham y Collins, 2000)

Los compuestos antociánicos han ido adquiriendo una gran importancia como agentes colorantes naturales, alternativos a los sintéticos, en muchas aplicaciones (Hong y Wrolstad, 1990). La uva se utiliza como la principal fuente de antocianos. El extracto de hollejo de uva (enocianina) se usa desde hace 120 años (Francis, 1999), siendo su primera aplicación la mejora del color de los vinos, aunque esta práctica está prohibida.

### 1.2.1. Estructura química

Los antocianos son compuestos fenólicos, pertenecientes a la familia de los flavonoides. Se denominan flavonoides a las distintas clases de sustancias naturales que contiene dos anillos aromáticos enlazados por una cadena de tres átomos de carbono, que se encuentran ampliamente distribuidos en el reino vegetal y que poseen diversas propiedades farmacológicas. Son biosintetizados a partir del ácido cinámico y de la acetilcoenzima-A vía malonil-CoA..

Químicamente, los antocianos son pigmentos glucosídicos solubles en agua, etanol y metanol e insolubles en disolventes lipídicos, derivados hidroxilados y/o metoxilados del ion fenil-2-benzopirilio o flavilio. La estructura de esta molécula es la de un híbrido de resonancia, en la que la carga positiva se encuentra deslocalizada entre diversos átomos de la molécula, aceptándose como posibles, diversas estructuras de tipo oxonio-carbonio (Figura 1). Los iones oxonio son generalmente poco estables, pero en el caso del fenil-2-benzopirilio, los dobles enlaces conjugados que posee le confiere estabilidad.

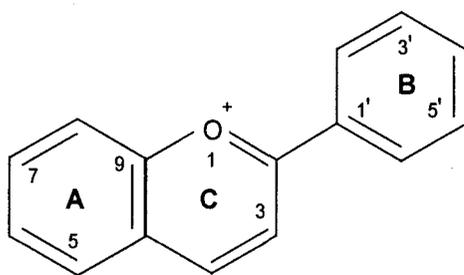
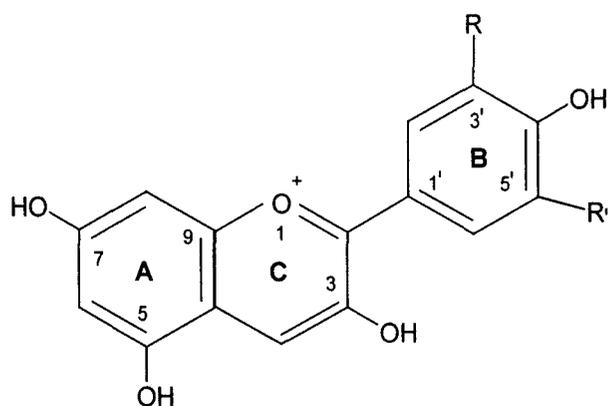


Figura 1. Estructura del ion flavilio o fenil-2-benzopirilio

La estructura de la molécula de antocianina consta de un aglucón o antocianidina, al cual se unen uno o más azúcares que, a su vez, pueden estar o no esterificados con diferentes ácidos orgánicos (*Harborne, 1967; Brouillard, 1982; Francis, 1989; Wong, 1995*).

Las antocianinas más frecuentes en la naturaleza derivan de seis aglucosones: cianidina, delphinidina, malvidina, peonidina, petunidina y pelargonidina, cuyas estructuras se diferencian entre sí según los sustituyentes que presentan en su anillo bencénico B (Figura 2). En la naturaleza existen aproximadamente 17 tipos de antocianidinas diferentes en tejidos de plantas (Meyer, 1982; Hutchings, 1994; Jackman y Smith, 1996).



Aglicona	R	R'
cianidina	OH	H
peonidina	OCH <sub>3</sub>	H
delfinidina	OH	OH
petunidina	OCH <sub>3</sub>	OH
malvidina	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>
pelargonidina	H	H

Figura 2. Estructura de las antocianidinas más comunes

En los tejidos de una planta se pueden encontrar varios pigmentos compuestos variando tanto el esqueleto aglucón como los azúcares. Normalmente se encuentran glucosilados con monosacáridos, siendo los azúcares encontrados con mayor frecuencia en orden de aparición: glucosa, ramnosa, xilosa, galactosa, arabinosa y frutosa (Francis, 1989), pero también se han identificado algunos di y trisacáridos. El azúcar se suele unir por su posición 1 al aglucón, mediante un enlace tipo éter que, excepto en el caso de la arabinosa, posee configuración  $\beta$ . La posición más habitual de la glucosilación es el C<sub>3</sub> de la antocianidina, confiriendo mayor estabilidad y solubilidad a la molécula (Brouillard, 1982; Jackman y col., 1987); cuando existe un segundo azúcar, éste se une sobre las posiciones 5, 7, 3', 5' o 4'. Por otro lado, los azúcares pueden encontrarse esterificados con ácidos en la posición C<sub>3</sub> de la antocianidina (Lee y Hong, 1992). También se han encontrado

antocianos con cadenas de tipo azúcar- grupo acilado- azúcar (Goto y Kondo, 1991) y con estructuras poliaciladas (Goto y col., 1986).

Los ácidos más comunes, por orden de aparición son: p-cumárico, cafeico, ferúlico, p-hifroxibenzoico, sinápico, malónico, acético, succínico, oxálico y benzoico. Estos ácidos, aromáticos o alifáticos, son fácilmente detectados debido a su banda de absorción espectral en la zona UV-vis en el rango de 300-340 nm. Los ácidos aromáticos confieren mayor estabilidad a la molécula de antocianina que los ácidos alifáticos (Francis, 1989).

De las seis antocianidinas, la pelargonidina es la única que no está presente en las uvas y sus derivados. Los antocianos de la uva se encuentran bien documentados en las distintas variedades de *Vitis vinifera*. Existen 16 antocianinas, incluyendo los 3-glucósidos de delfinidina, cianidina, petunidina, peonidina y malvidina, sus acetatos y cumaratos, y el cafeoato de la malvidina.

El contenido antociánico de las uvas está comprendido entre 60 y 6000 kg/kg de peso fresco (Mazza y Miniati, 1993) según la especie de *Vitis*. Entre las antocianinas de las especies de *Vitis vinifera* están principalmente la malvidina y delfinidina, en menor proporción la petunidina y la peonidina y solamente tienen una pequeña cantidad de cianidina que, sin embargo, es la más común en la naturaleza (Hong y Wrolstad, 1990). Se han encontrado en la forma 3-glucósido aunque también hay en pequeñas cantidades 3-glucósido acilados con ácido acético, ácido p-cumárico y ácido cafeico (Bakker y Timberlake, 1985b). Además, en los híbridos de *Vitis vinifera* con otras especies (*Vitis rotundifolia*,) aparecen en forma de antocianos 3-5-diglucósidos, que a su vez pueden estar acilados, principalmente en forma de cumaratos (Lamikanra, 1989).

### 1.2.2. Biosíntesis

Los antocianos poseen el mismo origen de biosíntesis que cualquier otro compuesto flavonólico natural (*Harborne, 1967; Griselbach, 1982*)(*Brouillard, 1982*) y, como otros flavonoides, están estructuralmente caracterizados por la presencia de un esqueleto compuesto por unidades de carbono ( $C_6C_3C_6$ ), diferenciándose de otros flavonoides por absorber fuertemente la luz visible y generar una gran variedad de colores (*Jackman y Smith, 1992*).

El acúmulo de antocianinas en las plantas está influenciado por diversos factores ambientales, incluso luz, temperatura, hormonas de la planta, nutrición, daños mecánicos y patogénicos. Las antocianinas no se acumulan en todas las partes de las plantas que las sintetizan, normalmente se acumulan en las flores, tejido de las frutas y en las células epidérmicas y subepidérmicas de hojas y tallos (*Hendry y Houghton, 1992*).

La localización intracelular de la biosíntesis de antocianinas todavía es incierta. *Jackman y Smith (1992)*, propusieron que la biosíntesis de las antocianinas sería mediada por un complejo enzima-membrana asociada en el retículo endoplasmático, y transportada a las vacuolas de las células donde sería acumulada.

La biosíntesis de las antocianinas está genéticamente regulada por el comando de genes dominantes. Hay una correlación entre el genotipo de las plantas y las enzimas directamente implicadas en la biosíntesis, por ejemplo, calcona sintetasa, flavona 3-hidroxilasa, y varios glicosil y acetiltransferasa. El proceso de biosíntesis ocurre de acuerdo con la Figura 3. La formación de antocianinas se realiza en la planta vía calcona sintetasa, a través de una condensación de una molécula activada de ácido cinámico y tres moléculas de malonil-CoA, catalizada por la enzima calcona sintetasa. El ácido cinámico libre activado es derivado de la L-fenilalamina a través del metabolismo general fenilpropanoico. Malonil-CoA es formada a partir de la reacción de la acetil-CoA

carboxilasa. La ciclación de la calcona a través de la calcona isomerasa conduce a la formación de flavonoles isómeros, los cuales son convertidos a dihidroflavonoles a través de flavona-3-hidroxilasa en combinación con las enzimas 2-hidrolasa y deshidratasa, donde los dihidroflavonoles serán los posibles precursores de las antocianidinas (Griselbach, 1982).

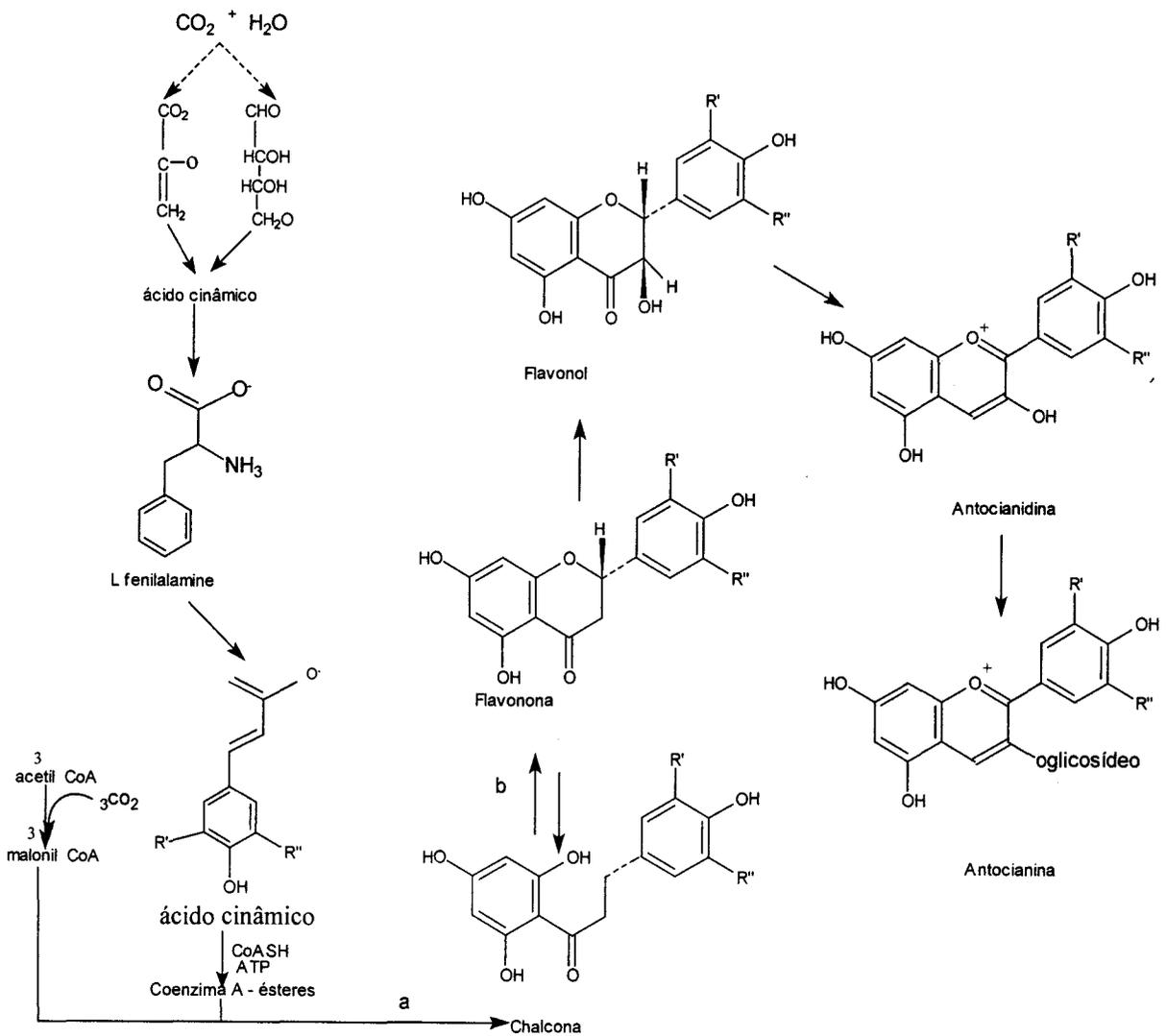


Figura 3. Biosíntesis de antocianinas según Jackman y Smith (1992).

### 1.2.3. Características espectroscópicas

El color de los antocianos depende de la estructura, del número y de la posición de los grupos hidroxilos y metoxilos que lo componen.

Los antocianos presentan máximos de absorción tanto en la región visible como en la ultravioleta, lo que resulta muy importante para la caracterización estructural de dichos compuestos. *Harborne (1958a; 1958b; 1967)* publicó las características espectrales de todas las antocianidinas y de la mayoría de las antocianinas existentes en el reino vegetal.

En disolución ácida, las antocianinas presentan una absorbancia intensa en la región visible en el intervalo de longitud de onda de 465 a 550 nm (Banda I) y una absorbancia menos intensa en la región 270-280 nm (Banda II). La absorción en el visible se debe a la estructura del heterociclo central y a la conjugación de los dos ciclos bencénicos, aspectos ambos que dependen del tipo de disolvente y del pH de la disolución. En cambio, la absorción en la región del ultravioleta se debe a los agrupamientos fenólicos y no se encuentra afectada por las variaciones de pH.

La longitud de onda máxima de absorción ( $\lambda_{\max}$ ) en el visible está muy influenciado por los sustituyentes del anillo B. Principalmente hay que destacar la influencia del grado de metoxilación del anillo B que, además de provocar un cierto desplazamiento del color hacia la zona del rojo, es también importante para la estabilidad de la molécula, que aumenta al hacerlo el número de metoxilos (*Lea, 1988; Hutchings, 1994*). De esta forma, las antocianinas con dos sustituyentes, como son los derivados de la delfinidina (delfinidina, petunidina y malvidina) tienen su máximo a 525-528 nm, mientras que los derivados de la cianidina (cianidina y peonidina), presentan su máximo a 516-520 nm, que pueden ser diferenciado de los derivados de pelargonidina que presentan un máximo de 502 nm (*Versari y col., 1997*).

La glucosilación conlleva también un desplazamiento hipsocrómico de los máximos de absorción en el visible, entre pelargonidina ( $\lambda_{\max}$  520 nm) y pelargonidina-3-glucósido ( $\lambda_{\max}$  505 nm) ocurre un desplazamiento ( $\Delta\lambda$ ) de 15 nm; cianidina ( $\lambda_{\max}$  535 nm) y cianidina-3- glucósido ( $\lambda_{\max}$  523 nm) un  $\Delta\lambda$  de 12 nm; delphinidina ( $\lambda_{\max}$  544 nm) y delphinidina-3- glucósido ( $\lambda_{\max}$  534 nm) un  $\Delta\lambda$  de 10 nm (Harborne, 1967). Sin embargo, no provoca desplazamientos de las longitudes de onda de máxima absorción en el ultravioleta. De la misma forma, los antocianos diglucósidos presentan máximos de absorción en el visible ligeramente desplazados hacia longitudes de onda menores con respecto a sus correspondientes monoglucósidos. La ausencia de glucosilación en la posición 5 provoca un aumento de la absorción en torno a 440 nm y da lugar a la aparición de un hombro en esta zona del espectro, característico en los antocianos monoglucósidos y no existente en los diglucósidos.

Los derivados acilados no muestran diferencia con respecto a los correspondientes no acilados en la zona del visible, sin embargo, en la región del ultravioleta suelen presentar un máximo u hombro adicional en el intervalo de 310-335 nm, correspondiente al resto acilo; la esterificación con ácido p-cumárico aumenta la absorción en torno a 308-313 nm y con ácido cafeico a 326-329 nm. Este hombro adicional no se presenta cuando el ácido sustituyente es el acético, siendo los espectros de los acetatos similares a los de los respectivos antocianos no acilados.

Las antocianinas, cuya aglucona posee un agrupamiento *o*-dihidroxilo libre, en presencia de  $\text{AlCl}_3$ , presentan un desplazamiento batocrómico de 15-35 nm, siendo este fenómeno característico para los pigmentos derivados de cianidina y delphinidina; sin embargo, para los derivados de pelargonidina, peonidina, petunidina y malvidina no se observa este desplazamiento (Harborne, 1958<sup>a</sup>; 1958<sup>b</sup>; 1967; Francis, 1989; Jackman y col., 1987).

El medio en el que se encuentran también influye en las características espectroscópicas de los antocianos. Cuando se encuentran disueltos en etanol o metanol, su máximo de absorción en el visible se desplaza entre 25 y 35 nm, en el primer caso, y en torno de 10 nm, en el segundo, hacia longitudes de onda más altas (desplazamiento batocrómico), respecto a lo observado en el agua.

#### ***1.2.4. Factores que influyen en el color de los antocianos***

Los antocianos, como suele ocurrir en todos los colorantes naturales, son inestables frente a diversos factores. Generalmente son muy estables en condiciones ácidas, pero pueden ser degradados por varios mecanismos, empezando por pérdida del color, seguida de formación de coloración marrón y de productos insolubles.

La estabilidad del color de los antocianos, tanto en su medio natural como en los alimentos, depende de diversos factores como son: estructura molecular, concentración, pH, temperatura, oxígeno, enzimas, contenido de CO<sub>2</sub>, existencia de reacciones de condensación, fenómenos de copigmentación y formación de complejos con metales o interacción con otros componentes de los alimentos (Markakis, 1982; Hendry y Houghton, 1992; Mazza y Miniati, 1993; Curtright y col., 1996). Generalmente, los antocianos van a estar sometidos a la influencia simultánea de varios de estos factores, resultando prácticamente imposible conocer o predecir cuál de ellos va a ser el predominante en cada caso concreto.

##### *Estructura molecular*

Los antocianos son deficientes en electrones, por eso son muy reactivos y pueden sufrir cambios durante su procesamiento y almacenamiento (Ott, 1992). De modo general, la estabilidad de los antocianos es directamente proporcional al número de metoxilos existentes en el anillo B, e inversamente proporcional al de hidroxilos (Hrazdina y col., 1970). Por otro lado, la glucosilación y la acilación de

los azúcares también aumentan la estabilidad (*Hrazdina y col., 1970; Diaz y col., 1976*). Los diglucósidos, por tanto, son más estables que sus correspondientes monoglucósidos (*Francis, 1989*). Las antocianidinas no son estables en disoluciones acuosas y se degradan con facilidad.

### *pH*

El valor del pH muestra gran influencia tanto en el tono como en la intensidad colorante de las disoluciones acuosas de antocianos; así, si los valores de pH variaran de 1 a 14 los resultados obtenidos producirían todos los colores del arco iris. Teniendo en cuenta tales observaciones visuales, queda puesto de manifiesto que existe un gran número de reacciones elementales implicadas en la aparición o desaparición de los colores (*Brouillard, 1982*)(*Heredia y col., 1998*).

Los antocianos, en disolución acuosa débilmente ácida, existen en forma de cuatro estructuras básicas en equilibrio en función del pH: anhidrobase quinoidal (azulada) (**A**), catión flavilio (rojo) (**AH<sup>+</sup>**), pseudobase carbinol (incolora) (**B**) y pseudobase calcona (incolora) (**C**) conforme la Figura 4.

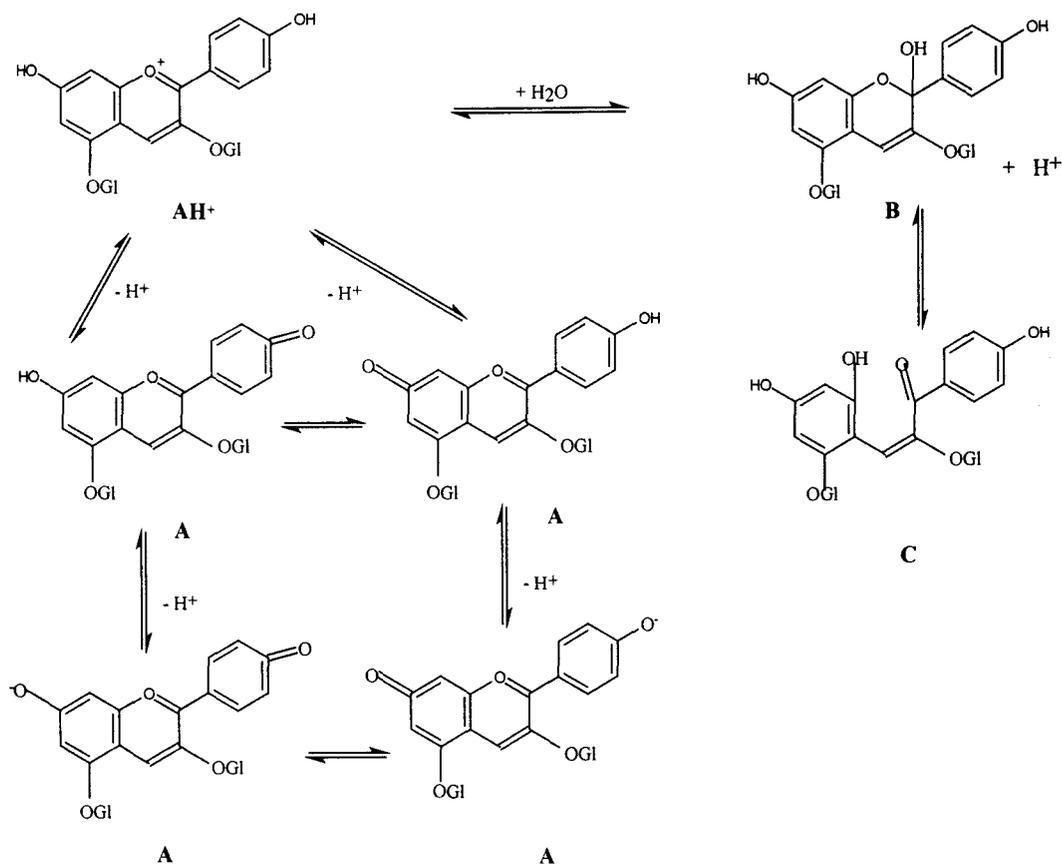


Figura 4. Equilibrio entre formas estructurales de antocianos en función del pH.

El color de los antocianos, cuando éstos se encuentran a pH lo suficientemente ácido, tiene una relación directa con la hidroxilación del aglucón. Así, los antocianos que poseen dos sustituyentes en el anillo B (cianidina y peonidina) presentan sus máximos de absorción a longitudes de onda significativamente más bajas que los que tienen tres sustituyentes (petunidina, delfinidina y malvidina). Teniendo en cuenta la zona del espectro visible en la que absorben los antocianos, esto se traducirá en que los primeros poseerán un tono de color ligeramente más rojo y los segundos algo más azul. Estas diferencias se mantienen tanto para los monoglucósidos y diglucósidos como para los aglucones.

La metilación de los -OH del anillo B supone también un pequeño desplazamiento del tono hacia la zona roja del espectro, si bien este desplazamiento resulta mínimo.

polimerización, al tener ocupadas sus posiciones reactivas (Somers, 1971; Ribéreau-Gayon y col., 1983). El complejo se puede volver a disociar al acidificar el medio, liberando nuevamente la sal flavilio. El grado de reversibilidad de la reacción depende de la constante de equilibrio, de la naturaleza de antociano y del pH (Schopfer, 1985).

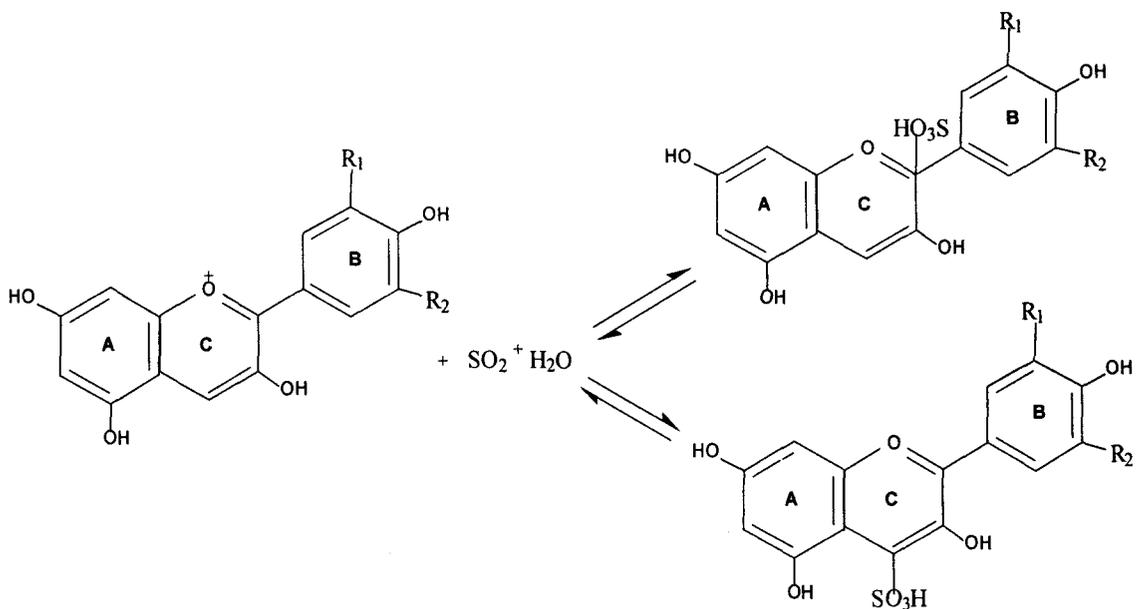


Figura 5. Reacción entre un antociano y  $\text{SO}_2$

Los equilibrios de unión entre antocianos y  $\text{SO}_2$  se modifican por la presencia de otras sustancias con las que también puede combinarse, como el acetaldehído a los ácidos pirúvicos y  $\alpha$ -cetoglutárico. La presencia en el vino de niveles suficientes de  $\text{SO}_2$  libre permite fijar este tipo de productos, evitando el desplazamiento del bisulfito unido a antocianos. Este proceso reduce la velocidad de degradación de los antocianos y limita la formación de pigmentos de condensación mediados por acetaldehído y consiguiente pérdida de color por precipitación. Se ha comprobado que el déficit de  $\text{SO}_2$  hace aumentar la tasa de

polimerización de los antocianos y conduce a un envejecimiento prematuro del color (*Hebrero y col., 1989*).

#### *Peróxido de hidrógeno*

La reacción entre antocianos y peróxido de hidrógeno conduce a la formación de productos finales con pérdida de color, aunque diferentes en función del compuesto y del pH del medio. En disoluciones ácidas de malvina (3,5-diglucósido de malvidina) se ha visto que el peróxido de hidrógeno, provoca la formación de calcona, cuyo azúcar en posición 3, está unido a través de un enlace éster (Figura 6). En esta sustancia tanto el ciclo bencénico B como el azúcar en C<sub>3</sub>, se pueden separar por saponificación en medio alcalino, condiciones que no afectan al azúcar unido en posición 5, para cuya separación es necesario realizar una hidrólisis ácida. Esta reacción ha sido utilizada para determinar la naturaleza de los azúcares unidos en las posiciones 3 y 5 de los antocianos diglucósidos. La reacción transcurre de modo diferente a pH 7, en el cual se separa el anillo B del antociano, originando un derivado cumarínico (*Hrazdina y Franzese, 1974; Iacobucci y Sweeny, 1983*).

A pH ácido, los antocianos con un solo azúcar en posición 3 (3-monoglucósidos) sufren una rotura del heterociclo mediante una reacción tipo *Baeyer-Villiger*, mientras que a pH más elevados (5-7) forman un producto similar al que resulta en la oxidación de la malvina a pH ácido (*Iacobucci y Sweeny, 1983*).

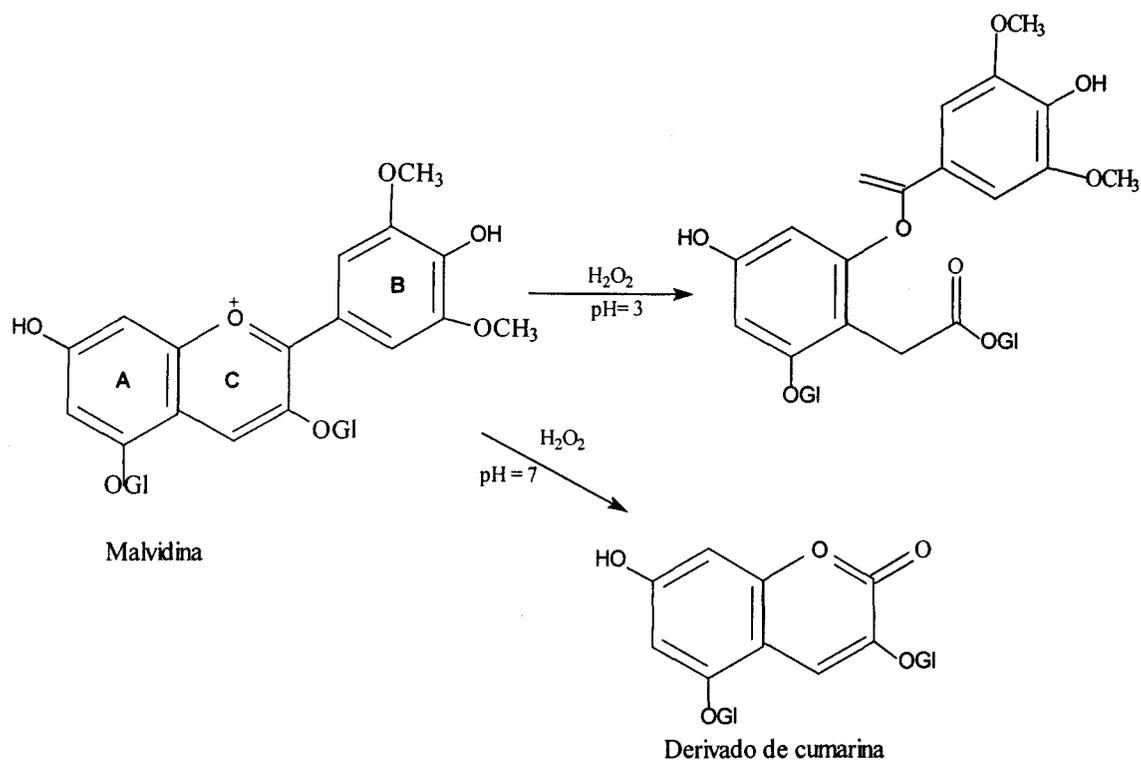


Figura 6. Reacción entre 3,5-diglucósido de malvina y peróxido de hidrógeno.

### Oxígeno

El oxígeno puede causar la degradación de los antocianos a través de mecanismos de oxidación directa o bien indirectamente oxidando los constituyentes del medio que reaccionarán a su vez con las antocianinas. La formación de precipitados en zumos de frutas puede ser el resultado de una oxidación directa de la base carbinol de las antocianinas (*Jackman y Smith, 1992*).

Ya desde 1936, se conoce el efecto del oxígeno sobre la degradación de los antocianos, cuando *Tressler y Pedersen* observaron que el cambio de color de púrpura a marrón, que se producía en zumos de uvas embotellados, se podía explicar simplemente porque los antocianos y el ácido ascórbico poseen un efecto degradativo mutuo, que lleva a acelerar la pérdida de color en disoluciones de ambos (*Markakis, 1982; Francis, 1989*).

### *Ácido ascórbico*

El ácido ascórbico acelera la degradación estructural de los antocianos, tanto en disoluciones modelo como en vinos (*Ortega-Meder, 1995; Guerra-Sanchez Simon, 1997*). La pérdida de color, por el ácido ascórbico, está relacionada con la estructura de los antocianos, así, la malvidina 3,5-diglucósido tiene unas pérdidas de color menores que el monoglucósido (*García-Viguera y Bridle, 1999*). El mecanismo por el que se produce la degradación antociánica no está aún bien establecido, aunque podría estar ligado a la autooxidación del ácido ascórbico, ya que la reacción se inhibe en atmósfera inerte (*King y col., 1980*) y en presencia de antioxidantes como quercetina (y flavonoles, en general), que actúan como captadores de los radicales libres generales en el proceso. Se ha sugerido que la degradación podría tener lugar tanto por acción directa del peróxido de hidrógeno, formado en la autooxidación del ácido ascórbico, como por efecto de los radicales HO<sup>•</sup>, originados en la descomposición del peróxido de hidrógeno. En ambos casos, el proceso comportaría la ruptura del núcleo pirilio, para dar productos similares a los encontrados en la degradación térmica (*King y col., 1980; Iacobucci y Sweeny, 1983; Francis, 1989*). Otra posibilidad que se ha apuntado es la sustitución nucleofílica del C<sub>2</sub> de la forma flavilio del antociano, deficiente en electrones, por parte del carbanión ascorbato, para formar un producto de condensación inestable, que posteriormente se degradaría dando compuestos incoloros (*Poei-Langston y Wrostdal, 1981*).

Según los estudios de *Ortega-Meder (1995)*, los productos detectados en la degradación del 3-monoglucósido de malvidina son iguales en presencia y en ausencia de ácido ascórbico, indicando que el proceso degradativo debe transcurrir en ambos casos a través de rutas similares, ya que se detectan los mismos productos en ambos casos. También se comprobó que el ácido ascórbico, en un medio hidroalcohólico, provocaba la generación de acetaldehído, que era dependiente del pH y estaba favorecida por la presencia de catequina. Por esta razón, puede disminuir la concentración de antociano libre, al favorecer las reacciones de condensación mediadas por acetaldehído.

### *Azúcares*

La aplicación de azúcares en altas concentraciones (>20%) para preservar frutas y productos derivados de frutas tiene un efecto protector de las antocianinas cromóforas, esto se debe probablemente a la reducción de la actividad de agua ( $a_w$ ). Por otro lado, la presencia de azúcares en pequeñas concentraciones puede acelerar el proceso de degradación de los antocianos, posiblemente debido a productos de su descomposición, como el hidroximetilfurfural. Además, se ha puesto de manifiesto que fructosa, arabinosa, lactosa y sorbosa poseen mayor efecto sobre la degradación del antociano que sacarosa, glucosa y maltosa (Markakis, 1982).

### *Agentes reductores*

El zinc, aluminio o magnesio provocan la pérdida de conjugación entre los dos ciclos bencénicos, por reducción del doble enlace del heterociclo, y desencadenan una rápida decoloración de los antocianos, aunque en presencia de oxígeno puede reaparecer el color de la disolución. La hidrogenación catalítica de antocianos o sales de flavilio origina un derivado de tipo catequina o un flavano, en el caso de 3-desoxiflavilios (Iacobucci y Sweeny, 1983).

### *Enzimas*

Algunos sistemas enzimáticos presentes en tejidos vegetales son capaces de provocar la decoloración de los antocianos, como es el caso de peroxidasas y fenolasas (Maccarone y col., 1985). Las  $\beta$ -glucosidasas separan los restos azucarados, dando lugar a aglucones libres, que son más fácilmente degradables por vía enzimática (Markakis, 1982) (Piffaut y col., 1994).

### **1.2.5. Interacciones moleculares**

Los antocianos, en su medio natural, se encuentran en presencia de otros compuestos con los que pueden interactuar, dando como resultado una modificación en el color de las disoluciones. Los compuestos normalmente implicados en las interacciones moleculares son compuestos fenólicos, metales y otros antocianos. Según el tipo de interacción se puede distinguir entre reacciones intermoleculares e intramoleculares. En el primer caso, se distingue a su vez entre: copigmentación cuando ocurre entre un antociano y otros compuestos fenólicos, autoasociación cuando es entre dos antocianos y la interacción de los antocianos con metales. En el segundo caso, la interacción intramolecular es siempre entre los aglucones antociánicos y sus restos acilo aromático.

En sentido opuesto, se ha observado que los antocianos, principalmente los pocos sustituidos, pueden experimentar pérdidas de color cuando se asocian con ciclodextrinas, polisacáridos como la amilosa y amilopectina, y con la cafeína cuando ésta se encuentra a altas concentraciones o el medio es muy ácido.

#### *Copigmentación*

La copigmentación de antocianinas, en sus formas flavilio y/o anhidrobase, con otros compuestos fenólicos produce un aumento de la absorptividad (efecto hiperocrómico) y un desplazamiento en la longitud de onda de máxima absorción (efecto batocrómico) (*Gonnet, 1998; Gonnet, 1999; Gonnet, 2001*). El principal efecto de la copigmentación parece ser el de prevenir las reacciones de hidratación, al estar el anillo pirilio protegido del ataque del agua en el interior del complejo antociano-copigmento (*Brouillard, 1982*).

Como copigmentos pueden actuar una gran variedad de productos naturales, como flavonoides, polifenoles, alcaloides, aminoácidos o ácidos orgánicos que, en general, no tienen color, pero aumentan la estabilidad cromática de los antocianos. Los copigmentos adoptan una configuración plana para poder

asociarse entre ellos. En la formación del complejo intervienen fuerzas de Van der Waals e interacciones hidrofóbicas que van a originar un apilamiento vertical tipo “ $\pi$ - $\pi$ ” entre moléculas de antocianos y copigmentos. Este complejo formado se estabiliza por los puentes de hidrógeno que se establecen entre las moléculas de azúcares que se colocan hacia la parte externa del complejo. Por medio de estos enlaces de hidrógeno también se unen a los azúcares moléculas de agua que no pueden acceder al interior del complejo, quedando en el exterior y formando una película de solvatación (Goto y col., 1986; Goto y Kondo, 1991).

Cuando existe en el medio un exceso de copigmento, estos pueden reaccionar también con los complejos ya formados por el mismo mecanismo (Liao y col., 1992).

El grado de copigmentación es función de una serie de factores (Goto y col., 1986) (Mazza y Brouillard, 1990; Goto y Kondo, 1991; Dangles y Brouillard, 1992):

- *Tipo y concentración de antociano.* La estructura del antociano influye sobre la eficacia del proceso de copigmentación. Por ejemplo, la malvidina copigmenta mejor que la cianidina y el efecto es más pronunciado para los 3,5-diglucósidos que para los monoglucósidos, ya que se ve aumentado con el grado de glucosilación. Los antocianos que contienen grupos acil-aromáticos forman complejos de copigmentación mucho más estables con las flavonas que los antocianos no acilados.
- *Estructura y cantidad del copigmento.* En principio, un aumento del copigmento provoca un aumento de la intensidad del color; siendo este color característico no sólo del antociano, sino también del tipo y estructura del copigmento asociado. Por otro lado, cuando está presente más de un copigmento pueden interactuar entre ellos reduciéndose su capacidad para copigmentar.

- *pH*. La copigmentación ocurre a pH ácidos, entre 3 y 4.5 unidades según el antociano y el diferente incremento de absorbancia tras la interacción también es pH-dependiente.
- *Temperatura*. El aumento de la temperatura disminuye el efecto de la copigmentación.
- *Disolvente*. La copigmentación ocurre en disoluciones acuosas, en las cuales los antocianos son generalmente inestables en medio neutro o débilmente ácido, hidratándose fácilmente para formar una pseudobase incolora. La interacción de otros disolventes en la red tetraédrica de moléculas de agua hace que el efecto de la copigmentación se vea reducido, pero se produce mientras el agua sea el componente principal.

### *Autoasociación*

El proceso de autoasociación es similar al de copigmentación y consiste básicamente en una interacción hidrófoba entre los núcleos aromáticos de los antocianos agrupados verticalmente. La asociación está estabilizada por la utilización de moléculas de azúcar en la parte externa de complejos, creando un entorno hidrófobo que protege al aglucón del ataque nucleofílico del agua. El proceso comporta también un desplazamiento batocrómico del máximo de absorción en el visible ((*Hoshino y col., 1981; Goto y col., 1986; 1991; Mazza y Miniati, 1993*)).

Este fenómeno provoca que la absorbancia no aumente linealmente en función de la concentración, sino que las disoluciones de concentración más elevada posean mayor absorbancia de la que cabría esperar de acuerdo a la ley de Lambert-Beer. En medios ácidos, como es el caso de los vinos, los antocianos están mayoritariamente en forma de pseudobase carbinol y de catión flavilio, siendo esta última forma la que básicamente se autoasocia (*1991*).

### *Interacciones intramoleculares*

Como un tercer mecanismo para la estabilización de las formas coloreadas, las interacciones intramoleculares de los antocianos pueden ocurrir de forma que no implique la actuación de otras moléculas. En este tipo de interacción el plegamiento de la propia molécula del antociano lleva a que dos restos acilo aromáticos de la propia molécula se sitúen respectivamente por encima y por debajo del núcleo de la antocianidina, por lo que se denomina de “asociación de tipo sándwich” (Goto y Kondo, 1991). Este tipo de empaquetamiento evita el ataque del agua sobre el núcleo flavilio y protege igualmente a la anhidrobase. La estabilidad del complejo estaría asegurada bien por la formación de enlaces hidrógeno entre grupos hidroxilo fenólicos del aglucón y de los ácidos aromáticos, bien por la existencia de interacciones hidrófobas entre los mismos, como ocurre en la copigmentación y la autoasociación (Goto y col., 1986)

### *Metales*

Los antocianos pueden reaccionar con diversos metales y formar complejos coloreados estables con algunos de ellos, como estaño, cobre y hierro. El aluminio se une a antocianos con grupos hidroxilo fenólicos en posición *orto*, originando complejos de color azulado. Este cambio batocrómico, provocado por la adición de  $\text{AlCl}_3$ , se ha usado como una prueba analítica para la identificación y diferenciación existente entre cianidina, petunidina, delfinidina y perlagonidina, peonidina, malvidina (Markakis, 1982; Ott, 1992).

La relativa buena estabilidad que poseen varios de los complejos metal-antociano ha llevado a algunos autores a sugerir su uso como colorantes alimentarios. Así, se ha propuesto la adición de sales de aluminio y estaño para mejorar la estabilidad del color de los zumos de cereza, uva y fresa (Francis, 1989).

Estas interacciones entre compuestos se producen durante la conservación del vino, una vez que ha sido embotellado, y dan lugar a cambios en su color debido a la formación progresiva de nuevos pigmentos. Estos nuevos compuestos formados en el vino resultan de la interacción entre las antocianinas y otros compuestos fenólicos, principalmente flavonoles (catequinas, procianidinas), con o sin presencia de acetaldehído. Cuando se analiza el contenido antociánico de un vino por HPLC, estos compuestos eluyen a continuación de la malvidina 3-glucósido en cantidades trazas pero se sabe que modifican el color del vino (Bakker y Timberlake, 1985a) (Francia-Aricha y col., 1997). La existencia de estos compuestos coloreados fue propuesta por primera vez por Somers (1968). Desde entonces, se han realizado numerosos estudios con el fin de identificar esos picos y se han propuesto diversos mecanismos de reacción que pueden intervenir en su formación, como la copigmentación (Brouillard y col., 1990; Figueredo y col., 1996), condensación directa entre las antocianinas y los flavanoles (Liao y col., 1992; Santos-Buelga y col., 1995) o bien la reacción anterior mediada por acetaldehído (Dallas y col., 1996; Escribano-Bailón y col., 1996).

Entre todos los derivados antociánicos del vino tinto que han sido identificados, se pueden distinguir dos tipos de pigmentos según las variaciones de color que producen con respecto a la malvidina 3-monoglucósido.

Por un lado, se ha encontrado un grupo de derivados antociánicos que provocan un desplazamiento batocrómico de la longitud de onda máxima del visible, es decir, son compuestos más azulados. La presencia de estos compuestos se ha atribuido a la existencia de un proceso de condensación entre antocianos y flavanoles con o sin acetaldehído, aunque con este último es más rápido. La aparición de estos compuestos ha sido estudiada por diversos investigadores (1996) (Escribano-Bailón y col., 1996; Francia-Aricha y col., 1997).

Por otro lado, recientemente se han identificado varios compuestos que producen un desplazamiento hacia longitudes de onda máxima más cortas por lo que tienen una tonalidad más rojo-anaranjada.

*Cameira-dos-Santos et al. (1996)*, detectaron en el vino y extrajeron dos nuevos pigmentos rojo-anaranjados derivados de las antocianinas. Estos nuevos compuestos presentaban un espectro similar al de los antocianos pero con un desplazamiento hipsocrómico (505-508 nm) del máximo de absorción. El mismo grupo de investigación consiguió obtener uno de estos pigmentos por semisíntesis, a partir de la reacción entre 3-monoglucósido de malvidina y 4-vinilfenol y obtener su estructura (*Fulcrand y col., 1996*) (*Fulcrand y col., 1998*). El segundo correspondería al derivado p-cumarato del compuesto anterior (*Cameira-dos Santos y col., 1996*). La estabilidad y el color de estos pigmentos fueron estudiados por *Sarni-Manchado (1996)*.

Posteriormente, en otro grupo de investigación (*Bakker y Timberlake, 1997*) (*Bakker y col., 1997*) se aislaron, identificaron y caracterizaron, usando espectroscopía de masas FAB y NMR, cuatro nuevos pigmentos antociánicos que se encuentra en el vino en pequeñas cantidades y en trazas en la uva almacenada. A estos compuestos los denominaron “vitisinas” y responden a dos estructuras diferentes (tipo A y tipo B) y presentan dos isómeros flavilio. Estos compuestos son menos polar que la malvidina 3-glucósido, por lo que en la cromatografía eluyen justo después de esta. En cuanto a su espectro de absorción en el UV-Vis hay que destacar dos diferencias con respecto a las antocianinas conocidas, por una parte el desplazamiento hipsocrómico de la longitud de onda máxima (entre 15 y 40 nm) y, por otro la aparición de un pico pronunciado en torno a 374 nm y algo menor a 302 nm. La aparición de estos compuestos fue confirmada posteriormente en disoluciones modelos (*Romero y Bakker, 1999*), así como estudiado algunos factores que afectan a su formación (*Romero y Bakker, 2000*).

De forma simultanea, *Francia-Aricha et al. (Francia-Aricha y col., 1997)* encontraron un compuesto en el vino con la estructura propuesta por *Fulcrand et al. (1996)* con una longitud de onda máxima a 511 nm.

Estos nuevos pigmentos, al tener sustituida la posición 4 de la molécula antociánica poseen una gran resistencia a las pérdidas de color por dióxido de

sulfuro, mayor color a valores más altos de pH y un incremento de la estabilidad. En cuanto a las características espectrales, existe un desplazamiento hipsocrómico hacia tonalidades anaranjadas, variable según el compuesto, y la aparición de nuevos máximos de absorción (*Bakker y Timberlake, 1997*). Por ello, se piensa que estos pigmentos podrían estar involucrados en los cambios del color del vino tinto.

### **1.2.6. Análisis de Antocianos**

Una evaluación completa de los antocianos del vino incluye un análisis cualitativo y cuantitativo. El estudio y caracterización de los compuestos antociánicos presentes en los vinos tintos es difícil dada la complejidad de las muestras. Las técnicas cromatográficas constituyen una poderosa herramienta analítica.

En los primeros estudios llevados a cabo en mostos y vinos tintos se utilizaba la cromatografía en papel (*Ruf, 1952; Tewari y col., 1974*). Esta técnica presentaba como inconvenientes la falta de resolución, precisión y rapidez, por lo que fue reemplazada por la cromatografía en capa fina que, aunque conseguiría mejorar la rapidez y resolución, seguía careciendo de precisión, lo cual dificultaba el análisis cuantitativo de las muestras (*Valdehita-de Vicente y Matallana-González, 1983*). Aún hoy, estas técnicas siguen utilizándose para comprobaciones rutinarias que necesiten poca precisión.

El desarrollo de las técnicas cromatográficas en columna ha supuesto un avance importante. La cromatografía de gas-líquido (GLC), normalmente acoplada a un espectrómetro de masas, no está tan extendida. El problema de esta técnica es que requiere una etapa previa de derivatización de los antocianos para transformarlos en analitos volátiles y estos tienen problemas de degradación térmica, debido a las altas temperaturas del análisis, por lo que no es muy usada (*Bombardelli y col., 1976; Gao y Mazza, 1994; Giusti y col., 1999*).

La cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) es la técnica de separación más ampliamente utilizada debido a su elevada sensibilidad, fácil adaptación a determinaciones cuantitativas exactas, idoneidad para la separación de especies no volátiles o termolábiles y, sobre todo, su amplio campo de aplicación (Nollet, 2000).

La técnica de HPLC ha sido extensamente usada, en las últimas décadas, para el análisis cuantitativo y cualitativo de la composición antociánica del vino tinto:

- Determinación y cuantificación de las antocianinas del vino tinto (Holbach y col., 1997; Merken y col., 2001; Nyman y Kumpulainen, 2001; Revilla y García-Beneytez, 2002)
- Separación y aislamiento de pigmentos antociánicos obtenidos en un extracto bruto (Wang y Sporns, 1999; Hayasaka y Asenstorfer, 2002).
- Identificación de la estructura de los compuestos antocianos (Prior y col., 2001; Mateus y col., 2002).
- Evaluación de los cambios en la composición de los vinos tintos (Romero y Bakker, 2000).

La utilización conjunta de la cromatografía líquida de alta eficacia (CLAE o HPLC) y la espectroscopía UV-vis de detección de diodos en circuito integrado (DAS) permite la simple y rápida separación, identificación y cuantificación de los diferentes antocianos sin necesidad de una preparación previa de la muestra, o simplemente una purificación con cartuchos C<sub>18</sub> (SPE) o Sephadex, y sin recurrir a otras técnicas (Francis, 1982; Bakker y Timberlake, 1985a; Holbach y col., 1997; kraemer-Schafhalter y col., 1999; Nyman y Kumpulainen, 2001). Para la identificación de los pigmentos antociánicos se pueden evaluar, además de sus características espectrales, los valores de tiempo de retención (R<sub>f</sub>), mientras que para la cuantificación se utilizan patrones de concentración conocida y se valoran las áreas obtenidas. Esta es la técnica más extendida y estudiada pero no la única, ya que existe un abanico muy amplio de posibilidades.

La espectrofotometría UV-Vis se utiliza acoplada a la cromatografía, como ya se ha dicho, pero también como sistema único de detección e incluso de cuantificación. Para la identificación de los compuestos se utiliza, generalmente, la longitud de onda de máxima absorción. Esta longitud de onda de los antocianos en el visible depende del tono de color de los mismos y, por tanto, de su estructura molecular, que puede ser influido por el tipo y el pH de la disolución en la que se encuentra. Por tanto, los valores de longitud de onda de máxima absorción citados por los distintos autores para los diferentes antocianos sólo deben ser comparados si fueran obtenidos en las mismas condiciones, con respecto al tipo de disolvente, pH de la disolución, pureza de los extractos, etc.

*Harborne (1958a)*, publicó un estudio sobre métodos espectrales para la caracterización de antocianos, en el que determinó la absorbancia máxima en la región del visible y ultravioleta, para las diferentes antocianidinas y estableció que es posible conocer la posición del azúcar, comparando la absorbancia a 400 nm con la correspondiente al máximo obtenido en la región del visible ( $E_{440} \times E_{m\acute{a}x.} \times 100$ ). Otra característica que permite diferenciar algunos antocianos (los que presentan grupos orto-hidróxilos en el anillo B) es el desplazamiento batocrómico del máximo en la región del visible, cuando se agrega disolución de  $AlCl_3$ . Tal es el caso de la petunidina, delfinidina y cianidina.

En el análisis cuantitativo de antocianos por espectrofotometría la falta de disponibilidad de patrones puros asociados a problemas de aplicabilidad del uso de HPLC, hizo que se optase por alternativas de análisis como el método de *Fuleki y Francis (1968a;1968b;1968c;1968d)* dónde se determina la concentración total de pigmentos aplicando la ley de *Lambert-Beer* con  $E_{1cm,535}^{1\%}$  con factor de 98,2, que se refiere a la absorción de una mezcla de antocianos en etanol: ácido clorhídrico medido en una célula de 1 cm en 535 nm a una concentración de 1% (p/v) y a través del método de *Somers y Evans (1974; 1977; 1979)* dónde se pueden determinar diversas fracciones polifenólicas

y se puede obtener índices sobre la situación de los compuestos antociánicos basados en medidas espectrales directas.

Otra opción para la identificación de los antocianos es sustituir el espectrofotómetro de diodos por uno de masas (HPLC/MS). Este último presenta la ventaja de ser más exacto en la identificación y caracterización pero la muestra requiere una preparación y purificación más tediosa, además del elevado coste del instrumento (*Baldi y col., 1995; Revilla y col., 1999; Prior y col., 2001*). Existen variantes de este método como la utilización ionización por electrospray (HPLC-ESI-MS), la ionización de las moléculas por impacto de electrones (HPLC-EI-MS) o el uso de técnicas de ionización de presión atmosférica (API-MS) (*Da Costa y col., 2000; Degenhardt y col., 2000*).

Las técnicas de resonancia magnética nuclear (RMN) pueden ser aplicadas especialmente para la determinación de la estereoquímica de los antocianos naturales. Considerando que para obtener los espectros es necesario trabajar con medios acidificados, a fin de mantener a los antocianos en su forma catión flavilio. Los desplazamientos químicos y las constantes de acoplamiento permiten conocer la configuración de los azúcares y sus sitios de unión al aglucón, la existencia de sustituyentes acilados y su lugar de fijación, la configuración de la molécula, etc. *Goto et al. (1978)* fueron los primeros autores en aplicar la técnica RMN de  $^{13}\text{C}$  y  $^1\text{H}$  para determinar la estructura de varias antocianinas complejas poliaciladas, luego diversos autores aplicaron esta técnica para identificar y confirmar estructuras (*Cornuz y col., 1981; Terahara y Yamaguchi, 1986; Fossen y Andersen, 1998; Brun y col., 1999; Timberlake y col., 2000*). Pero el inconveniente de las técnicas de RMN es la exigencia de tener que trabajar con compuestos muy puros, libres de contaminación, lo que exige un aislamiento previo muy preciso.

Otras técnicas menos usadas son la electroforesis capilar (CE) (*Bridle y García-Viguera, 1996*), cromatografía de permeación en gel (*Shoji y col., 1999*) e incluso aparecen referenciados métodos cinéticos para la cuantificación de las antocianidinas (*Merken y col., 2001*).

### 1.3. ESTUDIO DEL COLOR

La definición del color y su medida es un objetivo perseguido hace siglos por muchos hombres de ciencia (*Aristóteles, Freischer, Porta, Newton, Descartes, Goethe, Young, Köning, Grassmann, Maxwell, Helmholtz, Adams, Schrödinger, Abney, MacAdam, etc.*). Estos y muchos otros, permitieron que la ciencia del color alcanzara su estado actual.

El color es una respuesta mental al estímulo que una radiación luminosa visible produce en la retina y que el nervio óptico transmite al cerebro. Se considera como un concepto psicofísico, relacionado al mismo tiempo con la psicología del observador, la fisiología de la visión y con la energía radiante espectral de una fuente luminosa. Luego no es una característica intrínseca de los objetos que reflejan o transmiten la radiación luminosa, pues basta con cambiar la fuente para modificar el estímulo producido: es una propiedad de la luz.

El estímulo cromático está compuesto por tres sensaciones bien diferenciadas, que dan al color su carácter tridimensional (*Wyszecki y Stiles, 1982*); éstas son:

- El matiz o tono se define como la propiedad por la cual un color se identifica como rojo, azul, etc., o aquel que permite diferenciar un color respecto al gris del mismo brillo, denominado estímulo acromático. Está relacionado con las diferencias de absorbancia de la energía radiante a diferentes longitudes de onda. Es decir, es el atributo cualitativo del color.
- La luminosidad, es el atributo en virtud del cual los colores pueden considerarse equivalentes a alguno de los miembros de la escala de grises, entre el negro y el blanco. Es una medida relativa de la luz reflejada frente a la absorbida.

- La saturación o pureza se define como la proporción de luz cromática en la percepción total, o como el grado de diferencia entre el punto de color en cuestión y el correspondiente al punto gris de la misma luminosidad

Los tres atributos: tono, luminosidad y saturación van a definir cualquier color. Esta consideración tridimensional del color es el fundamento de la Teoría Tricromática. Las leyes experimentales de la igualación del color se resumen en un principio ya enunciado por *Newton (1672)* conocido como “Generalización Tricromática”, cuyo desarrollo se recoge en el Apéndice I.

El color afecta todos los momentos de nuestras vidas, influyendo fuertemente en la ropa que llevamos, el mobiliario de nuestras casas y jardines, y el aspecto de los alimentos que consumimos. En la mayoría de los casos, la elección de los colores es inconsciente aunque continuamente se pone de manifiesto que el color de nuestro entorno afecta a nuestro modo y percepción de la calidad. Desde la elección en el mercado hasta el momento de su consumo, el color es uno de los factores más determinantes en la aceptación de un alimento. Así, la especificación del color de los alimentos es un campo de investigación de creciente actividad en todo el mundo, y especialmente en nuestro país.

Es por todos conocido el efecto que tiene en la aceptación o no de un producto alimenticio su color entre el resto de las características organolépticas. Por ejemplo, un alimento más oscuro de lo normal puede dar la impresión de que está alterado por algún fenómeno de pardeamiento enzimático o no enzimático y, probablemente, será rechazado por el consumidor.

En general, los consumidores no suelen poseer conocimientos sobre la naturaleza física del color; actúan según el momento en el que observan, sin prestar atención a la calidad cromática de la luz que ilumina el objeto, sino al color del alimento y sólo lo juzgan por él, como si su color fuera constante en todas las situaciones.

Esto hace que en la industria alimentaria se considere el color como un parámetro importante a controlar. En el caso de los productos frescos, el objetivo es mantener el color una vez recolectados; en los productos elaborados conseguir un color aceptable y satisfactorio para los futuros consumidores y, a escala general, conseguir, mediante el color, aumentar el atractivo de los productos alimentarios y así su rendimiento económico.

Al igual que el color percibido de un estímulo no es algo absoluto, sino que depende de las circunstancias que le rodean, el resultado de la medida del color de un estímulo depende de las condiciones en las que se realiza la medida. Como el objetivo de cualquier medida es que sea única y repetible, se han definido condiciones estándar para aquellos parámetros que influyen en el resultado de la medida, como son el observador, el iluminante, la geometría de iluminación-observación, el ancho de banda o el intervalo de medida (*Berns y Peterson, 1988; Campos, 1999*).

La medida de color en los alimentos durante su procesado en la industria se incluye dentro del análisis de las propiedades organolépticas de los mismos. Su control se hace de tres modos diferentes, que son:

- Evaluación visual del color
- Evaluación instrumental con aparatos no específicos
- Evaluación instrumental con aparatos específicos

### ***1.3.1. Evaluación visual del color***

El color es, probablemente, el único atributo sensorial del que se dispone de métodos analíticos de medida con la suficiente precisión como para poder sustituir una medida sensorial. Sin embargo, el uso de métodos instrumentales requiere de equipos costosos y, a veces, un mantenimiento muy especializado,

pero sobretodo conlleva una, a priori, compleja interpretación de resultados. Por ello, el análisis sensorial sigue utilizándose a nivel industrial en muchos casos.

El análisis visual del color de los alimentos, se encuentra incluido dentro de la cata o examen organoléptico, que consiste en la apreciación por la vista, el olfato y el gusto de las cualidades de un alimento, y cuyo uso está muy extendido en el campo de la enología.

Puesto que un vino se elabora para ser consumido y apreciado, es lógicamente la cata lo que permite formular el juicio más autorizado sobre su calidad, no siendo suficiente, por lo general, un estudio químico, por muy exhaustivo que sea. Dentro de la cata, las sensaciones visuales se refieren fundamentalmente a la limpidez y el color, y juegan un papel importante porque van a condicionar otras características del vino: cuerpo, edad y estado del vino. Se ha demostrado que, además de jugar un papel importante en la apetencia por los alimentos, el color tiene una incidencia indirecta sobre las reacciones olfativas y gustativas (*Maga, 1974*).

La medición del color, dentro del análisis sensorial, se debe realizar en una sala de cata y con las condiciones adecuadas de temperatura, tipo de copa, hora (*Bourzeix, 1982; Baigorri y col., 1985; Peynaud, 1987; Peynaud, 1989*). Este análisis permite una descripción del color, para el cual existe un vocabulario, más o menos establecido, que en el caso del vino, es muy rico y complejo, aunque nunca se puede olvidar que se trata de un análisis subjetivo, influenciado por numerosos factores (*Llaguno, 1982*).

Otra forma de medir el color visualmente es usando escalas de color, atlas, diccionarios o colecciones de colores. Estas colecciones de referencia se usan en infinidad de industrias: pintura, tejidos, alimentación, etc. La ventaja de éstos frente a la cata es que, a veces, es necesario saber, de forma reproducible, de que color se trata y no tener sólo una nomenclatura más o menos intuitiva (*Calvo, 1989*). La escala debe abarcar todos los tonos e intensidades posibles en las muestras a evaluar y deben asignarse valores numéricos a cada punto de la escala.

Las muestras se comparan visualmente con dicha escala y se les asigna un número.

Entre los principales sistemas están:

– Sistema Munsell

Los colores se sitúan en función de la claridad (eje vertical), del tono (círculo perpendicular al eje) y de la saturación para cada tono (grado de alejamiento del eje central en cada radio correspondiente). Los colores van impresos con su notación en unas tarjetas que son separables del atlas. Es uno de los más usados en la industria alimentaria.

– Sistema Ostwald

Se basa en la igualdad visual de mezclas de colores y en la complementariedad de los tonos opuestos en el círculo de tonos que el define. Tiene en cuenta las tres variables: tono, claridad y saturación, para definir los colores. Su uso es más extendido en el mundo de la pintura.

– Sistema DIN

Es similar al Munsell pero se elaboró a partir de estimaciones visuales de diferencias de color. No es un espacio uniforme ya que las líneas de igual saturación no son circulares y no tienen el mismo espaciamiento entre ellas.

– Sistema OSA-UCS

Proporciona un espacio de color uniforme. Se trata de un cubo-octaedro (un cubo con las esquinas cortadas). Posee tres ejes: claridad (L), amarillo-azul (j) y verde-rojo (g).

### 1.3.2. Evaluación instrumental del color

El color de los objetos se expresa mediante las coordenadas de color. Estas coordenadas cromáticas son obtenidas a partir de los Valores Triestímulo (ver Apéndice I de esta Memoria):

$$\begin{aligned}
 X &= k \sum_{380}^{780} \bar{x}(\lambda) R(\lambda) \Delta\lambda \\
 Y &= k \sum_{380}^{780} \bar{y}(\lambda) R(\lambda) \Delta\lambda \\
 Z &= k \sum_{380}^{780} \bar{z}(\lambda) R(\lambda) \Delta\lambda
 \end{aligned}
 \tag{1}$$

donde  $\bar{x}(\lambda)$ ,  $\bar{y}(\lambda)$ ,  $\bar{z}(\lambda)$  son las funciones de mezcla o valores triestímulo espectrales,  $R(\lambda)$  es la radiancia del objeto en el caso de una fuente emisora de luz, o la luz de otra fuente que es reflejada o transmitida por el objeto,  $\Delta\lambda$  el intervalo con el que se realiza el sumatorio y  $k$  es una constante establecida que corrige los valores triestímulo de tal manera que  $Y$  valga entre 0 y 100.

A partir de las coordenadas cromáticas de cada muestra se calculan las diferencias de color que existen entre ellas con el fin de estudiar variaciones de color. Las diferencias umbrales constituyen el límite perceptible inferior. No obstante, en numerosas situaciones prácticas, y en particular en la industria, se trabaja con diferencias de color de mayor valor que el umbral. Es lo que se conoce como “diferencias aceptables” o “tolerancias de color”. El interés industrial por estos valores superiores al umbral está justificado por el elevado coste que supondría mantener la producción industrial dentro de los límites del umbral visual. Desde una perspectiva industrial se ha indicado que entre 1.1 y 2.8 unidades CIELAB se habla de una tolerancia rigurosa, hasta 5.6 de una tolerancia

normal, y por encima de 5.6 unidades CIELAB de una tolerancia holgada (Melgosa y col., 2001).

Existen dos tipos de instrumentos que miden el color de un objeto: aquellos que miden directamente los valores triestímulo, llamados colorímetros, y los que miden la magnitud radiométrica o fotométrica que caracteriza a la fuente o al objeto a partir de la cual se calculan los valores triestímulo (espectrofotómetro y espectrorradiómetro).

### *Colorímetros*

Miden el color de fuentes de radiación primarias (que emiten luz propia) y secundarias (que reflejan o transmiten luz externa), obteniendo directamente los valores triestímulo X,Y,Z de forma óptica, no matemática. El colorímetro reproduce la respuesta de sólo un observador patrón y un iluminante estándar preestablecidos, por lo que los valores obtenidos son distintos para cada instrumento.

### *Espectrofotómetros*

Miden la distribución espectral, de transmitancia o reflectancia, de un objeto a partir de la cual se puede calcular el color bajo distintas condiciones. Tanto la transmitancia como la reflectancia son propiedades intrínsecas del objeto que no se modifican con la iluminación recibida ni con el observador, hecho que sí ocurre con el color.

En el espectrofotómetro la medida de la transmitancia es el cociente entre la respuesta del instrumento en presencia de muestra y cuando la muestra no está en el camino óptico. La reflectancia es el cociente entre la respuesta del instrumento a la muestra y la respuesta a un patrón conocido (normalmente blanco), multiplicado por la reflectancia intrínseca del patrón.

Los primeros equipos realizaban una comprobación visual o fotográfica registrando los resultados obtenidos a las longitudes de onda fijadas. Este sistema ha sido reemplazado por la detección fotoeléctrica en la cual la luz incide sobre una superficie metálica, que se encuentra al vacío, estimulándose una cantidad de electrones proporcional a la intensidad que le llega (*Lees, 1982*). El equipo obtiene, así, el espectro completo.

### *Espectrorradiómetros*

Tienen como objetivo obtener la medida radiométrica de la distribución espectral de una fuente de radiación (primaria o secundaria). Con un fundamento igual que el anterior, mediante las ecuaciones iniciales se calculan, matemáticamente, los valores triestímulo.

El espectrorradiómetro tiene los mismos componentes que el espectrofotómetro con la excepción de la fuente de luz que, en este caso, es externa al instrumento y, por tanto, variable.

Aunque no es su uso específico, se utilizan también para la medida de la transmitancia o reflectancia de una muestra, modificando la posición relativa de la fuente de iluminación.

#### 1.4. EL COLOR DE LA UVA Y EL VINO TINTO

El proceso de maduración de la uva, como cualquier otro fruto, atraviesa una serie de etapas que, esencialmente, consiste en una pérdida paulatina de ácidos transformándose en azúcares, desde las fases iniciales o “verdes” hasta la maduración completa.

En cuanto a los cambios cromáticos que se producen, el “envero” constituye la modificación más notable en el proceso: en ese momento, la uva verde pierde su clorofila y se colorea, por la aparición de diferentes compuestos de naturaleza polifenólica, oscureciéndose progresivamente durante todo el transcurso de la maduración.

Las características cromáticas de los derivados de la uva vienen determinados por el tipo y concentración de los compuestos fenólicos que contienen. Dichos compuestos se encuentran, principalmente, en el hollejo, y en menor proporción, en pepitas, raspón y pulpa. Son liberados durante el estrujado y prensado de la uva y la maceración del mosto, desde las partes sólidas hacia el líquido.

Son los pigmentos antociánicos que contienen las uvas los que más van a influir en el color final de éstas y del vino, pero se ven afectados por el resto de polifenoles entre otros factores (*Singleton y Trousdale, 1992; Cheynier y col., 1994; Ricardo-da-Silva, 1997; Marković y col., 2000; Escribano-Bailón y col., 2001*). Sin embargo, otros fenoles flavonoides no coloreados son importantes pues pueden dar lugar a reacciones de co-pigmentación, como las flavonas y flavonoles, además de los compuestos fenólicos implicados en los procesos de oxidación y el consecuente pardeamiento (*Singleton, 1987; Cheynier y Vans, 1988; Cheynier y col., 1989; Cheynier y col., 1990; Cheynier y Ricardo-da-Silva, 1991*), sin olvidar la importancia de estos en el envejecimiento del vino (*Ribéreau-Gayon, 1973; Zamora-Marín, 1999; Valls y col., 2000*).

El color de los vinos tintos depende principalmente de las antocianinas y compuestos poliméricos que contienen, y el contenido de estos dependen de muchos factores (*Gómez-Plaza y col., 2000*) (*Gómez-Plaza y col., 2001*). Durante el almacenaje, el típico color rojo púrpura de los vinos jóvenes se pierde y cambia hacia tonos rojos más anaranjados. Estos cambios se deben principalmente al paso de los monómeros antociánicos hacia formas oligoméricas más estables y van a influir en la percepción de la calidad del vino.

La calidad en los vinos tintos, como en otros alimentos, es difícil de definir, pero lo que sí parece estar claro, es que el color es un atributo asociado con la calidad (*Bridle, 1983; Heredia y col., 1986; Heredia y Guzmán, 1988; Bakker y Arnold, 1993*) ya que es la primera de las características que aprecia el consumidor, y una buena parte de su aceptación depende de ella. El color es, relativamente, fácil de medir y proporciona información sobre los defectos y virtudes de un vino, la zona, el cuerpo, la edad (*Echávarri y col., 1994; Huerta-Díaz-Regañón y col., 1998*) y su evolución en el tiempo. Así, un año de buena cosecha dará un vino más intenso y rico en color de lo normal, así el color de la uva está relacionado con el color final del vino (*Franco Aladrén y Iñiguez, 1999*). Pero no es tan fácil el estudio de los compuestos responsables del color.

Se dice que cuando nacieron los vinos, al ser ingeridos, el hombre debió observar como primer atractivo su color (*Menchen-Benítez, 1985*). La pigmentación del vino ya fue estudiada por *Plinio* y observó que el vino tinto al mezclarlo con las aguas duras cambiaba de color. A lo largo de la historia el interés por el estudio del color del vino ha ido en aumento pues no es sólo un factor de diferenciación cromático, sino también de otras cualidades gustativas.

El análisis sensorial o cata ha sido, durante mucho tiempo, el mejor método de referencia en la apreciación del color en alimentos, consiguiéndose por los expertos una precisión, en algunos parámetros cromáticos como “diferencia de color”, mayor que la alcanzada por los métodos físicos tradicionales. El ojo

humano puede llegar a ser muy sensible a estas diferencias pero no por ello deja de ser subjetivo.

La evolución del análisis sensorial ha tendido a la objetividad, en la medida de lo posible. Las principales limitaciones que presenta frente al análisis discriminante por medidas físicas son las condiciones de observación, difícilmente estandarizables, si se tiene en cuenta el grado de influencia psicológica que afecta al color. E incluso un determinado matiz en el vino, por ejemplo, puede condicionar su sabor (*Maga, 1974*). Por ello, se justifica la evolución de los métodos físicos para el análisis del color de los alimentos y, más concretamente, de los vinos tintos.

Desde hace tiempo han existido métodos analíticos de medida de color como el “Vinocolorímetro de Salleron”, basado en la escala de colores de Chevreul, o el “Cromatómetro de M. Andreu”, fundamentado en el principio del polarímetro. Pero es en la década de los años treinta cuando se incrementa el interés por la medida del color de los vinos tintos, destacando la figura de Roos (1930) cuyos esfuerzos fueron dirigidos a la medida de la intensidad del vino por comparación con disoluciones coloreadas. De este método surgieron modificaciones durante los años siguientes (*Vogt, 1935; Kielhöfer, 1944; Wobish y Schneyder, 1955*). Por su parte, el sistema Munsell ha sido aplicado en el estudio del color de vinos y otros alimentos (*Jacobs, 1938; Amerine y col., 1959; Kramer y Twigg, 1959; Little, 1976*).

*Villforth (Villforth, 1958)* propuso asignar un índice de color que significara el porcentaje de absorción de luz a 538 nm. A partir de aquí, continua el estudio de la medida espectral para la caracterización del vino, estableciéndose, entre otras, la relación  $A_{420}/A_{520}$  que es bastante significativa y, todavía hoy, se utiliza.

*Winkler y Amerine (1938)* pueden considerarse los pioneros en la aplicación de la teoría tricromática al control de los vinos, considerando sus

parámetros fundamentales: coeficientes tricromáticos (coordenadas de cromaticidad), longitud de onda dominante, pureza y luminosidad. A partir de entonces, se comienza a recomendar algunos de los métodos ya existentes sobre análisis tricromático, basados en la medida de la absorbancia en el espectro visible, en intervalos más o menos anchos de longitudes de onda. Esta metodología se contraponía a la que propugnaba medidas de absorbancia a longitudes de onda concretas (*Sudraud, 1958; Ribéreau-Gayon, 1982*), que no se correlacionaba satisfactoriamente con el análisis sensorial. Ambos métodos presentaban diferencias en los resultados (*Bakker y col., 1986*).

Por ello, el estudio del color del vino fue desviado hacia la búsqueda de los parámetros cromáticos, pero a partir de sólo unas pocas longitudes de onda significativas, para que los cálculos resultaran suficientemente sencillos y realizables con aparatos de precio medio o bajo, como los espectrofotómetros sin barrido que se utilizaban en muchas bodegas para los análisis de rutina. Basándose en esta idea, la “Office International de la Vigne et du Vin”, OIV, a partir de expresiones similares realizadas para el color de los aceites adoptó un método oficial en España (*O.I.V., 1969*). Este es un método simplificado basado en la elección de cuatro longitudes de onda más o menos representativas a partir de las cuales se obtenían los valores triestímulo X, Y, Z según las ecuaciones:

$$\begin{aligned} X &= 0.42 T_{625} + 0.35 T_{550} + 0.21 T_{445} \\ Y &= 0.20 T_{625} + 0.63 T_{550} + 0.17 T_{445} \\ Z &= 0.24 T_{495} + 0.94 T_{445} \end{aligned} \quad [2]$$

Estas ecuaciones fueron adoptadas en las reglamentaciones nacionales e internacionales sobre análisis de vinos y se utiliza oficialmente en España con referencia al iluminante C y observador CIE 1931, que corresponde a ángulos subtendidos de visión menores o iguales a 4° (*Presidencia del Gobierno, 1977; Presidencia del Gobierno, 1981; CEE, 1990*). A partir de los valores triestímulo se calculan las coordenadas cromáticas (x,y) del punto representativo del color del

vino en el espacio CIEYxy (1931) y desde este punto se obtiene gráficamente la longitud de onda dominante ( $\lambda_d$ ).

$$\begin{aligned}x &= X / (X + Y + Z) \\y &= Y / (X + Y + Z) \\z &= Z / (X + Y + Z)\end{aligned}\quad [3]$$

Es en esta época, cuando el análisis cromático de los vinos adquiere entidad propia entre los factores determinantes de su calidad y su estudio está cada vez más extendido.

Aunque el método oficial es sencillo y rápido es muy distinto al método oficial que propuso la CIE para la determinación de los valores triestímulo considerando todo el espectro y la posibilidad de dos espacios de color: CIEL<sup>\*</sup>u<sup>\*</sup>v<sup>\*</sup> y CIEL<sup>\*</sup>a<sup>\*</sup>b<sup>\*</sup> (CIE, 1971; CIE, 1978; CIE, 1986). Ambos métodos fueron comparados por diversos autores encontrando que para determinadas muestras de vino, principalmente tintos jóvenes, y determinados parámetros de color las diferencias entre los métodos serían apreciables por el ojo humano (Negueruela y Echávarri, 1983; Negueruela y Echávarri, 1989; Heredia y Guzmán, 1989; Almela y col., 1995). Por ello, se llevó a cabo la sustitución del espacio CIEYxy por el espacio CIELAB cuyas coordenadas están mejor correlacionadas con la respuesta visual y resulta más uniforme, en lo que se refiere a diferencias de color perceptibles.

A partir de estos resultados se propusieron diferentes mejoras del método oficial de la OIV como la sustitución del observador por el CIE 1964 para ángulos de aproximadamente 10°, el cambio de iluminante al D<sub>65</sub> y seleccionando las absorbancias A<sub>420</sub>, A<sub>520</sub> y A<sub>620</sub> consideradas por Glories (Glories, 1984) como más significativas en los vinos (Negueruela y Echávarri, 1989); un método fundamentado en el del CIE que es mucho más rápido que el método de la OIV

(González-Cartagena y col., 1990); o el método basado en el análisis de vectores característicos que utiliza sólo tres de ellos para la reconstrucción de los espectros de absorbancias de los vinos (Ayala y col., 1993; Ayala y col., 1997). También fue propuesta una nueva fórmula para el cálculo de la longitud de onda dominante de forma matemática (Heredia-Mira y Guzmán-Chozas, 1989; Heredia y Guzmán-Chozas, 1992).

Dada la diferencia entre estos métodos y la observación del color en catavinos, junto con la influencia del espesor del líquido en el color aparece en la bibliografía un nuevo método de medida del color del vino por trans-reflectancia que difiere de los anteriores (Lomas y col., 1994).

Hoy en día, la medida del color de mostos recién obtenidos, y vinos, tanto jóvenes como tras su envejecimiento en bodega o botella, está cada vez más extendida por la implicación del color en la aceptación del producto final que se va a comercializar. En los últimos años muchos autores han optado por el uso del sistema CIELAB frente al OIV puesto que las dificultades de cálculo han disminuido; (Echávarri y col., 1993; Heredia y col., 1998; Escribano-Bailón y col., 2001), en cambio en las bodegas se siguen utilizando principalmente los métodos rápidos.

## **II. OBJETIVOS**

En esta memoria, se han planteado tres objetivos fundamentales:

- Establecer las características fisicoquímicas de los vinos tintos jóvenes españoles monovarietales de tempranillo en relación con el color, mediante el análisis de la composición antociánica.
- Definir el color de estos vinos tintos por métodos instrumentales objetivos basados en la Colorimetría Triestímulo, y por apreciación visual, así como la puesta a punto de la metodología correspondiente.
- Estudiar las relaciones multivariantes entre el color y la composición antociánica de estos vinos

### **III. PARTE EXPERIMENTAL**

### 3.1. MUESTRAS

Se han analizado 114 de vinos tintos españoles monovarietales de Tempranillo (*Vitis vinifera* var. Tempranillo) que aparecen recogidos en la Tabla 1 del Apéndice II. Once de ellos fueron analizados también manteniendo las botellas sin abrir, reservados de la luz y el calor, 12 meses después del primer análisis.

En general, se trata de vinos del año, es decir, comercializados dentro del año siguiente al de cosecha y elaborados por vinificación tradicional, excepto 5 vinos que habían sido sometidos a crianza posterior y 8 vinos que se elaboraron mediante maceración carbónica (Figura 7).

Las muestras pertenecen a cuatro cosechas (1999-2002) (Figura 8). Veintiún vinos han sido seleccionados y enviados por las bodegas elaboradoras, como representativos de su producción, y el resto (93 muestras) han sido adquiridos en el comercio. Todas las muestras estaban embotelladas en envase de vidrio, y presentaban suficiente estabilidad y limpidez.

En su mayoría estos vinos están acogidos a diferentes Denominaciones de Origen (Figura 9) y sólo 8 vinos han sido proporcionados por bodegas particulares antes de que el vino sea embotellado y comercializado (ver Tabla 1 del Apéndice II).

Respecto a la edad de los vinos estudiados, todas las muestras, como ya se ha dicho, son vinos jóvenes o del año; 16 muestras pertenecientes a la cosecha de 1999, 79 de la cosecha de 2000, 29 muestras, del año 2001, y una única muestra de 2002 (Figura 10).

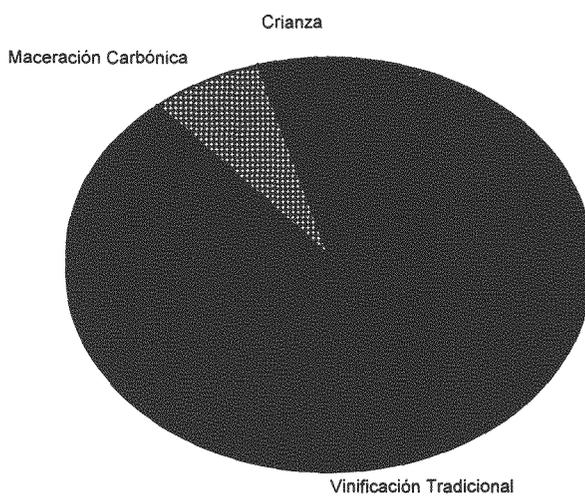


Figura 7. Muestras que presentan alguna peculiaridad en su elaboración.

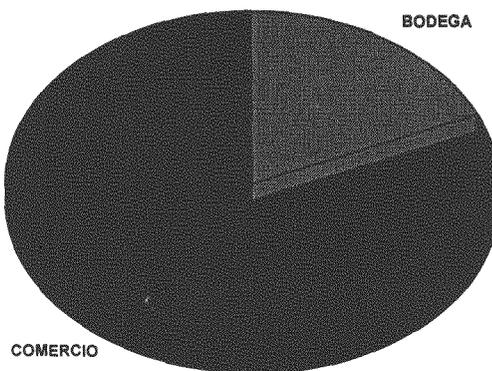


Figura 8. Distribución de los vinos según el lugar de obtención

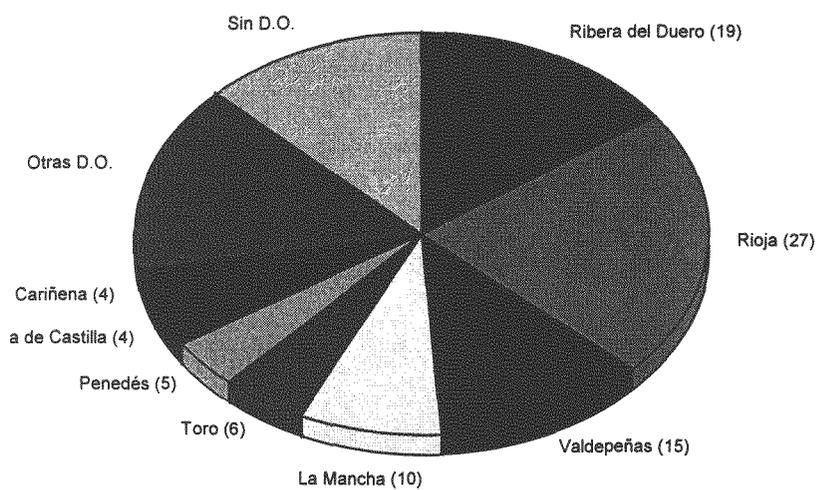


Figura 9. Distribución de los vinos según la D.O.

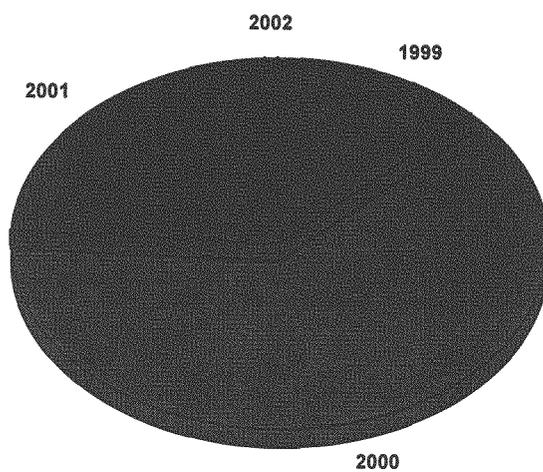


Figura 10. Distribución de los vinos tintos por cosechas.

## 3.2. METODOLOGÍA

### 3.2.1. Instrumental y Reactivos

#### *Aparatos y material*

- Agitador magnético Selecta
- Balanza electrónica Mettler AE 260
- Baño de agua termostatzado B-480
- Baño ultrasonidos Selecta de 7L
- Cabina de cata
- Cartuchos MFE-Pak C18, 500 mg (Análisis vínico Art.E2650)
- Congelador Whirpool AFG 075
- Conjunto de filtración para muestras, constituido por jeringas, soporte de filtros y filtros de 5mm de diámetro y 0.45  $\mu\text{m}$  de poro (Millipore)
- Copa de vidrio normalizada para la cata
- Cubeta de precisión Hellma, de cuarzo, de paso de luz: 10.00 mm
- Cubeta de precisión Hellma, de vidrio, de paso de luz: 2.00 mm
- Equipo de agua destilada
- Equipo de agua Milli-Q Elga, modelo Elgasat-UHQ
- Espectrofotómetro de diodos Hewlett Packard UV-visible HP 8452
- Espectrorradiómetro CAS 140B Instrument System
- Filtros de un solo uso de 0.45  $\mu\text{m}$ , Millipore
- Filtros de 47 mm de diámetro y 0.45  $\mu\text{m}$  de poro.
- Material para volumetría
- Material usual de laboratorio
- Micropipeta Nichiryo modelo 5000F de 100  $\mu\text{l}$
- pH-metro Orion model 420 A de lectura digital, con precisión de 0.01 unidades
- Rotavapor modelo Büchi R-114
- Sistema de filtración Milli-Q (Millipore modelo A-10), compuesto por kitasato, embudo y placa filtrante
- Sistema de cromatografía líquida de alta eficacia Waters 600 E con detector de diodos Waters 996

*Reactivos*

- Acetaldehído (Merck Art.800004)
- Acetonitrilo calidad HPLC (Merk Art.14291)
- Ácido clorhídrico al 35% (Merck Art.131019)
- Ácido fórmico calidad HPLC 98% (Merck Art.00264)
- Disolución acuosa de ácido sulfúrico 1:3 (v/v)
- Disolución de hidróxido de sodio 1N
- Disolución de yodo 0.02N
- Disolución para mantener el electrodo del phómetro (Orion)
- Disolución tampón de pH 4.00 (Merk Art.9435)
- Disolución tampón de pH 7.00 (Merk Art.9439)
- Engrudo de almidón (indicador)
- Etanol absoluto (Romil Art.H-314)
- Hidróxido sódico (Merck Art.109956)
- Metanol (Romil Art.H-410)

### **3.2.2. Determinación de parámetros fisicoquímicos**

#### **ANHÍDRIDO SULFUROSO (CEE,1990)**

La determinación se realiza mediante una valoración yodométrica del anhídrido sulfuroso (SO<sub>2</sub>), operando directamente con el vino, de acuerdo a la siguiente reacción:



En la determinación del anhídrido sulfuroso libre se acidula el vino para minimizar la oxidación de los fenoles, y después se valora con yodo hasta el punto final, utilizando almidón como indicador. Para determinar el anhídrido sulfuroso total es necesario hidrolizar el sulfuroso de sus uniones mediante la adición de una base fuerte y después acidular y valorar directamente (*Amerine y Ough, 1976*).

### Material

#### Aparatos:

Matraces Erlenmeyer de 500 mL

Material para volumetría

#### Reactivos

Disolución acuosa de ácido sulfúrico 1:3 (v/v)

Disolución de hidróxido de sodio 1N

Disolución de yodo 0.02N

Engrudo de almidón (indicador)

### Procedimiento

#### SO<sub>2</sub> total:

Se toman 20 mL de vino en un matraz erlenmeyer. Se añade 10 mL de NaOH 0.1N, se tapa y se espera 10 min. Pasado el tiempo, se añade 5 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y unas gotas de almidón. Se enrasa la bureta con la disolución de yodo y se va añadiendo gotas de yodo hasta que la a parición de un color violáceo, que debe mantenerse durante 10-15 segundos. Se anota el volumen gastado de yodo.

#### SO<sub>2</sub> libre:

Se toman 10 mL de vino en un matraz erlenmeyer y se añade 5 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y unas gotas de almidón. Se enrasa la bureta con la disolución de yodo y se va añadiendo gotas de yodo hasta que la a parición de un color violáceo, que debe mantenerse durante 10-15 segundos. Se anota el volumen gastado de yodo.

### Cálculo

El sulfuroso total y libre se expresa en mg/L: con cada volumen gastado de yodo se realizan unos cálculos:

$$SO_2 \text{ total (mg/L)} = V \text{ yodo (mL)} \times 32 \quad [5]$$

$$SO_2 \text{ libre (mg/L)} = V \text{ yodo (mL)} \times 64 \quad [6]$$

donde V es el volumen (mL) gastado de yodo y 32 o 64 son los factor que en cada caso hay que multiplicar para hallar la concentración

pH (CEE, 1990)

Se mide la diferencia de potencial entre dos electrodos sumergidos en el mosto. Uno de estos electrodos tiene un potencial definido en función de la actividad del ión hidrógeno (pH) de este líquido; el otro tiene un potencial fijo y conocido, y constituye el electrodo de referencia.

El pH debe determinarse con un error inferior a  $\pm 0.05$  unidades.

**Material**

*Aparatos:*

pH-metro Orion 420A

Electrodo combinado de vidrio – Ag/AgCl

*Reactivos*

Disolución tampón de pH 4.00 (Merk Art.9435)

Disolución tampón de pH 7.00 (Merck Art.9439)

Disolución para mantener el electrodo (Orion)

**Procedimiento**

En primer lugar, se calibra el aparato con las disoluciones tampón de pH 4.00 y 7.00. Una vez estandarizado, se introduce el electrodo en la muestra de mosto sometida a agitación, y se procede a realizar la lectura.

ACIDEZ TOTAL (CEE, 1990)

La determinación se realiza mediante una volumetría ácido-base con detección potenciométrica del punto final. Los ácidos orgánicos que se determinan son relativamente débiles, por ello, la valoración con una base fuerte, como el hidróxido sódico, debe hacerse hasta valores de pH superiores a 7.0. La AOAC ha fijado el valor en 8.2 como punto final en la determinación de la acidez total. En cambio, lo normal es seguir la recomendación de la OIV que define la acidez total como la suma de los ácidos valorables hasta  $\text{pH} = 7.0$ , por adición de disolución de hidróxido sódico, y expresar los resultados en g/L de ácido tartárico.

### **Material**

#### *Aparatos:*

Bureta de 50 mL  
Electrodo combinado de vidrio – Ag/AgCl  
pH-metro Orion 420A

#### *Reactivos:*

Disolución de hidróxido de sodio 0.1 N  
Disolución para mantener el electrodo (Orion)  
Disolución tampón de pH 4.00 (Merck Art.9435)  
Disolución tampón de pH 7.00 (Merck Art,9439)

### **Procedimiento**

Se toman 10 mL. de vino en un vaso de precipitado y se coloca dentro el electrodo del pH-metro. Se enrasa la bureta con NaOH 0.1N y se va añadiendo gotas de NaOH hasta que el valor de pH del display del pH-metro llegue a 7.00. Se anota el volumen gastado de NaOH.

### **Cálculo**

La acidez se expresa en g/L de ácido tartárico. Con cada volumen gastado de sosa se realizan unos cálculos:

$$g/L = (V \cdot N \cdot P_m) / (2 \cdot 10) \quad [7]$$

donde V es el volumen (mL) gastado de sosa; N es la normalidad de la sosa (es necesario factorizarla con ftalato ácido de potasio para hallar su concentración real); P<sub>m</sub> es el peso molecular del ácido tartárico (150.09); 2 es la valencia del ácido tartárico (diácido), y 10 es el volumen de vino valorado (10 mL).

### FENOLES TOTALES (*Somers y Evans, 1974; 1977; 1979*)

Los antocianos presentan máximos de absorción tanto en el visible como en el ultravioleta. *Harborne (1958a; 1958b; 1967)* publicó las características espectrales de todas las antocianidinas y de la mayoría de las antocianinas existentes en el reino vegetal. En solución ácida, las antocianinas presentan una absorbancia intensa en la región visible en el intervalo de longitud de onda de 465 a 550 nm (Banda I) y una absorbancia menos intensa en la región 270-280 nm

(Banda II). La absorción en el visible se debe a la estructura del heterociclo central y a la conjugación de los dos ciclos bencénicos, aspectos ambos que dependen del tipo de disolvente y del pH de la disolución. En cambio, la absorción en la región del ultravioleta se debe a los agrupamientos fenólicos y no se encuentra afectada por las variaciones de pH (Markakis, 1982; Somers y Ziemelis, 1985; Gross, 1987; Heredia, 1991).

El método de los índices antociánicos determina diversas fracciones polifenólicas en el vino, incluido los fenoles totales, mediante medidas simples de la absorbancia, tras someter al vino a determinados tratamientos. En el caso del cálculo de los fenoles totales, se añade ácido para bajar el pH por debajo de 1, para que así todos los antocianos estén como forma flavilio (coloreada).

A partir de esta medida simple de absorbancia se obtiene el índice de los compuestos fenólicos totales de un vino basado en medidas espectrales.

### **Material**

#### *Aparatos:*

Material para espectrofotometría visible  
Material para filtración de muestra  
Micropipetas Nichiryo 5000F de 100  $\mu$ L  
Tubos de vidrio de 10 mL

#### *Reactivos:*

Disolución de HCl 1 M

### **Procedimiento**

Para conseguir que el pH baje por debajo de la unidad, se pone un exceso de un ácido fuerte como es el HCl 1M. En un tubo de ensayo, se pone 10 mL de HCl 1 M y añadir 100  $\mu$ L de mosto (200  $\mu$ L si es poco coloreado). Esperar 3 ó 4 horas y medir la absorbancia a 520 y 280 nm en cubeta de cuarzo de 10 mm.

### **Cálculo**

Todos los valores de absorbancia se refieren como medida de A corregidas para 10 mm de paso de luz. Para ello, los valores de

absorbancia obtenidos con cubeta de 2 mm se dividen por 5.

Fenoles Totales (U.A.):

$$FT = A_{280} - 4 \quad [8]$$

Fenoles Totales (mg/L):

$$FT = 112,902 + (39,912 \cdot (A_{280} \cdot 101)) \quad [9]$$

### 3.2.3. Espectros de absorción

Los espectros de absorción molecular se registran en el vino directamente, con un espectrofotómetro de fotodiodos UV/Vis Hewlett Packard HP-8452, en la región del visible (entre 380 y 770 nm) a intervalos constantes de 2 nm, en cubeta de vidrio de 2 mm de paso de luz, frente a agua destilada como blanco de referencia.

### 3.2.4. Espectros de reflexión

Los espectros de reflexión también se registran directamente en el vino, aunque sólo se ha realizado para 60 muestras de las 125 de las que se disponía. Se utiliza para ello un espectrorradiómetro de fotodiodos CAS 140 B acoplado con una sonda Top 100 (Instrument System, Munich, Germany) y un zoom Tamron mod. SP 23A. Se obtiene el espectro en la región del visible entre 380 y 770 nm ( $\Delta\lambda=1$  nm), obteniéndose directamente los parámetros cromáticos correspondientes al espacio uniforme CIELAB (CIE, 1978). En este aparato se realizará dos medidas en la región del visible, por un lado con una cubeta de vidrio de 2 mm y por otro con una copa de cristal normalizada para la cata. En ambos casos el blanco para las medidas se hace con agua destilada

El software del ordenador proporciona el espectro de reflexión y directamente los parámetros colorimétricos en el espacio uniforme CIE 1976- (L\*a\*b\*) (CIELAB). Las condiciones visuales de referencia elegidas son: Observador de 10° (CIE, 1991a) e Iluminante Estándar D<sub>65</sub> (CIE, 1991b).

### 3.2.5. Colorimetría

Los espectros de absorción se integraron utilizando el programa de cálculo original PCROM<sup>®</sup> (Álvarez y Heredia, 1994), que tiene en cuenta las recomendaciones de la Comisión Internacional de Iluminación (CIE, 1986). Tal como indica el método de *ordenadas ponderadas*, el espectro de transmisión visible de la muestra se ponderó en intervalos constantes de 2 nm, según los factores característicos de las condiciones visuales de referencia elegidas: Observador de 10° e Iluminante Estándar D<sub>65</sub>, que se corresponde con una luz de día natural. Se han considerado los parámetros cromáticos definidos por los espacios uniformes CIE 1976-(L\*u\*v\*) (CIELUV) y CIE 1976-(L\*a\*b\*) (CIELAB), cuyo desarrollo se encuentra en el Apéndice I de esta Memoria, incluyendo las diferencias de color  $\Delta E_{ab}^*$ , según la distancia euclidia entre puntos.

Según las ecuaciones [a21] del Apéndice I, se obtienen los valores triestímulo X,Y,Z, que definen el color de la muestra y que son el punto de partida para calcular el resto de las variables cromáticas.

### 3.2.6. Cromatografía de alta resolución

Un estudio completo de los antocianos incluye un análisis cualitativo y cuantitativo. La utilización conjunta de la cromatografía líquida de alta eficiencia (CLAE) y la espectroscopía de detección de diodos en circuito integrado (DAS) permite la simple y rápida separación, identificación y cuantificación de los diferentes antocianos y sin recurrir a otras técnicas (Francis, 1982; Hebrero y col., 1989; Bakker, 1988).

#### **Material**

##### *Aparatos:*

Equipo cromatográfico Waters (Barcelona, España),  
formado por:

- Detector UV-visible Waters 996
- Bomba de gradiente cuaternario
- Bucle de inyección de 50  $\mu$ L
- Columna Spherisorb ODS2 de 250 mm x 4,6 mm de diámetro interno (Merck, Barcelona, España)
- Precolumna C18 de Tracer

Sistema de filtración Milli-Q (Millipore modelo A-10)

Filtros de un solo uso de 0.45  $\mu$ m (Millipore)

Rotavapor modelo Büchi R-114

Baño ultrasonidos Selecta de 7L

Cartuchos MFE-Pak C18 500 mg (Análisis vínico Art. E2650)

Estufa P/Selecta

*Reactivos:*

Los reactivos empleados fueron de calidad HPLC:

Acetonitrilo (Merck Art.14291, Mollet del Valles, Barcelona)

Ácido clorhídrico al 35% (Merck Art.131019)

Ácido fórmico calidad HPLC 98% (Merck Art.00264)

Metanol (Merck Art.H-410)

Las sustancias usadas como patrones fueron:

Malvidina 3 monoglucósido

*Condiciones cromatográficas*

Se utiliza un cromatógrafo Waters (Millipore), con inyector manual (Rheodyne 7125), bucle de inyección de 50  $\mu$ L, bomba cuaternaria (Waters 600 E), detector de haz de fotodiodos (Waters 996), columna de fase reversa de 250 x 4.6 mm de diámetro interno (Merck Spherisorb ODS2), y tamaño de partícula 5  $\mu$ m, y una precolumna C18 (Merck Spherisorb).

Entre las distintas fases móviles y condiciones ensayadas, se han elegido aquellas que han proporcionado mejores resultados. La fase móvil utilizada fue:

A) acetonitrilo/fórmico/agua (3:10:87)

B) acetonitrilo/fórmico/agua (50:10:40)

C) agua milli-Q

D) acetonitrilo

El flujo se mantuvo constante a 0.8 mL/min y la longitud de onda de detección fue de 525 nm. La temperatura de la columna se mantuvo constante a 38 °C.

Para conseguir la separación de los distintos compuestos se utilizó el gradiente de fase móvil que se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1. Gradiente de elución de antocianos

<i>Tiempo</i>	<i>Flujo</i>	%A	%B
0	0.8	94	6
10	0.5	70	30
15	0.5	60	40
25	0.5	55	45
35	0.5	50	50
45	0.5	40	60
55	0.5	94	6

*Preparación de disoluciones y eluyentes*

Los eluyentes se preparan en las concentraciones seleccionadas. Se filtran y se desgasifican mediante ultrasonido.

La disolución de malvidina 3 monoglucósido comercial que se ha utilizado para la cuantificación de los compuestos que absorben a 525 nm, se preparó a distintas concentraciones con el fin de hacer una recta de calibrado

*Preparación de la muestra*

Se lleva a cabo una preparación de la muestra para eliminar impurezas y evitar, sin alterar los resultados, que la columna se ensucie, consiguiéndose que el cromatograma salga mas claro. Los pasos a seguir son los siguientes:

- Se acondiciona la columna C<sub>18</sub> MFE-Pak con 2 mL MeOH y 2 mL agua milliQ.
- Se carga la muestra (1-2 ml) sin que el cartucho se sature.
- Se lava con 3 ml o más de agua teniendo en cuenta que el eluato debe salir siempre incoloro. Si no, se estarán perdiendo antocianos.
- Se eluye con fracciones de 5-6 mL de HCl 1% en MeOH. Debe ser la cantidad suficiente para recuperar prácticamente todos los antocianos.
- Se filtra el eluato recogido a través de un filtro de 0.45 µm.
- Se concentra en el rotavapor hasta 1 mL. Es muy importante saber el volumen exacto final al que se llega.

La disolución obtenida se guarda en refrigeración hasta su posterior análisis. Este análisis siempre se realiza en el mismo día de la preparación de la muestra para evitar posibles alteraciones.

#### *Recta de calibrado con patrón externo*

Se utiliza la cromatografía de alta resolución para la obtención de una recta de calibrado de un solo pigmento, el 3-monoglucósido de malvidina, a partir del cual se cuantificarán todos los demás compuestos. Se parte del monoglucósido comercial de la malvidina clorhidro (*ref.0911s Extrasynthese*), cuya pureza es del 93 % y presenta sus máximos de absorción,  $\lambda_{\max}$ , a 278.8; 350.2 y 529.8 nm. Se preparan distintas concentraciones del mismo; para ello, se pesan 3 mg de malvidina y se diluyen en 100 mL de agua acidificada con HCl hasta pH de 1.5 unidades, teniendo una concentración de 0.03 mg/mL. A partir de esta solución madre se preparan las diluciones siguientes:

Tabla 2. Concentraciones de malvidina utilizadas.

Muestra	Concentración (g/L)	Pureza (%)	Concentración real (g/L)
1	0.0300	93	0.0279
2	0.0120	93	0.0112
3	0.0084	93	0.0078
4	0.0060	93	0.0056
5	0.0030	93	0.0028
6	0.0015	93	0.0014
7	0.0090	93	0.0008
8	0.0000	---	0.0000

Estas muestras son analizadas en el cromatógrafo, por triplicado, obteniéndose un área media relativa a cada concentración. Si se representa gráficamente los datos obtenidos se tiene la siguiente curva de calibrado:

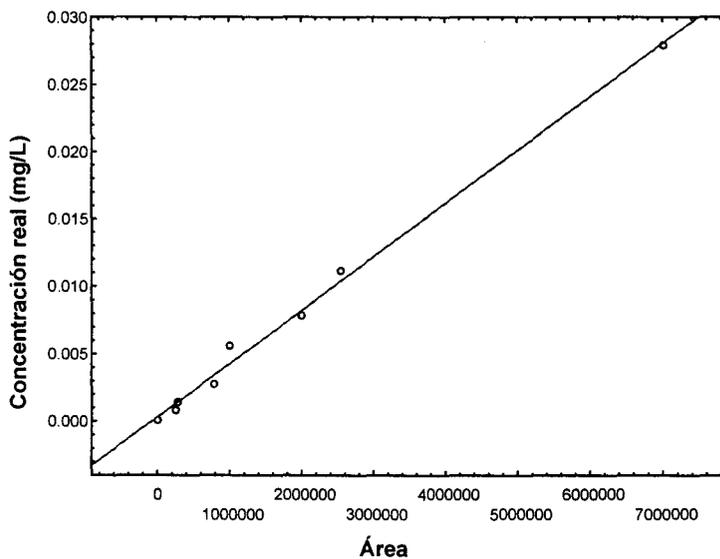


Figura 11. Recta patrón de antocianinas.

### 3.2.7. Análisis sensorial visual

La cata visual de los vinos tintos se llevó a cabo en cabinas de paredes blancas ( $70 \times 70 \times 55$  cm), en una habitación bien iluminada. Con un espectrorradiómetro de fotodiodos se hizo la medida de la Transmitancia en el interior de las cabinas (considerando el observador de  $10^\circ$  y el iluminante  $D_{65}$ ) para conocer las condiciones en las que el catador trabajaba (Figura 12).

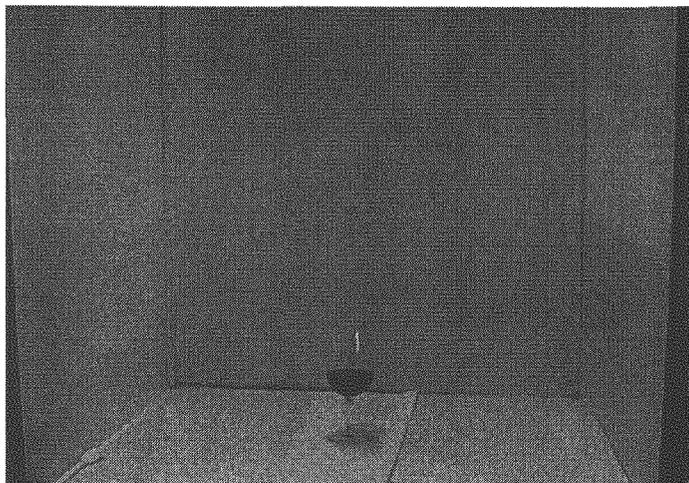


Figura 12. Iluminación ambiental de la cabina de cata.

En cada cabina se presentó una serie de ocho copas de vidrio normalizadas para la cata que contenían diferentes vinos dispuestos de forma aleatoria. Cada catavino se llenó con 25 mL de la muestra correspondiente exactamente medidas, para evitar que las diferencias de volúmenes entre ellos pudiera afectar negativamente a la percepción del color. La observación del color se realizó inclinando el catavinos aproximadamente  $45^\circ$ , para poder apreciar su color adecuadamente, y a una distancia aproximada de 30 cm del observador. Esta inclinación es necesaria porque debido a la gran cantidad de materia colorante de los vinos tintos jóvenes, el color que se observa con el espesor de una copa de cata (6 cm de espesor) es prácticamente negro con alguna tonalidad rojiza.

La intensidad de color se valora considerando puntuaciones de 1 a 6 donde el valor 1 corresponde a la intensidad más baja y va aumentando de forma progresiva hasta las 6 unidades según la ficha de cata. Los valores resultantes se presentan en porcentajes (%) respecto a la máxima puntuación (6 puntos).

En la ficha de cata, que se presenta a continuación, para el tono se presentan distintas denominaciones que se agrupan en tres secciones: azulados (con 2 posibilidades), rojizos (con 5) y amarillentos (con 3) lo que hace un total de 10 códigos diferentes que el catador debe entender en una gama continua. Los valores finales se expresan en una escala que va del 1 para los más azulados a 100 en el caso de los amarillentos y se calculan, al igual que el anterior, mediante la media ponderada.

 Área de Nutrición y Bromatología Facultad de Farmacia. Universidad de Sevilla		<b>FICHA DE CATA TINTOS</b>									
		<b>Nombre</b> _____									
		<b>Fecha</b> _____									
<b>INTENSIDAD DE COLOR</b>											
MUESTRA Nº	1	2	3	4	5	6	Observaciones				
	Baja					Alta					
<b>TONO</b>											
MUESTRA Nº	AZULADOS		ROJIZOS					AMARILLENOS			Observaciones
	A1	A2	R1	R2	R3	R4	R5	M1	M2	M3	

#### **IV. COMPOSICIÓN QUÍMICA**

#### 4.1. PARÁMETROS ENOLÓGICOS

El estudio de las características fisicoquímicas del vino tinto es una herramienta fundamental que permite establecer los criterios básicos de calidad. En la práctica, las características fisicoquímicas más estudiadas que presentan relación con el color de los vinos tintos son entre otras: acidez total y pH, anhídrido sulfuroso libre y total, y concentración de fenoles totales. Estos parámetros han sido determinados, según la metodología que se recoge en la Parte experimental, en las 125 muestras analizadas de vino tinto Tempranillo de las cosechas de 1999 a 2002. En las Tablas 2 a 4 (Apéndice II) se recogen los resultados para cada una de las muestras. En la Tabla 3 se ofrecen los valores estadísticos generales para el conjunto de muestras estudiadas.

Tabla 3. Parámetros fisicoquímicos generales.

	Nº Muestras	$\sigma$	Media	Mínimo	Máximo	Coef. variación
pH	125	0.1826	3.56	3.19	4.09	5.1
Acidez (mg/L)	125	0.5030	4.81	3.52	5.76	10.5
S <sub>02</sub> Libre (mg/L)	125	8.0945	22.40	9.60	51.20	36.1
S <sub>02</sub> Total (mg/L)	125	18.1659	35.20	16.00	100.80	51.6
Fenoles totales (mg)	125	360	1978	1204	3103	18.2

##### 4.1.1. Acidez total y pH

Los ácidos actúan como conservantes naturales del vino, manteniendo su color y cualidades aromáticas.

La acidez de la uva se debe, principalmente, a tres ácidos que posteriormente pasan al vino: ácido tartárico (prototipo de ácido de uva), ácido málico y, en menor proporción, ácido cítrico, cuyo contenido varía dependiendo de la variedad, el grado de maduración y la región. Durante la fermentación, se forman otros beneficiosos, ácido láctico, succínico, y acético, y en menor proporción: galacturónico, glucorónico, citramálico, dimetilglicérico, pirúvico, cetoglutárico, ....

La acidez total se expresa en g/L del ácido tartárico, el mayoritario en la uva. Los valores normales en vinificaciones y conservación se encuentran para un vino tinto joven en torno a 3-5 g/L, pero un vino en bodega o en botella puede ser mantenido inadecuadamente por temperatura excesiva y subir su acidez, ya que aumentan los ácidos volátiles principalmente el acético.

En los sistemas biológicos, el pH tiene a menudo mayor significado que la acidez total. Así, en Enología es corriente que muchos fenómenos dependan del pH y no de la acidez total. El pH es particularmente importante por su efecto sobre los microorganismos, el color, el potencial redox y la proporción entre el dióxido de azufre libre y el combinado. Los vinos suelen presentar valores entre 3 y 4 unidades de pH.

Los resultados de acidez total y pH se recogen en la Tabla 2 del Apéndice II y en las Figuras 13 y 14 se representa la distribución de las muestras.

La acidez total de las muestras presenta valores que oscilan entre 3.52 g/L y 5.76 g/L (expresado en ácido tartárico), y muestra un valor medio de 4.81 g/L que se encuentra entre los valores considerados como usuales en los vinos tintos jóvenes.

Los valores de pH encontrados oscilan desde pH = 3.19 hasta 4.09, con un valor medio de 3.56. Estos valores se pueden considerar normales si se comparan con los de la bibliografía (*Ruiz-Hernández, 1983*).

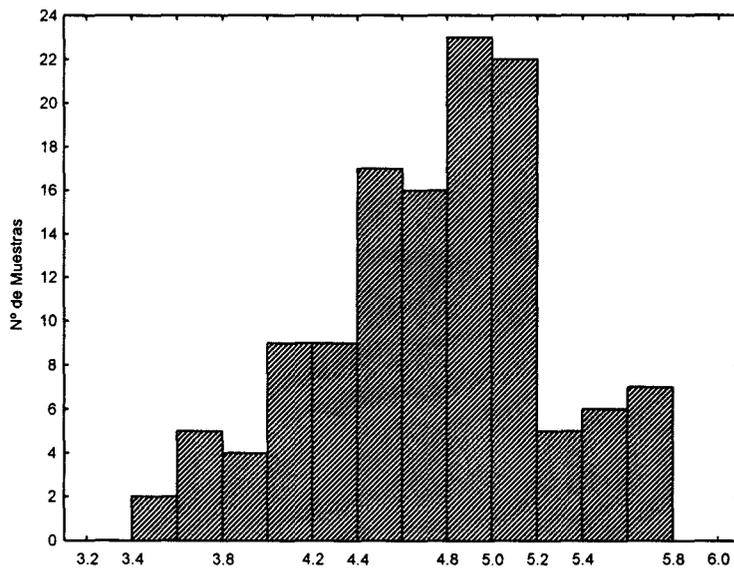


Figura 13. Valores de acidez total.

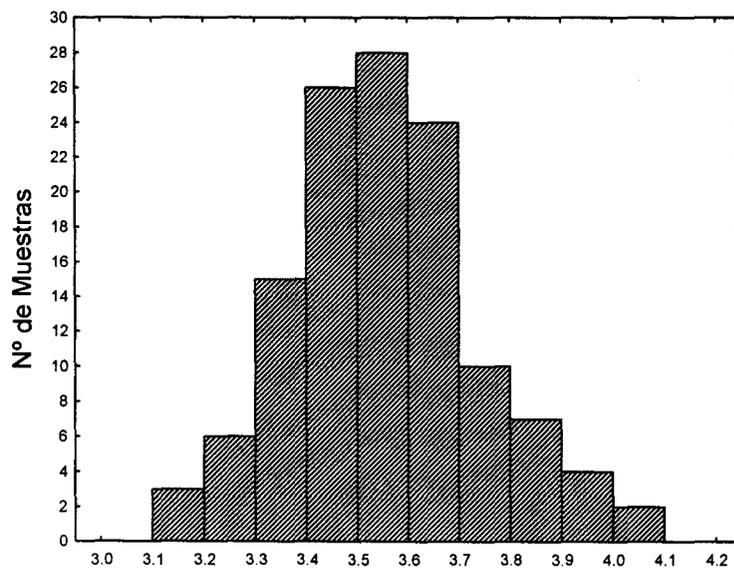


Figura 14. Valores de pH.

#### 4.1.2. Anhídrido sulfuroso

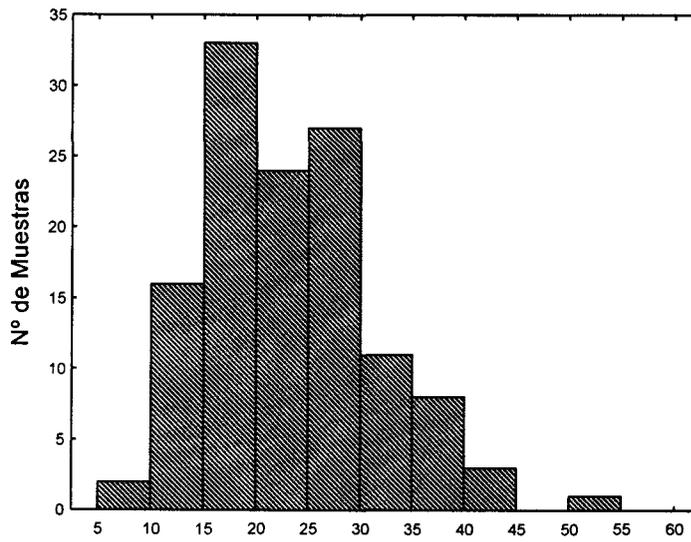
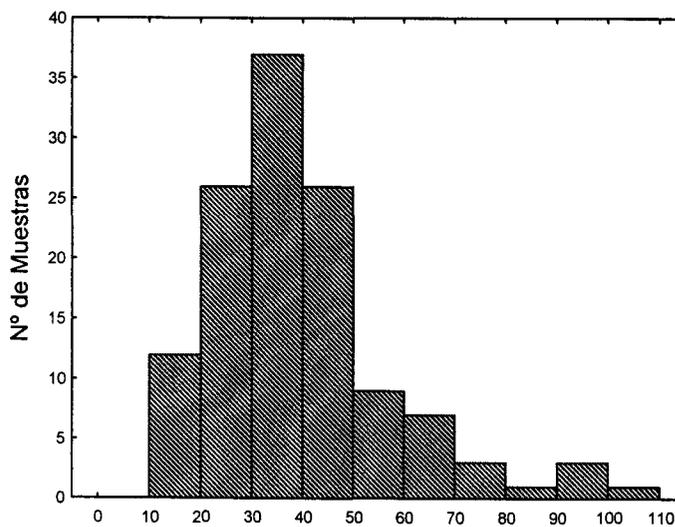
Los efectos del anhídrido sulfuroso ( $\text{SO}_2$ ) en el vino son fundamentalmente dos: antimicrobiano y antioxidante. Por ello, se trata de un aditivo prácticamente ineludible en la vinificación.

Las dosis están muy controladas. En la botella, al consumo, el contenido de SO<sub>2</sub> total debe ser inferior a 150 mg/L en tintos; y menor de 200 mg/L en blancos y rosados. Bajo el punto de vista organoléptico, cuando un vino contiene más de 35 mg/L de sulfuroso libre, empieza a presentar el característico olor picante. Produce un efecto decolorador, especialmente en los vinos tintos, que, como se ha dicho, se recupera con aireación. Por debajo de los 10 mg/L de SO<sub>2</sub> libre el vino queda desprotegido y suelen darse incrementos de la acidez volátil por acción de las bacterias acéticas.

Los valores de SO<sub>2</sub> libre y total observado en las muestras analizadas son muy variables (Tabla 3); lo que es lógico, ya que son numerosos los factores relacionados con la elaboración, embotellado y conservación que influyen en la persistencia del anhídrido sulfuroso en un vino.

Así, se observan concentraciones por encima de 10 mg/L de SO<sub>2</sub> libre, excepto en dos muestras, ya que se trata de vinos jóvenes que todavía no han perdido grandes cantidades de sulfuroso (Figura 15). La mayoría de las muestras poseen valores comprendidos entre 10 y 35 mg/L de SO<sub>2</sub> libre (105 muestras) y el resto, valores superiores a 35 mg/L (20 muestras). La media para estos vinos es de 22.4 mg/L, que concuerda con los valores normales en el embotellado.

Los valores de SO<sub>2</sub> total oscilan entre 16.0 y 100.8 mg/L (Tabla 3), con un promedio de 35.20 mg/L; de acuerdo con los valores permitidos y frecuentes (Schopfer, 1985; Aerny, 1987).

Figura 15. Valores de SO<sub>2</sub> libre.Figura 16. Valores de SO<sub>2</sub> total.

#### 4.1.3. Compuestos fenólicos totales

Los compuestos fenólicos, como ya se ha dicho, confieren al vino una gran parte de sus propiedades, y juegan un papel importante en la elaboración del vino (Zamora-Marín, 1999).

Dentro de ciertos límites, deben encontrarse en forma y cantidad más o menos constante en cada tipo de vino, lo que puede servir para su caracterización (Santa-María y col., 1986; Santa-María y col., 1987). En la bibliografía se documentan valores de fenoles totales que comprenden el rango de 800 a 4000 mg/L (Heredia, 1991; Santos-Buelga, 1997).

La concentración total de compuestos fenólicos en las muestras analizadas oscila dentro de los márgenes considerados normales para los vinos tintos, siendo el mínimo alcanzado de 1205 mg/L y la máxima cantidad 3103 mg/L (Tabla 4 del Apéndice II); con un valor medio de 1979 mg/L.

En la Figura 17 se muestra cómo la mayoría de las muestras (84%) contienen entre 1400 y 2400 mg/L de fenoles totales.

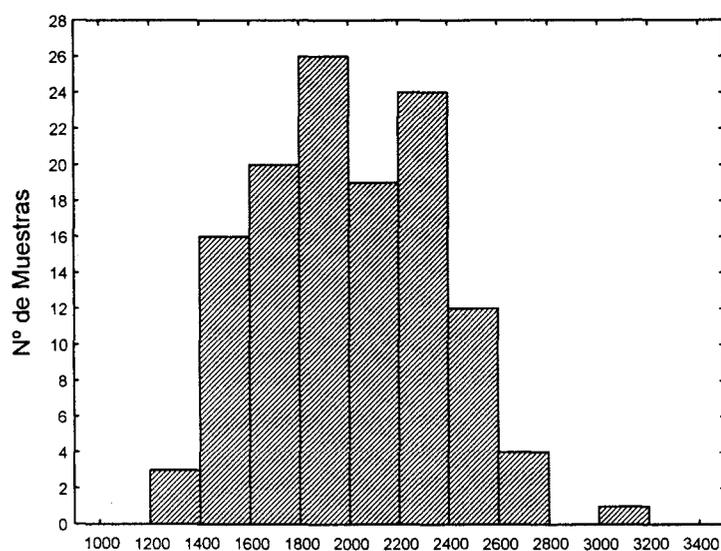


Figura 17. Compuestos fenólicos totales (mg/L).

## 4.2. COMPUESTOS ANTOCIÁNICOS

Se ha estudiado la composición antociánica cualitativa y cuantitativa de los 125 vinos tintos variedad Tempranillo. Aunque los vinos poseen mayoritariamente los cinco monoglucósidos descritos en la Introducción (cianidina, delphinidina, peonidina, petunidina y malvidina), también poseen otros derivados antociánicos que influyen en su color y que han sido estudiados (acetatos, cumaratos....).

### 4.2.1. Identificación de los compuestos antociánicos

En la tabla 4 se muestran los antocianos encontrados en los vinos tintos analizados, aunque no todos están siempre presentes como puede verse en las Figuras 1 a 42 del Apéndice II. La identificación se ha realizado por comparación de los espectros de absorción obtenidos en intervalos de 2.4 nm, que se corresponde con el intervalo de integración del software del cromatógrafo.

#### *Monoglucósidos de los antocianos*

Los compuestos más abundantes que se han encontrado en los vinos tintos jóvenes de la variedad tempranillo son los derivados monoglucosilados (Figura 18). Sus características espectrales ( $\lambda_{\max}$ ) y el tiempo de elución ( $t_R$ ) aparecen en la Tabla 4.

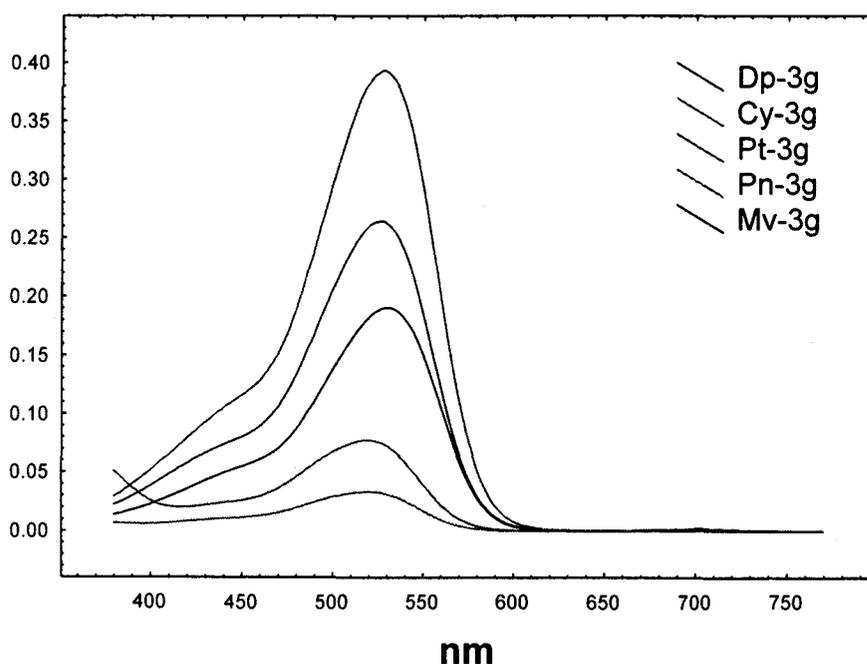


Figura 18. Espectro de absorción de los monoglucósidos.

Particularmente, la malvidina-3-glucósido (Mv-3g) (pico 8) está presente en la totalidad de las muestras analizadas y en todos los casos es siempre el compuesto antocianico mayoritario, oscilando entre el 37 % y el 66 % del total de antocianos de las muestras. Su concentración presenta valores comprendidos entre 2.17 y 150.45 mg/L con un valor medio de 28.87 mg/L ( $\sigma = 27.21$ ) (Tabla 3). La Mv-3g eluye a los 20 min. de comenzar el análisis y tras 0.95 min. de la Pn-3g, presentando un máximo de absorción en la región visible a 529.8 nm, valor similar al encontrado en la bibliografía (Baldi y col., 1995; Revilla y col., 1999).

La delfinidina-3-glucósido (Dp-3g) y la petunidina-3-glucósido (Pt-3g), (picos 2, y 5), están presentes en la casi totalidad de las muestras con algunas excepciones en aquellos vinos cuyo análisis se realizó una vez transcurridos entre 21 y 35 meses desde la elaboración. Su distribución en los vinos oscila entre 0 % y un 15 % para los dos y su concentración alcanza 26.87 mg/L para el primero y 33.37 mg/L para el segundo. Las siete muestras que no poseen la Dp-3g presentan una carga antocianica total baja y cualitativamente no tienen muchos compuestos. La Pt-3g solo está ausente en dos de los siete vinos que carecen de la delfinidina

y cuya composición antociánica se reduce únicamente al monoglucósido de malvidina y un derivado suyo resultado de la condensación entre la malvidina-3-glucósido y el ácido pirúvico (Bakker y Timberlake, 1997; Bakker y col., 1997) que eluye a continuación. En cuanto a su elución, la Dp-3g aparece en segundo lugar ( $t_R = 14.71$  min.) entre un derivado de la malvidina y la Cy-3g; y la Pt-3g en quinto lugar ( $t_R = 17.91$  min.). Ambos compuestos presentan su máximo de absorción en el visible a 527.3 nm.

La peonidina-3-glucósido (Pn-3g), que eluye en el séptimo lugar ( $t_R = 19.82$  min.), se encuentra en menor cantidad, alcanzado el máximo de concentración a 13.70 mg/L, aunque su porcentaje en las muestras llega en algunos casos al 15%. Está presente en 115 de las muestras. Presenta su  $\lambda_{max}$  más desplazada hacia la zona de los azules con un valor de 520.1 nm.

De todos los monoglucósidos, la cianidina-3-glucósido (Cy-3g) (pico 3), está en cantidades despreciables o no se encuentra presente. Cuando está presente aparece tras la Dp-3g a 16.34 min. y presenta su máximo de absorción visible a 520.1 nm, como le ocurre al anterior compuesto. Sólo aparece en 29 muestras que se corresponden con vinos tintos cuyo análisis se realizó transcurridos menos de dos años desde la elaboración. Luego se puede pensar que la Cy-3g está presente en los vinos jóvenes una vez terminada la elaboración de éstos, pero su concentración va disminuyendo durante el almacenamiento en botella. Su distribución, salvo una excepción, nunca supera el 2 % del contenido antociánico total.

### *Compuestos esterificados de los monoglucósidos*

Según un criterio cuantitativo, el segundo grupo en importancia de aparición en los cromatogramas son aquellos que presentan el azúcar esterificado con un ácido. Los ácidos encontrados en los vinos analizados son tres: p-cumárico, acético y cafeico. En primer lugar eluyen los acetatos, seguidos del

único cafeico que existe, el de malvidina, y por último los cumaratos. Dentro de cada grupo, el orden de elución es el mismo que el de los monoglucósidos. Estos compuestos se han detectado en menor cantidad que los monoglucósidos aunque en algunos casos su aportación puede ser importante. En ningún caso aparecen compuestos esterificados para la Dp-3g y Cy-3g.

En el grupo de los acetatos, el primero que eluye es el de petunidina (Pt-ac) en el deminotercer lugar y a 24.92 min. del anterior pico, de naturaleza desconocida. Su espectro presenta un desplazamiento batocrómico, en torno a 5 nm, con respecto a su monoglucósido. Este compuesto sólo aparece en 11 de las muestras analizadas, que corresponden a vinos analizados en menos de 14 meses de su elaboración, y en porcentaje variable entre el 0.5 % y el 4.5 %. En segundo lugar eluye el acetato de peonidina (Pn-ac), el pico 15, a 1.5 min. del anterior acetato. Este compuesto sólo aparece en dos de los vinos y presenta una  $\lambda_{\max} = 522.5$  nm, frente a 520.1 nm de su monoglucósido. A continuación de este compuesto, a 1.44 min. de él y a 29.66 min. del inicio, eluye el acetato de la malvidina (Mv-ac) que presenta su espectro con un máximo de absorción desplazado batocrómicamente 2.4 nm con respecto al monoglucósido. Este acetato está presente en 91 muestras, en cantidades que llegan hasta 11.80 mg/L y porcentajes de hasta el 10 %.

En el grupo de los cafeoatos sólo se ha detectado la presencia de un compuesto en cuatro de las muestras analizadas. Este es el derivado cafeico de la malvidina, malvidina-(6 cafeoil)-3-glucósido (pico 17), que eluye entre el acetato de malvidina y el cumarato de petunidina (Mv-cf). Su concentración está entre 1 y 3 mg/L no superando en ningún caso el 2.5 % de la concentración antociánica total. Su espectro de absorción (Figura 19) presenta un desplazamiento batocrómico, con respecto a la Mv-3g, mayor que el que sufre el acetato con  $\lambda_{\max} = 534.6$  nm.

Por último, eluyen los tres cumaratos que constituyen el grupo mayoritario. En primer lugar aparece la Petunidina-(6 cumaril)-3-glucósido, Pt-

cm, a continuación del cafeoato de malvidina y a 33.42 min. del inicio. Este compuesto aparece en 27 muestras llegando a concentraciones de 4.85 mg/L y a representar un 6.6 % del total. En cuanto a su espectro posee  $\lambda_{\max} = 532.2$  nm. A continuación, pero alejado del anterior 5.45 min., eluye el cumarato de peonidina (Pn-cm); presente sólo en 8 muestras que también poseen los otros dos cumaratos. Su espectro de absorción (Figura 19) presenta un desplazamiento batocrómico, con respecto a la Mv-3g, igual que el acetato. Y, al final del cromatograma aparece en el minuto 40.97 la Malvidina-(6 cumaril)-3-glucósido, Mv-cm (pico 20). Está presente en 109 de los 125 vinos analizados y alcanza concentraciones similares a algunos monoglucósidos (30.15 mg/L). Este compuesto presenta su máximo espectral a 534.6 nm, como el caso del cafeoato.

Luego, mayoritariamente, aparecen los derivados de la malvidina, acetato y cumarato (picos 16 y 20), cuya aportación puede ser importante en algunos casos. En menor proporción se encuentran los derivados acéticos y cumáricos de la petunidina (pico 13 y 18) y de la peonidina (pico 15 y 19); así como el cafeoato de malvidina.

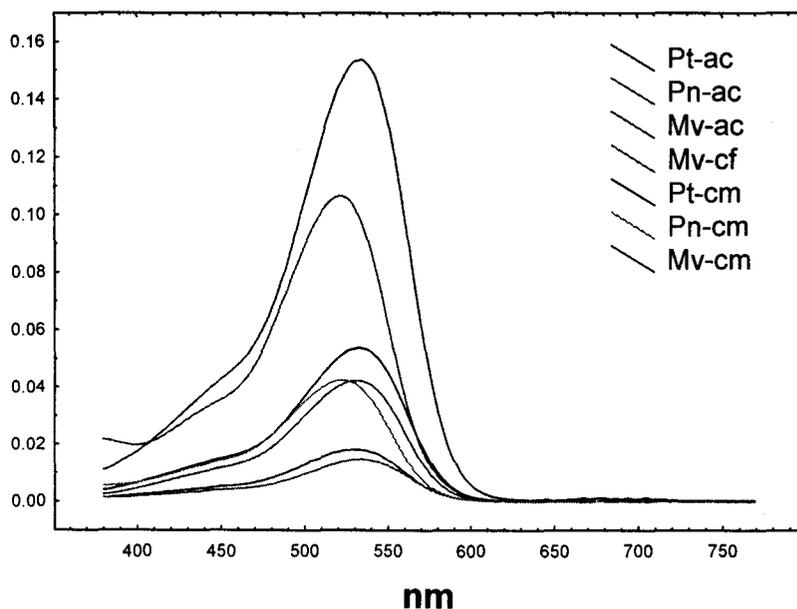


Figura 19. Espectro de absorción de los ésteres.

*Derivados antociánicos conocidos*

En primer lugar, aparece en los vinos tintos analizados un compuesto anterior (2.05 min) a la Dp-3g (pico 1), cuya presencia en la uva no está documentada y con un valor en el visible de  $\lambda_{\max} = 534.6$  nm. Este compuesto, presente sólo en el vino tinto, está descrito en la bibliografía (*Vivar-Quintana y col., 1999*) como un compuesto de  $m/z = 781$ , que presenta una  $\lambda_{\max} = 531$  nm y con un fragmento principal identificado como el aglucón de la malvidina por lo que coincide con la estructura de un dímero de catequina-malvidina-3-glucósido. En los vinos analizados aparece en 36 muestras con una concentración comprendida entre 0.4 y 3.9 mg/L, pudiendo representar hasta un 9.5 % del total del contenido antociánico.

Por otro lado, se ha obtenido un compuesto (pico 9) cuyo espectro es similar al pigmento que aislaron Bakker *et al.* (1997) en vinos oporto de crianza, la vitisina A, y que luego aislaron y caracterizaron Fulcrand *et al.* (1998). Estos autores sugirieron que se trataba de un compuesto resultado de la condensación entre la malvidina-3-glucósido y el ácido pirúvico por lo que se le ha llamado derivado pirúvico de la malvidina-3-glucósido. La identificación se ha realizado por el orden de elución, a continuación de la malvidina-3-glucósido, y las longitudes de onda máximas (271.1; 300.2; 370.2; 517.6 nm) de su espectro. Este compuesto aparece en este estudio a 0.56 min. de la malvidina, pero en los trabajos nombrados anteriormente, el tiempo de elución es variable entre 1 y 3 min. Este compuesto presenta una estructura similar a los derivados anteriores de Df-3-g, Pt-3-g y Pn-3-g, que han sido documentados pero que no se han detectado en estas muestras. Este compuesto está presente en 60 muestras de vino en cantidades que alcanzan los 3.38 mg/L y que se corresponden con porcentajes que representan hasta el 16 %.

El pico 10 presenta máximos de absorbancia en el UV-vis a 267.0, 357.4 y 493.3 nm y aparece justo después del compuesto anterior, vitisina A, a 0.56 min. y a 2.13 min. de la Mv-3-g. Las características de este derivado de la malvidina se

encuentran referenciados en la bibliografía y se corresponden con un compuesto identificado por Bakker & Timberlake (1997) en vinos Oporto y que llamaron vitisina B. Posteriormente, como se explica en la Introducción de esta Memoria, este compuesto ha sido detectado y caracterizado por otros autores con  $m/z$  517 (Revilla y col., 1999; Vivar-Quintana y col., 1999), que lo describen como un derivado de la malvidina que ha sufrido un desplazamiento hipsocrómico de 36.4 nm.

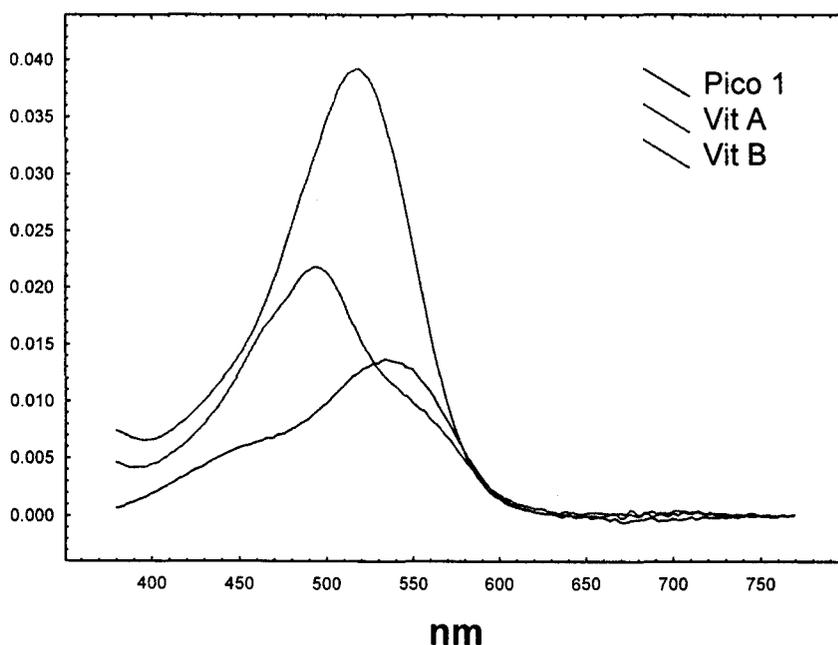


Figura 20. Espectro de absorción de los de los derivados de la malvidina.

#### *Otros compuestos antociánicos*

Otro compuesto, que no siempre aparece, es el pico 4 ( $\lambda_{\max} = 263.3; 357.4; 524.9$  nm) que eluye 0.61 min. después de un glucósido de antocianina minoritario como es la cianidina-3-glucósido. Este compuesto está presente en 29 de los vinos analizados, y de ellos, más de la mitad poseen también la Cy-3g, por lo que su presencia puede estar relacionada con una carga antociánica importante. Los valores de concentraciones (máx. 3.17 mg/L) y porcentajes (máx. 6 %) son similares a los de la Cy-3-g. En la bibliografía también aparece un pico similar tras de la peonidina-3-glucósido (Revilla y col., 1999) pero no ha sido detectado en

estos vinos tintos jóvenes. De estos dos picos no se conoce su estructura por lo que se nombran como no identificados.

El siguiente pico desconocido (Pico 6) aparece tras la petunidina-3-glucósido ( $t_R = 1.14$  min.) y presenta en el visible  $\lambda_{max} = 532.2$  nm. Este compuesto no está descrito en la bibliografía, así que se nombra como no identificado. Lo que si aparece documentado son unos compuestos de estructura muy similar a sus glucósidos: Df-3-gls, Pt-3-gls y Pn-3-gls y que eluyen después de su respectivo glucósido y tienen su longitud de onda máxima en torno a 515-517 nm (*Francia-Aricha y col., 1997; Revilla y col., 1999*). Estos derivados no han sido detectados en los vinos que se han estudiado en esta Memoria y en el lugar donde debería aparecer el derivado de la Pt-3-gls eluye el pico desconocido que se ha llamado pico 6.

Otro compuesto se corresponde con el pico 11, que eluye después de la vitisina B, a menos de un minuto de esta y a 23.75 min. del inicio; y en cuanto a sus características espectrales en el UV-vis presenta dos  $\lambda_{max}$  a 278.8 y 517.6 nm. Si se tiene en cuenta el tiempo de retención, este derivado podría coincidir con un compuesto propuesto en la bibliografía como acetilvitisina A, que presenta una  $\lambda_{max} = 270; 370; 523$  nm (*Bakker y Timberlake, 1997*) pero, como se observa, los espectros de ambos no coinciden por lo que se considera como pico no identificado. Este compuesto aparece en pequeñas cantidades en 11 de los 125 vinos y sólo en una muestra su concentración aunque baja (2.93 mg/L) supone un 18.75 % del total del contenido antocianico.

En algunos de los vinos analizados (6 casos) también se observa la presencia de un compuesto traza (concentración  $\leq 1.37$  mg/L) cuyo espectro presenta  $\lambda_{max} = 267.0; 300.2; 359.2; 534.6$  nm (pico 12). Este compuesto podría ser un derivado que aparece en la bibliografía con  $m/z$  809 y  $\lambda_{max} = 535$  nm, y cuya estructura contiene catequina y Mv-3-gls unidas por puentes etilos pero como no existe certeza se nombra como desconocido (*Rivas-Gonzalo y col., 1995; Vivar-Quintana y col., 1999*).

Por último, aparece otro pico no identificado (pico 14), a 2.62 min. del acetato de petunidina, cuyas longitudes de onda máxima en el UV-vis son 283.6 y 532.2 nm; para este pico no se encuentra documentada su naturaleza y en este trabajo aparece como desconocido (*Revilla y col., 1999*).

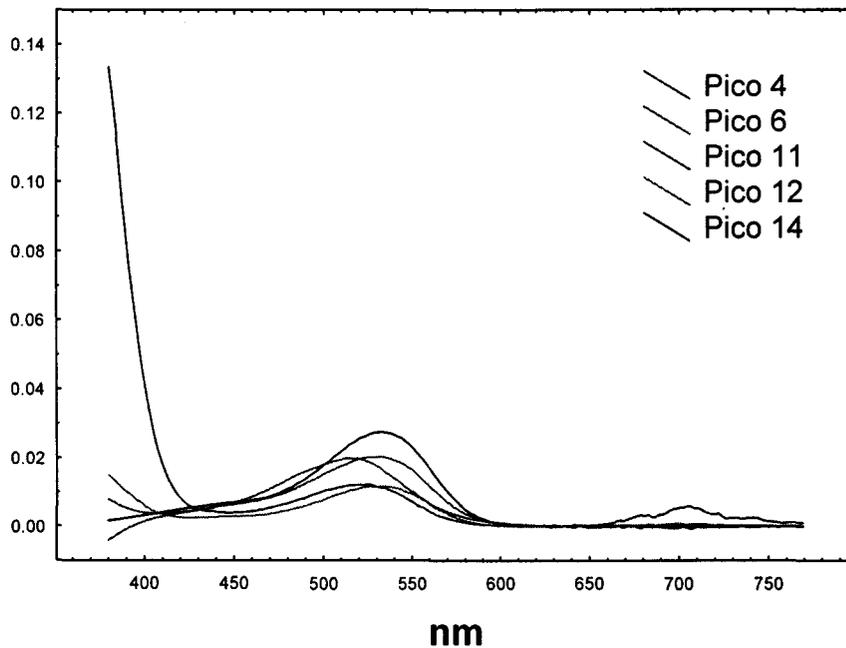


Figura 21. Espectro de absorción de los compuestos no identificados.

Tabla 4. Antocianos encontrados en los vinos tintos jóvenes comerciales

Pico	Compuesto antociánico	t <sub>R</sub> (min.)	t <sub>R</sub> relativo*	Máximos de absorción (nm)	Nº Veces**
1	Catequina-Mv-3-glucósido	13.48	---	357.4 ; 534.6	36
2	Delfinidina-3-glucósido	14.71	2.05	278.8; 347.8; 527.3	121
3	Cianidina-3-glucósido	16.34	1.93	267.0; 359.2; 520.1	29
4	No identificado	17.52	0.61	263.3; 357.4; 524.9	29
5	Petunidina-3-glucósido	17.91	0.59	278.8; 350.2; 527.3	125
6	No identificado	19.03	1.14	255.2; 352.6; 532.2	17
7	Peonidina-3-glucósido	19.82	0.77	281.2; 370.2; 520.1	116
8	Malvidina-3-glucósido	20.77	0.95	278.8; 350.2; 529.8	126
9	Mv-gls-py derivado (vit A)	21.43	0.56	271.1; 300.2; 370.2; 517.6	60
10	Vitisina B	23.59	2.13	267.0; 357.4; 493.3	9
11	No identificado	23.75	0.91	278.8; 517.6	11
12	No identificado	24.22	0.59	267.0; 300.2; 359.2; 534.6	6
13	Pt-(6 acetil)-3-glucósido	24.92	0.81	278.8; 352.6; 532.2	11
14	No identificado	27.72	2.62	283.6; 532.2	34
15	Pn-(6 acetil)-3-glucósido	28.28	0.76	281.2; 333.5; 522.5	2
16	Mv-(6 acetil)-3-glucósido	29.66	1.44	278.8; 350.2; 532.2	91
17	Mv-(6 cafeoil)-3-glucósido	32.73	2.66	283.6; 331.1; 534.6	4
18	Pt-(6 cumaril)-3-glucósido	33.42	0.93	283.6; 532.2	27
19	Pn-(6 cumaril)-3-glucósido	34.03	5.45	283.6; 522.5	8
20	Mv-(6 cumaril)-3-glucósido	40.97	1.77	283.6; 534.6	109

t<sub>R</sub> relativo\*: Es la media de las diferencias de picos consecutivos.

Nº veces: Es el número de muestras en la que aparece el compuesto.

Tabla 5. Valores medios de los compuestos antociánicos.

Picos	N	Media	Mínimo	Máximo	Desv. Est
1	125	0.35	0.00	3.90	0.6301
Dp-3g	125	3.83	0.00	26.87	4.1144
Cy-3g	125	0.27	0.00	3.31	0.5985
4	125	0.38	0.00	3.17	0.7889
Pt-3g	125	5.52	0.00	33.37	5.7873
6	125	0.14	0.00	2.94	0.4121
Pn-3g	125	2.29	0.00	13.70	2.1780
Mv-3g	125	28.87	2.17	150.45	27.2172
9	125	0.62	0.00	3.38	0.7737
10	125	0.11	0.00	3.12	0.4494
11	125	0.18	0.00	3.69	0.6133
12	125	0.04	0.00	1.37	0.1990
Pt-ac	125	0.15	0.00	3.50	0.5420
14	125	0.44	0.00	4.81	0.9093
Pn-ac	125	0.03	0.00	2.29	0.2185
Mv-ac	125	1.55	0.00	11.80	1.9004
Mv-cf	125	0.07	0.00	2.81	0.3958
Pt-cm	125	0.34	0.00	4.85	0.8186
Pn-cm	125	0.13	0.00	4.17	0.5569
Mv-cm	125	3.79	0.00	30.15	4.7259

## **V. ESTUDIO COLORIMÉTRICO DEL VINO TINTO**

El estudio colorimétrico de los vinos tintos jóvenes se realiza de dos modos diferentes. Por un lado, mediante una evaluación visual de las muestras en copa normalizada, en el que se valora, por parte de los catadores entrenados, el matiz y la intensidad colorante de las muestras. Por otro lado, se hace una evaluación instrumental del color utilizando un espectrofotómetro que mide la transmitancia de las muestras y un espectrorradiómetro que mide la luz reflejada por los vinos tintos.

### 5.1. ESPECTROFOTOMETRÍA

Se ha realizado un estudio del color para ver los parámetros más representativos en los vinos elaborados con la uva tinta, de variedad Tempranillo. Se han utilizado dos espacios uniformes de color para la obtención de los parámetros colorimétricos, descritos en el Apéndice I, a partir de los espectros de absorción obtenidos por espectrofotometría UV-vis. Son los espacios CIE 1976-(L\*a\*b\*), conocido como CIELAB y CIE 1976-(L\*u\*v\*), llamado CIELUV, ambos generalmente considerados uniformes por la Comisión Internacional de Iluminación (CIE, 1986), tomando como referencia el iluminante D<sub>65</sub> y el observador de 10°. Los valores obtenidos para las variables definidas por los dos espacios se muestran en las Tablas 6-9 del Apéndice II.

Los cálculos han tenido en cuenta dos pasos de luz diferentes: la cubeta realmente utilizada en la medida espectrofotométrica (en todos los casos 2 mm) y el ancho de cubeta generalmente aceptado como referencia en los estudios de color (10 mm), así como en las recomendaciones del método oficial (O.I.V., 1990). Aunque la recomendación de un paso de luz de referencia permite la comparación de las características del color de diferentes estudios, sin embargo, se ha puesto de manifiesto que los resultados obtenidos sin corregir la transmitancia, es decir, tomando el paso de luz de análisis, están mejor

correlacionados con la apreciación visual. Esto se debe a que también visualmente se eligen espesores pequeños (inclinando la copa) para evaluar el color, tal como debe hacerse en la medida analítica para evitar la saturación del detector, lo que conllevaría el falseamiento de la medida.

Además, estas condiciones usadas y los datos resultantes se asemejan más al color que ve el catador en la copa de vino, puesto que este inclina la copa para observar el color en una capa muy fina de vino. Este hecho ya ha sido planteado por algunos autores (*Negueruela y col., 1994*) (*Negueruela, 2003*). En segundo lugar, se han realizado los cálculos con una cubeta de 10 mm ya que es la práctica habitual con la se referencia los parámetros colorimétricos en la bibliografía y las recomendaciones del método oficial vigente.

### **Espacio CIELAB**

En la Tabla 6 del Apéndice II se presentan las coordenadas de color de los vinos tintos analizados sobre el diagrama ( $a^*b^*$ ); y en la Figura 24 se representan estos datos, en la que, como puede verse, todas las muestras se encuentran agrupadas en el cuadrante superior derecho, que corresponde con la zona de los rojos próximos a los azules. Los valores del parámetro  $a^*$  oscilan entre 14.27 y 57.16 unidades, aunque la mayoría de las muestras (87 %) oscila entre 23.09 y 43.67 unidades. En cambio, el valor de  $b^*$  tiene una menor dispersión en el diagrama, con valores que comprenden el rango que va de 1.12 a 19.70 unidades; aunque la mayor parte de los vinos analizados presentan valores entre 5.22 y 15.00 unidades que se corresponde con un 92 % del total de las muestras.

En aquellos vinos en los que se realizó la medida también transcurrido un año desde que las muestras fueron recibidas en el laboratorio, se observa que se produce un desplazamiento hacia la zona de los anaranjados, como resulta previsible si se tienen en cuenta los fenómenos de evolución/oxidación en almacenamientos.

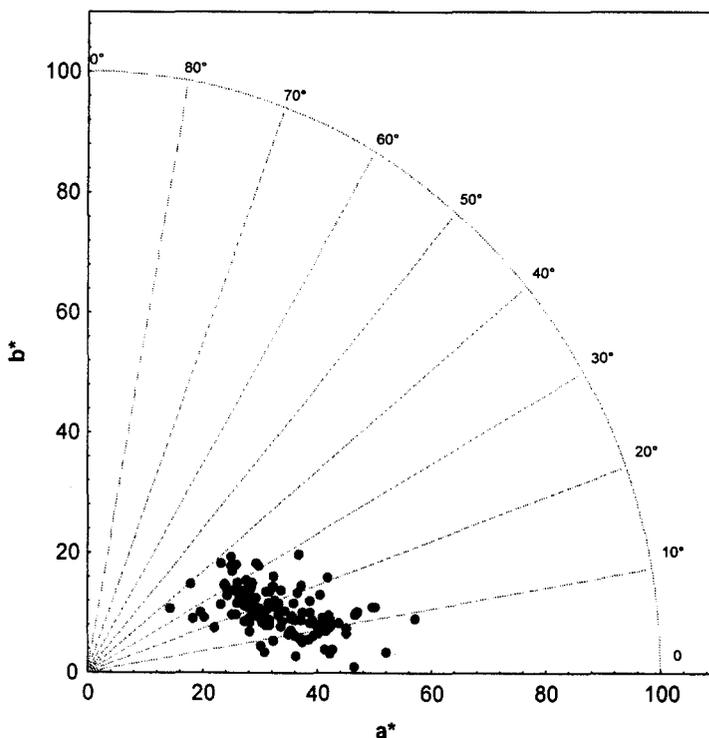


Figura 22. Representación de los vinos en el diagrama ( $a^*b^*$ ) para cubeta de 2 mm.

En la Figura 25 se representan las características cromáticas sobre el diagrama ( $a^*b^*$ ) calculadas para cubeta de 10 mm. Se observa, con respecto a las condiciones anteriores, que las muestras se agrupan también en el cuadrante superior derecho, pero en la zona de los rojos netos como corresponde a apreciaciones visuales en espesores más grandes. Los valores del parámetro  $a^*$  oscilan entre 35.09 y 57.78 unidades, aunque el grueso de las muestras (86 %) oscila entre 43.76 y 55.02 unidades. En cambio el valor de  $b^*$  tiene una mayor dispersión en este caso, con valores que comprenden el rango que va de 10.72 a 47.52 unidades; aunque la mayor parte de los vinos analizados presentan valores entre 22.10 y 43.32 unidades. También en este caso se produce un neto desplazamiento hacia mayores valores de  $b^*$  (anaranjados) cuando se analizan las muestras almacenadas un tiempo prolongado.

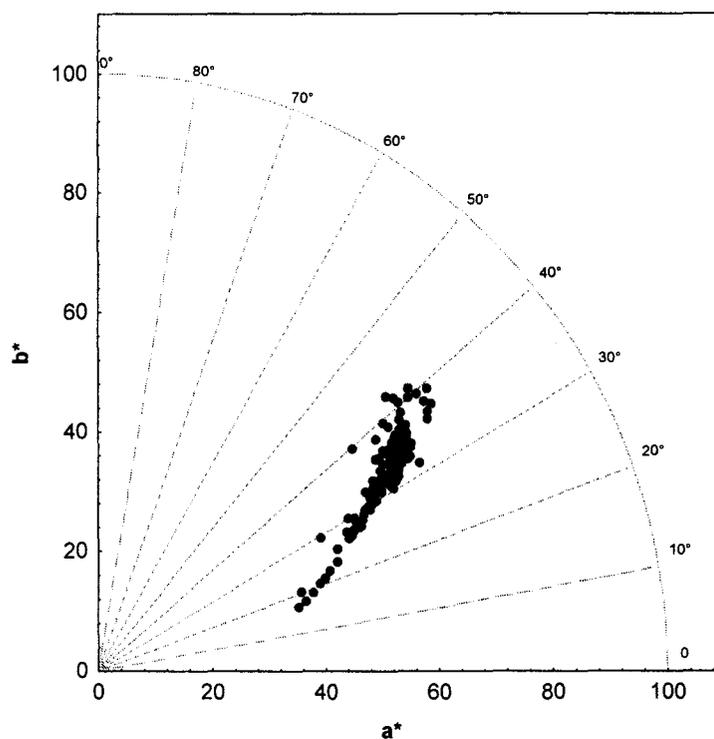


Figura 23. Representación de los vinos en el diagrama ( $a^*b^*$ ) para cubeta de 10 mm.

En el estudio del tono ( $h_{ab}$ ), para cubeta de 2 mm, se observa que los valores oscilan entre  $1.38^\circ$  que se corresponde con un rojo azulado y  $39.87^\circ$  que ya es un rojo más neto; aunque la mayoría se agrupan en el intervalo de  $10^\circ$ - $30^\circ$ . Estos valores, como ya se ha dicho, corresponden con los rojos algo azulados. Hay que destacar que los vinos más recientes, aquellos cuyo análisis en el laboratorio se realizó poco después del embotellado, son los que presentan los valores de tono que tienden más a la zona de los azulados (valores bajos de  $b^*$  y de  $h_{ab}$ ), mientras que las muestras de la cosecha de 1999 y 2000 que se analizaron más de un año después de ser recibidas en el laboratorio presentan tonos por encima de  $30^\circ$ , claramente en los rojos anaranjados.

Para una cubeta de 10 mm, el tono ( $h_{ab}$ ) presenta el mismo comportamiento que en 2 mm pero desplazado hacia la zona de los rojos netos.

Los valores oscilan entre  $16.98^\circ$  y  $42.29^\circ$ ; aunque la mayoría se agrupan en el intervalo de  $30^\circ$ - $40^\circ$ .

En el análisis del croma ( $C^*_{ab}$ ), obtenido para cubeta de 2 mm, se observan valores que oscilan entre 17.8 y 57.8 unidades CIELAB; aunque casi todas las muestras están entre 27 y 43 unidades CIELAB. Se observa que, también aquí, son las muestras enviadas por las bodegas tras su embotellado las que, en general, presentan un valor de croma superior (muestras 26, 62, 95 y 96). En el caso de paso de luz 10 mm el croma se desplaza hacia valores mayores (entre 37 y 75 unidades CIELAB).

Los vinos tintos jóvenes son, en general, muy oscuros, con valores de claridad,  $L^*$ , entre las 10 y 30 unidades, cuando se realiza la medida en espesores grandes (10 mm), lo que se corresponde con bajos porcentajes de luz transmitida. Sin embargo, al realizar la medida y el cálculo en cubeta estrecha (2 mm) la claridad oscila entre el 55% y el 75 % de luz transmitida.

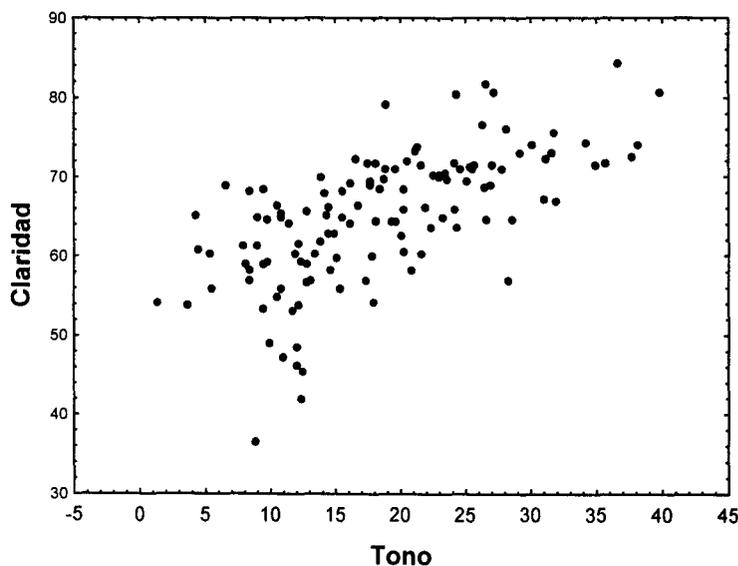


Figura 24. Representación de la claridad frente al tono para cubeta de 2 mm.

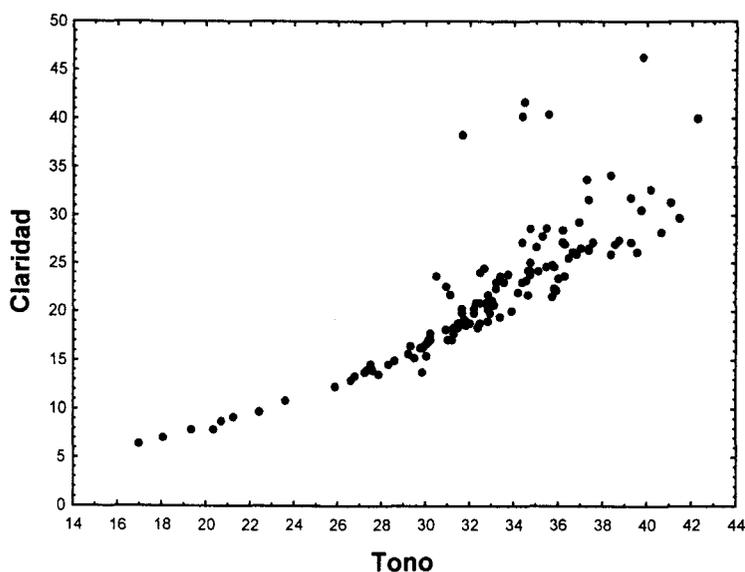


Figura 25. Representación de la claridad para cubeta de 10 mm.

### Espacio CIELUV

El espacio CIELUV, mucho menos utilizado en la industria, es una alternativa, no siempre desechable, al espacio CIELAB. Se han obtenido las variables de color que definen este espacio, prestando una especial atención a la saturación  $S^*_{uv}$ , considerada el mejor correlato con la saturación percibida y que no tiene análogo en CIELAB. Como era de esperar la distribución de los puntos del diagrama ( $L^* u^* v^*$ ) presenta una distribución uniforme como en el diagrama ( $a^* b^*$ ) (Figura 28) y con similar dispersión de valores. Los valores de  $v^*$  y  $b^*$  son muy similares mientras que los de  $u^*$  están desplazados hacia valores más altos que los de  $a^*$ , entre 30 y 90 unidades.

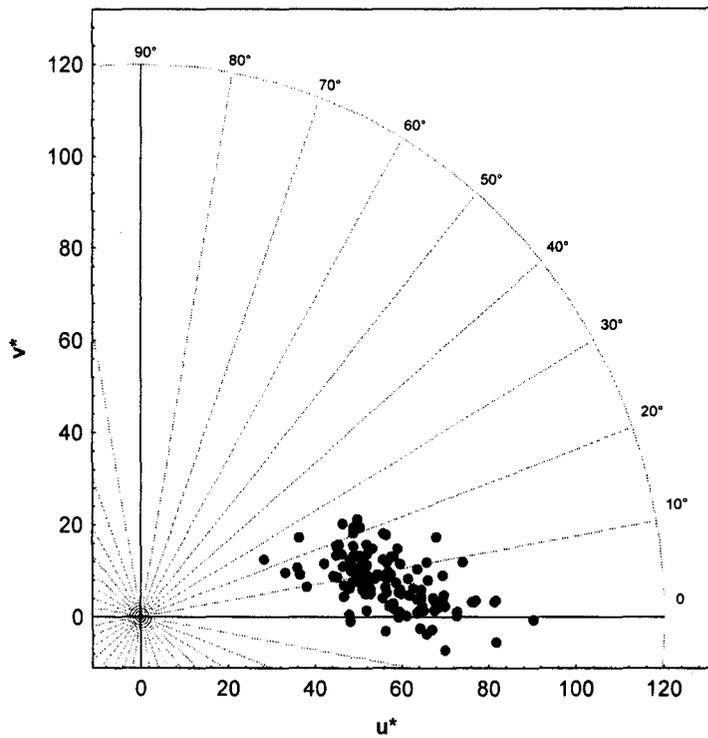


Figura 26. Representación de los vinos en el diagrama ( $u^*v^*$ ) para cubeta de 2 mm.

En el caso de la cubeta de 10 mm el comportamiento es muy similar al anterior. Los valores de  $v^*$  son ligeramente más bajos que los de  $b^*$  mientras que los de  $u^*$  están desplazados hacia valores más altos que los de  $a^*$ , entre 30 y 110 unidades.

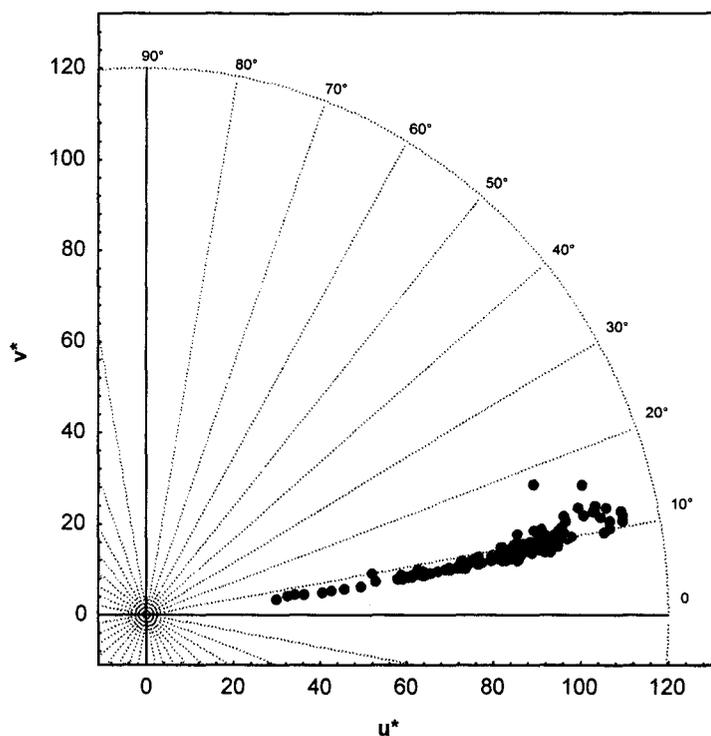


Figura 27. Representación de los vinos en el diagrama ( $u^*v^*$ ) para cubeta de 10 mm.

La claridad,  $L^*$ , se define igual que en CIELAB y, como se ha comentado, dicho valor oscila principalmente entre 55 y 75 unidades para cubeta 2 mm y entre 10 y 30 para cubeta 10 mm.

Los valores de tono ( $h_{uv}$ ) son mas bajos que los obtenidos para CIELAB y el margen de variación también es inferior, oscilando entre 0.16 y 359.61 grados. Esto mismo ocurre para cubeta de 10 mm, oscilando entre 7° y 14°.

El croma ( $C_{uv}^*$ ) es más alto que en el espacio anterior y se encuentran comprendidos entre 30.82 y 90.11 unidades. En el caso de la cubeta de 10 mm el comportamiento es similar pero oscila entre 29.93 unidades para la muestra 26 y para la 111.62 para la 64. Luego como se observa no existen variaciones importantes al cambiar la cubeta considerada.

La saturación ( $s^*_{uv}$ ), definida en este espacio, es una medida bien correlacionada con la pureza de color apreciable, que muestra valores bajos, con un rango que oscila entre 0.37 y 2.47 unidades para cubeta 2 mm y entre 2.02 y 4.81 unidades para la cubeta de 10 mm. Esto supone una variación de 2 unidades en ambos casos pero en intervalos distintos.

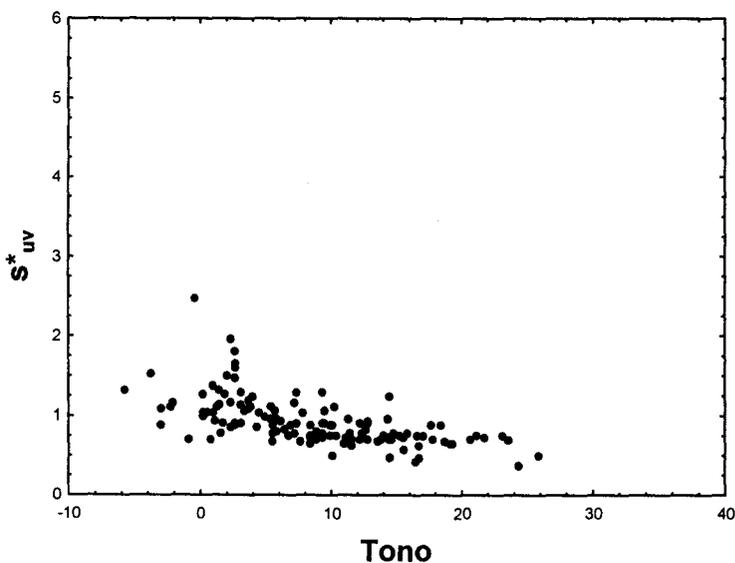


Figura 28. Representación de la saturación para 2 mm.

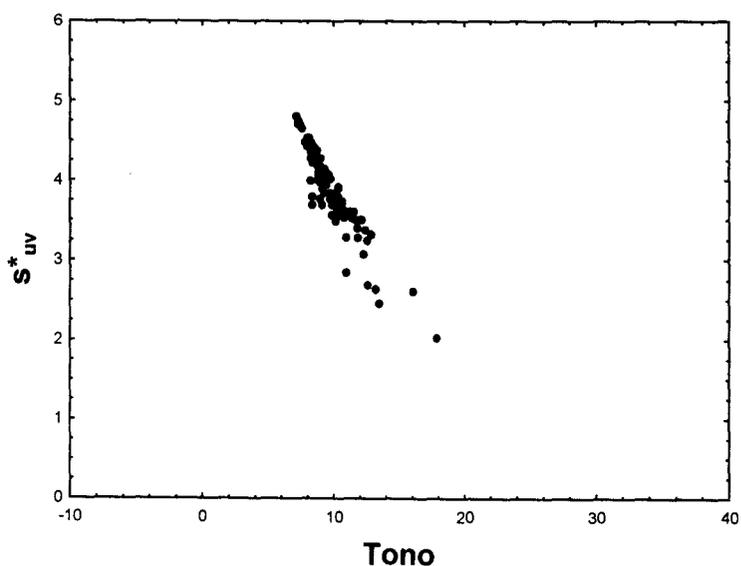


Figura 29. Representación de la saturación para 10 mm.

Por otra parte, si se representan frente a la saturación ( $s_{uv}^*$ ) los parámetros  $C_{uv}^*$ ,  $L^*$  y  $h_{uv}$ , obtenidos para cubeta de 2 y 10 mm, se observa cómo la saturación presenta una mayor linealidad con ambos parámetros en el caso de utilizar cubeta de 2 mm, ya que con la otra se produce una mayor dispersión de los valores, especialmente para el croma.

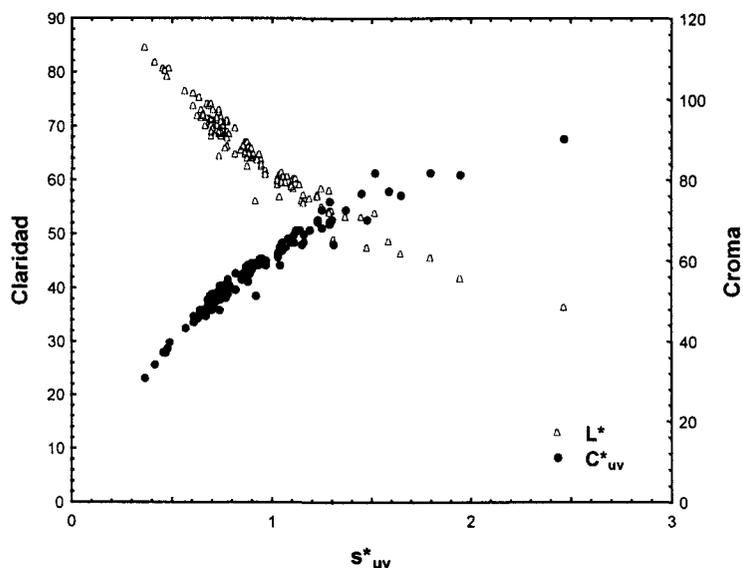


Figura 30. Representación de la saturación para 2 mm.

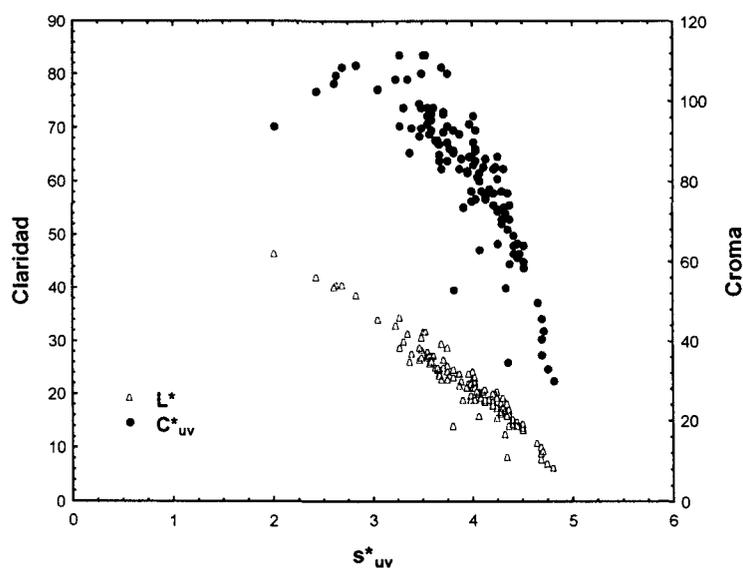


Figura 31. Representación de la saturación para 10 mm.

## 5.2. MEDIDA DEL ERROR COMETIDO AL VARIAR LA CUBETA

Como se ha visto en este trabajo, existe variación de los parámetros colorimétricos según la cubeta que se considere en los cálculos. La cubeta utilizada en la medida espectrofotométrica siempre es de 2 mm para evitar la saturación del espectrofotómetro pero en los cálculos se puede o no hacer la corrección a cubeta 10 mm que es la considerada estándar. Esta diferencia que se produce al variar la cubeta ya ha sido puesta de manifiesto por otros autores (Negueruela, 2003).

Esta variación es de distinta magnitud según el parámetro que se estudie y no es proporcional a la cubeta utilizada, es decir, los valores para cubeta de 2 mm no es cinco veces inferior o superior a los valores obtenidos para 10 mm. En la Figura 34 se presenta el diagrama de estos valores para poder apreciar la variabilidad.

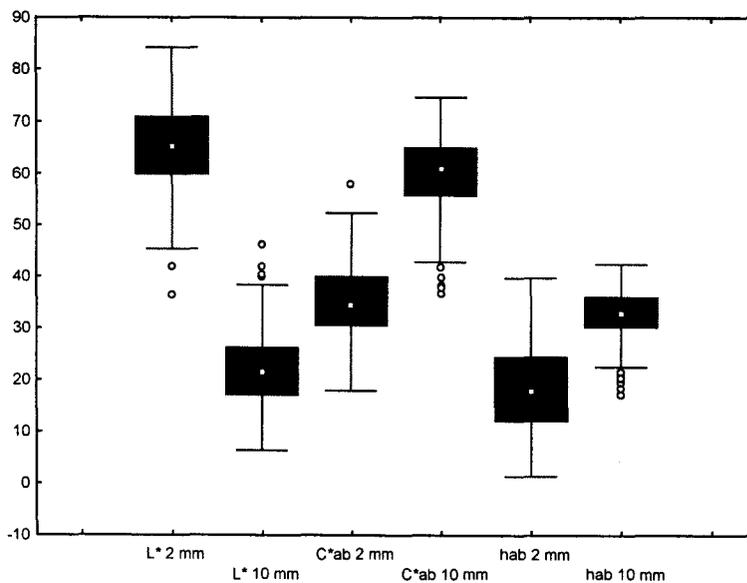


Figura 32. Diagrama de cajas de los valores de  $L^*$ ,  $C^*_{ab}$  y  $h_{ab}$ , para cubeta de 2 y 10 mm.

Como medida de la variación que se comete en los parámetros colorimétricos calculados a partir de dos cubetas diferentes se utilizan los parámetros de diferencia de color ( $\Delta E^*$  y  $\Delta E^*_{94}$ ) que aparecen en el Apéndice I de esta Memoria. Como se observa en las Figuras 35 y 36 las diferencias de color

( $\Delta E^*$  y  $\Delta E^*_{94}$ ) entre los dos grupos de parámetros presenta en todos los casos valores muy superiores al que es capaz de detectar el ojo humano ( $\Delta E^* \geq 3$  unidades). Estas diferencias son mayores cuando el cálculo se realiza con la  $\Delta E$  (fórmula a46 del Apéndice I) ya que oscila entre 35 y 65 unidades, mientras que para  $\Delta E^*_{94}$  (a57 del Apéndice I) la oscilación disminuye entre 30 y 50 agrupándose la mayoría en torno a 45 unidades de diferencia de color.

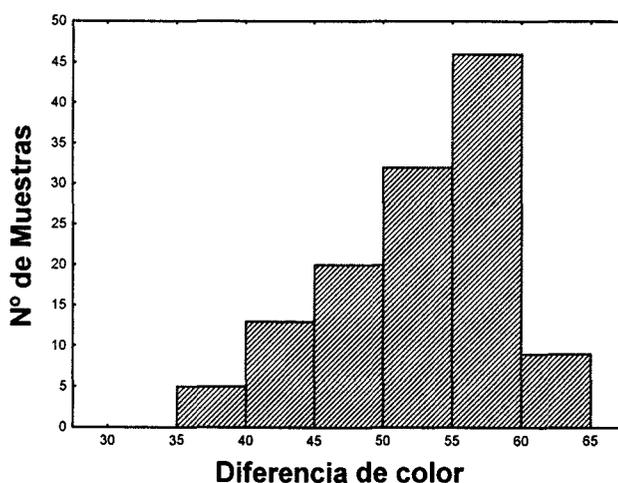


Figura 33. Diferencias de color ( $\Delta E^*$ ) entre las muestras para cubeta de 2 y 10 mm.

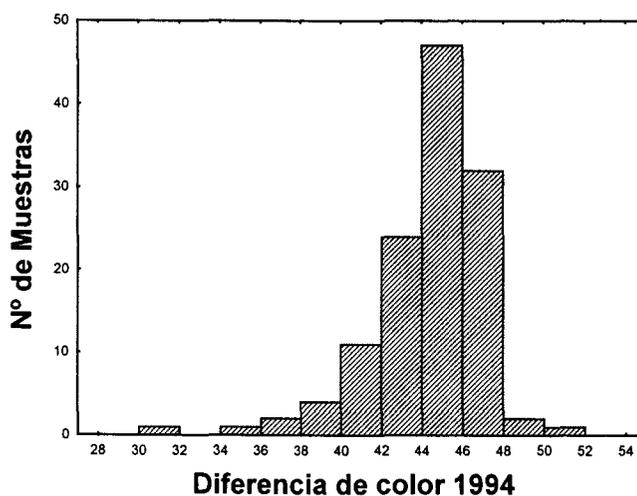


Figura 34. Diferencias de color ( $\Delta E^*_{94}$ ) entre las muestras para cubeta de 2 y 10 mm.

Los resultados ponen de manifiesto la importancia de seleccionar adecuadamente el espesor de la cubeta previamente al análisis espectrofotométrico. La propia definición matemática de las variables que definen los espacios de color propuestos por la CIE, no permite el establecimiento de una proporcionalidad con el espesor de cubeta a posteriori, es decir, una vez calculados los parámetros del color.

Parece, por tanto, más adecuada la elección del ancho de cubeta real como paso de luz para el cálculo, permitiendo así una mejor interpretación de los resultados en términos de similitud con la evaluación sensorial.

## 5.2. ESPECTRORRADIOMETRÍA

A partir de los espectros de reflexión obtenidos por espectrorradiometría, en un espectrorradiómetro CAS140 (Instrument System) acoplado con una sonda Top 100 y un zoom Tamron mod. SP 23a, se han calculado los parámetros colorimétricos, descritos en el Apéndice I, en el espacio CIE 1976-(L\*a\*b\*) o CIELAB. Los valores obtenidos para las variables se muestran en las Tablas 10 y 11 del Apéndice II.

Los espectros de reflexión se obtienen bajo dos condiciones distintas. Por un lado, se mide en una cubeta de vidrio de 2 mm de paso de luz que es la misma que se utilizó para la espectrofotometría y la que mejor reproduce las condiciones visuales cuando se inclina la copa para apreciar el color en la cata. Por otro lado, se realiza la medida enfocando transversalmente la copa de cata normalizada en posición vertical (Figura 37), enfocado en el centro, lo que supone un espesor de vino de 5 cm.

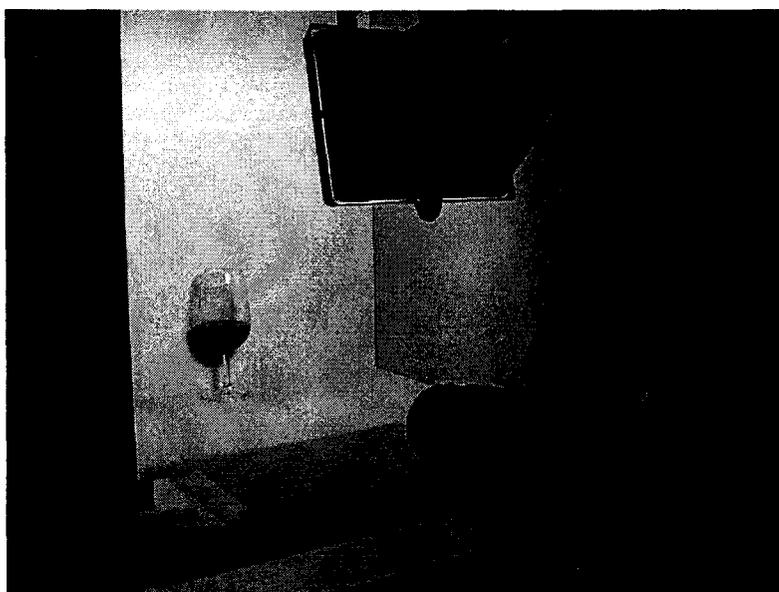


Figura 35. Medida transversal en copa de vidrio.

En la Figura 38 se representan las características cromáticas de los vinos tintos analizados sobre el diagrama (a\*b\*) cuando la medida se realiza en cubeta y en copa. Como puede verse, todas las muestras medidas en cubeta se encuentran

agrupadas en el cuadrante superior derecho, y concretamente en la zona de los rojos netos. Los valores de la coordenada  $a^*$  oscilan entre 11.3 y 50.4 unidades, sin embargo se da una baja dispersión respecto a la coordenada  $b^*$  (entre 10 y 25 unidades, principalmente). Si se comparan las medidas anteriores con las realizadas en copa de cata, se observa como se produce un desplazamiento en el diagrama ( $a^*, b^*$ ) hacia la izquierda en la coordenada  $a^*$  y una gran dispersión de los valores de la coordenada  $b^*$ , pero situándose las muestras en colores negruzcos, valores muy bajos de claridad ( $L^*$ ), por lo que en realidad los datos representados no se pueden comparar con fiabilidad.

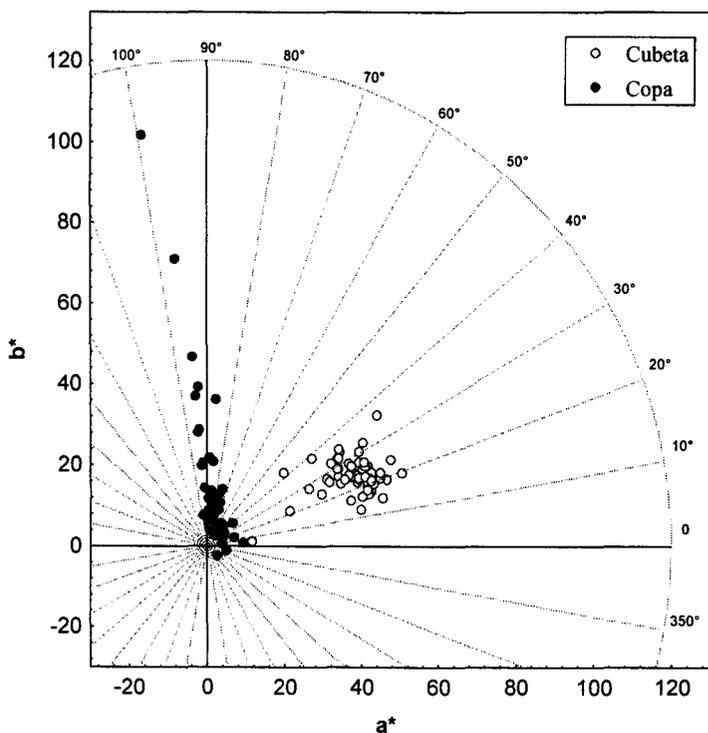


Figura 36. Representación de los vinos en el diagrama ( $a^*b^*$ ) para cubeta de 2 mm y copa de vidrio.

En el estudio del tono ( $h_{ab}$ ), en cubeta de 2 mm, se observa que los valores oscilan entre  $6.8^\circ$  y  $42.4^\circ$ . Hay que destacar que los vinos cuyo análisis en el laboratorio se realiza poco después del embotellado, son los que presentan los valores de tono que tienden más a la zona de los azulados, mientras que las muestras de la cosecha de 1999 y 2000 que se analizaron más de un año después

de ser recibidas en el laboratorio presentan valores superiores alrededor de  $40^\circ$ . Para las medidas realizadas en copa, el tono ( $h_{ab}$ ) presenta el mismo comportamiento que para cubeta de 2 mm pero desplazado hacia valores de tono mayores. Los valores oscilan entre  $6.5^\circ$  y  $104.60^\circ$ . Luego, el comportamiento del tono ( $h_{ab}$ ), como en el diagrama ( $a^*, b^*$ ), presenta diferencias importantes entre ambas condiciones de análisis.

En el análisis del croma ( $C^*_{ab}$ ), obtenido para cubeta de 2 mm, los valores oscilan entre 11.4 y 54.4 unidades CIELAB, con una distribución amplia dentro del intervalo. En el caso de la medida en copa, el croma se desplaza hacia valores mas bajos, oscilando entre 3.1 y 47.1 unidades; aunque existen 6 muestras que tienen un comportamiento diferente y alcanzan valores de croma altos, entre 72 y 296 unidades CIELAB.

En la Figura 39 se observa que la claridad ( $L^*$ ), como era de esperar es mucho más bajo cuando se refiere a copa puesto que el grosor de la muestra es mucho mayor y se ve por ello la muestra más oscura. En el caso de las medidas realizadas con cubeta los valores de  $L^*$  oscilan entre 34.8 y 75.6 unidades; mientras que en copa los valores obtenidos están por debajo de 40 unidades, lo que ya se considera muy oscuro.

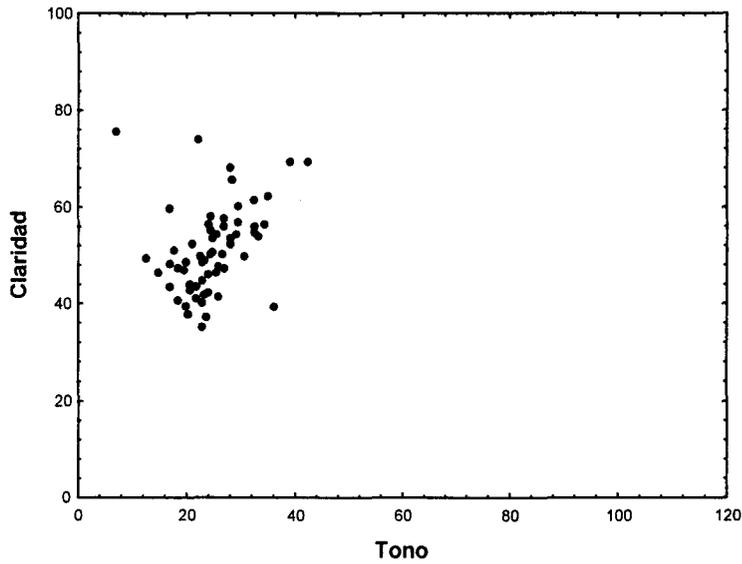


Figura 37. Representación de la claridad frente al tono para cubeta de 2 mm.

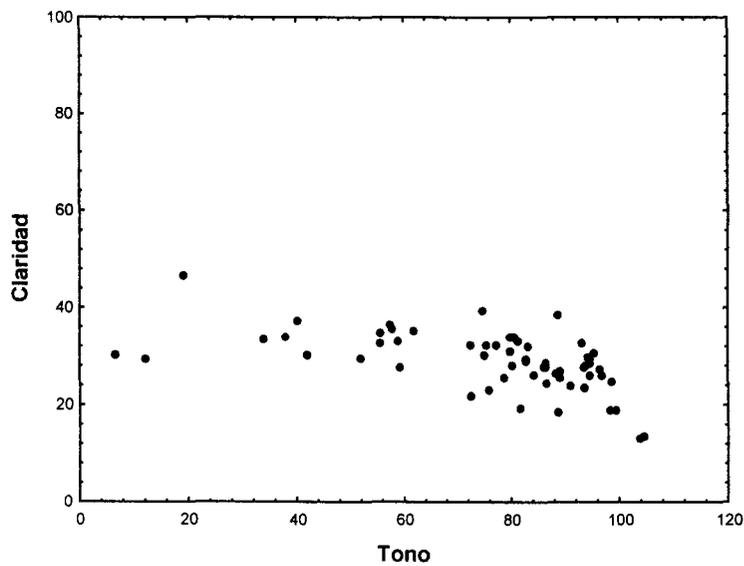


Figura 38. Representación de la claridad frente al tono para copa normalizada.

En general, se observa como para todos los parámetros se produce una variación importante al variar el soporte de medida que no es proporcional. Luego, al no ser proporcionales los datos obtenidos con ambos recipientes, no pueden ser comparados.

### 5.3. ANÁLISIS VISUAL

El estudio de los vinos tintos jóvenes incluye un examen visual, en copa de vidrio normalizada, en el que se valora el matiz o tono que posee, es decir, que color tiene, y la intensidad colorante del vino, o cantidad de ese determinado color. Los datos obtenidos se presentan para ambos parámetros en porcentajes (%) en la Tabla 5 del Apéndice II. De forma global, las muestras presentan tonos rojos vivos y con alta coloración.

Los resultados dados por los catadores se representan gráficamente expresado en tanto por ciento (Figura 22). Los catadores puntuaron teniendo en cuenta que la escala va desde los rojos más azulados (para el intervalo 0-10 %) hasta los rojos amarillentos (80-100%), siendo el valor de 50 % el que corresponde con el color rojo neto. Se observa, al estudiar el matiz o tono, que sólo 11 muestras han sido descritas por los catadores como vinos tintos dentro del grupo de los rojos azulados pero dentro del intervalo de 10-20 %, no siendo ninguno valorado en el rojo más azulado. Estas 11 muestras se corresponden, en su mayoría, con vinos tintos cuyo análisis en el laboratorio no se demoró más de seis meses tras ser recibidos de la bodega ni más de 14 meses desde su elaboración, con la excepción de la muestra 5 que se analizó 33 meses después de su elaboración en bodega pasando por bodega. Aunque hay que tener en cuenta que muestras que se demoraron en su análisis el mismo tiempo presentan valores de tono más altos, es decir, menos azulados, ya que es importante la carga antocianica de partida que poseen los vinos. Un gran grupo de muestras (85 vinos tintos) presentan valores entre 20 y 60 % de tono que se corresponden con rojos menos azulados y en torno a los rojos netos; dentro de este grupo hay muestras de todo tipo pero la mayoría fueron analizadas transcurridos entre 13 y 24 meses. Dentro de los vinos tintos que todavía están en el grupo de los rojos pero próximos a los amarillentos (60 y 80 %) se encuentran 27 vinos tintos que, salvo 6 de ellos que se procesaron tras 13-14 meses de su elaboración, se analizaron pasados más de 21 meses. Por último, dos muestras (muestras 59 y 83) han sido descritas por un color rojo con tonalidades amarillentas que se corresponden con

dos vinos tintos jóvenes pero que su análisis se realizó 24 y 33 meses después de que fuesen embotellados, por lo que su carga antociánica inicial no era muy alta y/o han perdido más su color que otros vinos.

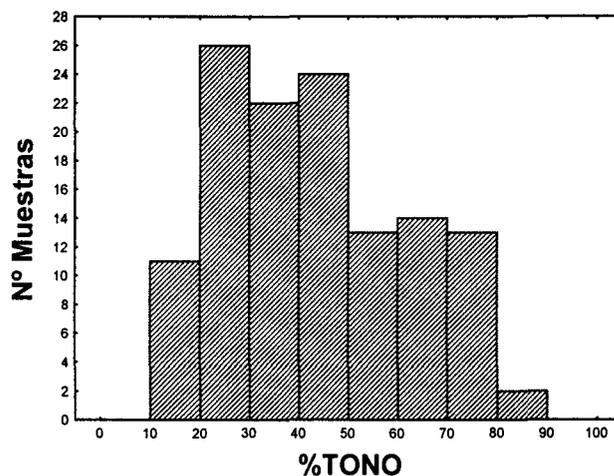


Figura 39. Agrupación de los vinos en función del valor de su tono expresado en porcentaje.

En cuanto a la valoración de la intensidad colorante que poseen los vinos tintos estudiados, los resultados dados por los catadores se representan en Figura 23. Los catadores puntuaron teniendo en cuenta que la escala va subiendo desde valores bajos de intensidad (10 %). Se presentan dos muestras con una IC baja, en torno a 25%, que son además las que presentaban anteriormente los valores de tono más pardos amarillentos (muestras 59 y 83). Otros 23 vinos fueron descritos por los catadores con intensidad media baja (entre 30 % y 50 %). Y el resto de los vinos tintos presentaron mayor cantidad de color (100 muestras), entre 50 y 100 % de IC. Dentro de estos, algunos de los vinos tintos (13 muestras) fueron clasificados por los catadores con la máxima puntuación (entre 90 y 100 %) que se corresponden con una alta carga colorante. Estos últimos son vinos jóvenes analizados antes de los catorce meses desde su elaboración, aunque se presenta dos excepciones (muestras 78 y 84) que aún habiendo transcurrido 24 meses presentan una intensidad colorante muy alta. Además, hay que destacar que la muestra 125 ha sido analizada inmediatamente después de ser embotellado el vino

en la bodega (2 meses), presenta un tono cercano a los rojos azulados y, en cambio, su intensidad colorante es más baja de lo que cabría esperar (57 %).

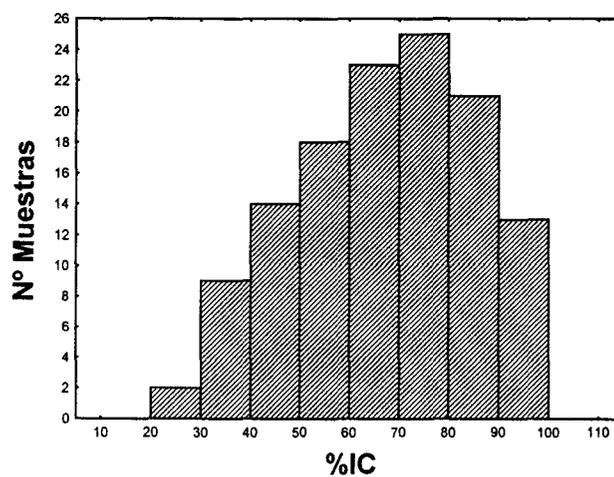


Figura 40. Agrupación de los vinos tintos en función del porcentaje de su intensidad colorante (% IC).

## **VI. RELACIONES COLOR-COMPOSICIÓN ANTOCIÁNICA**

Se han aplicado diferentes técnicas estadísticas uni y multivariantes con el fin de estudiar las relaciones entre el color y la composición antocianica de vinos tintos jóvenes españoles de variedad tempranillo:

- Métodos de clasificación: Análisis de Agrupaciones Jerarquizadas
- Métodos de correlación: Correlaciones simples entre los antocianos y los parámetros de color, y correlaciones múltiples por distintos métodos de Regresión lineal múltiple

## 6.1. ANÁLISIS DE AGRUPACIONES JERARQUIZADAS, POR VARIABLES Y POR CASOS

La clasificación multivariante de las muestras se ha abordado mediante la aplicación del *Análisis de Agrupaciones Jerarquizadas*, comúnmente denominado *Análisis "Cluster"*, o simplemente *Análisis de Grupos*, que está diseñado para un tipo de problemas muy específico (Manly, 1986). Dada una muestra con  $n$  casos, para los que se determinan  $p$  variables, se proyecta un esquema para agrupar los objetos en clases, de tal manera que los "similares" se encuentren agrupados en la misma clase. Esta clasificación permite encontrar grupos de muestras, en algunos casos inesperadas, y estudiar las relaciones entre estos grupos.

Inicialmente, cada variable es considerada como un grupo separado para, posteriormente, ir uniendo grupos en orden de similitud. Se produce, de esta manera, un "amalgamamiento" general, por pasos, hasta conseguir un sólo grupo que engloba a todas las variables en estudio. El resultado final es una estructura general en árbol (o dendograma), que muestra las agrupaciones realizadas en cada paso, representando, en el eje de abscisas, los objetos de acuerdo con las agrupaciones obtenidas, y en el eje de ordenadas, la distancia de establecimiento de *cluster*, en este caso la distancia euclídea relativa (expresada en porcentaje). No existe acuerdo sobre cuál de los algoritmos propuestos es el mejor y aunque, en

general, los resultados son similares, pueden obtenerse agrupaciones diferentes con el mismo conjunto de objetos, según el método que se aplique.

La medida de la distancia euclídea es la más utilizada en el caso de variables cuantitativas. Así entre dos individuos  $i, j$  de los que se conocen los valores de  $p$  variables  $x_p$ , la distancia  $d_{i,j}$  es:

$$d_{i,j} = \sqrt{\sum_{k=1}^p (x_{i,k} - x_{j,k})^2} \quad [10]$$

Es decir, una medida promediada de todas las  $p$  posibles distancias entre individuos, o lo que es igual, la distancia en el espacio  $p$ -dimensional considerado. Una vez obtenida la matriz completa de distancias, se establecen las agrupaciones en orden creciente incluyendo, de manera individual, cada objeto en el grupo más cercano.

El método de amalgamamiento *simple*, o de "vecinos más cercanos", produce la agrupación cuando se alcanza la menor distancia entre individuos de cada grupo. Si el amalgamamiento no se produce hasta alcanzar la máxima distancia entre los objetos de cada grupo el algoritmo se denomina *completo* o de "vecinos más alejados". Existen otros métodos intermedios tales como el amalgamamiento *promediado* de grupos, cuando éste se produce al alcanzarse la distancia media entre los objetos de ambos grupos.

El método de *Ward* se fundamenta en una estrategia distinta, pues se basa en un análisis de la varianza para evaluar las distancias entre grupos, intentando minimizar la suma de cuadrados de cualquiera de los dos hipotéticos *clusters* que pueden formarse en cada paso. Se le reconoce como uno de los más eficientes aunque se caracteriza por su tendencia a formar grupos de reducido tamaño.

El análisis "cluster" ha sido llevado a cabo en sus dos modalidades; según los objetos que se clasifiquen sean las variables o los casos. En el primero, las variables consideradas son los objetos que se agrupan en un espacio donde los casos actúan como dimensiones. En el segundo, más intuitivo, los objetos agrupables son los

casos (muestras), mientras que las variables medidas se corresponden con las dimensiones del espacio considerado.

### *Análisis “cluster” por variables*

En este análisis se va a estudiar el nivel de similitud entre los distintos parámetros colorimétricos definidos por los espacios uniformes CIELAB y CIELUV, considerando todas las muestras de vino tinto. En las Figuras 41-43 se muestran los dendogramas obtenidos al utilizar los tres métodos de amalgamamiento descritos.

Como puede verse, no existen diferencias cualitativas entre el método simple y el completo, diferenciándose exclusivamente en la distancia relativa de formación de cada *cluster*, mientras que con el método de *Ward* hay algunas variaciones. Se observa como el croma de CIELAB ( $C^*_{ab}$ ) y la coordenada  $a^*$  están a muy baja distancia de amalgamamiento, al igual que ocurre con el croma de CIELUV ( $C^*_{uv}$ ) y la coordenada  $u^*$ , ya que los vinos se reparten a lo largo del eje  $+a^*$  y  $+u^*$ , respectivamente. A esta misma distancia se encuentran emparejados los parámetros  $v^*$  y  $b^*$  por equivalencia en los dos espacios. Este grupo amalgama bien con la saturación  $s^*_{uv}$  de CIELUV y a su vez con el tono de CIELAB,  $h_{ab}$ . También hay que destacar cómo la claridad  $L^*$  se relaciona con el amalgamamiento entre  $C^*_{uv}$  y  $u^*$ ; y para el método de *Ward* este conjunto de parámetros se relaciona con el croma de CIELAB y  $a^*$ . Para el caso del tono en el espacio CIELUV ( $h_{uv}$ ) se observa que se relaciona con el resto de las coordenadas por igual y a distancias en torno a 100 % de amalgamamiento relativo, indicando un bajo grado de asociación. Con el método de *Ward*, se obtienen resultados muy similares.

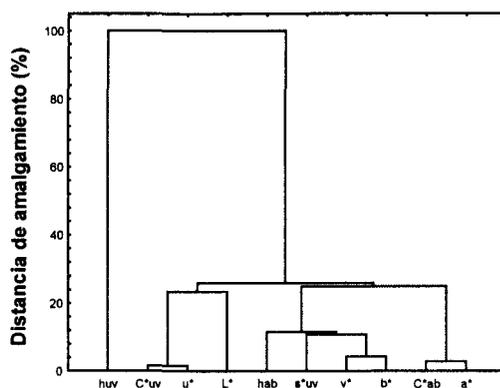


Figura 41. Dendrograma para las variables según el método de amalgamamiento simple.

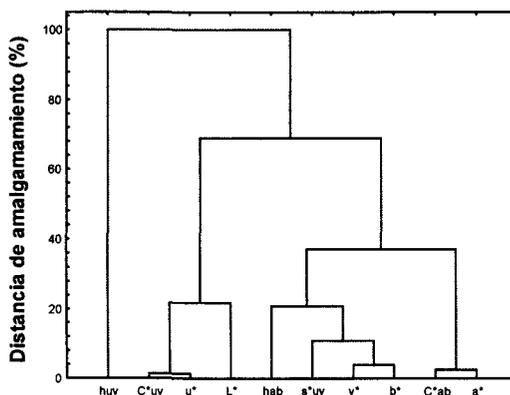


Figura 42. Dendrograma para las variables según el método de amalgamamiento completo.

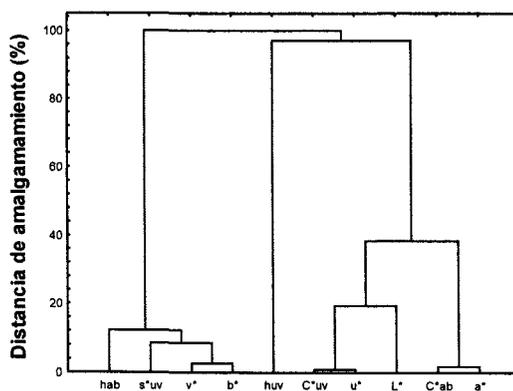


Figura 43. Dendrograma para las variables según el método de amalgamamiento de Ward.

### Análisis “cluster” por casos

Se ha realizado una selección de variables basadas en criterios cromáticos, tomando un número de variables suficientes que cumplan la condición de cierta ortogonalidad, es decir, que proporcionen información suficiente e independiente. Se ha ensayado la inclusión de las siguientes series de parámetros:

- $L^* a^* b^*$ : coordenadas rectangulares
- $L^* C^*_{ab} h_{ab}$ : coordenadas angulares
- $L^* C^*_{uv} h_{uv} s^*_{uv}$ : coordenadas angulares más la saturación de CIELUV

La información que proporcionan las series de parámetros elegidas es similar (ver Tablas 14 a 25 del Apéndice II), como era de esperar, ya que se trata de las coordenadas escalares o angulares en dos espacios de color uniformes, por lo que las agrupaciones obtenidas son semejantes en los tres casos (ver una de las series en Figura 44). Pero hay que destacar una desviación en las agrupaciones para la serie que introduce el parámetro saturación de CIELUV ( $s^*_{uv}$ ), encontrándose un grupo que se separa del resto (8 muestras) y que presenta valores diferenciadores: tono ( $h_{ab}$ ) inferior a  $7^\circ$ , coordenada  $b^*$  inferior a 4.5 unidades y los demás parámetros con altos valores pero no diferenciadores del resto (Figura 45). Existen, sin embargo, diferencias en cuanto a las distancias relativas de amalgamamiento en los tres métodos (simple, completo y de Ward), sin que ello signifique necesariamente una agrupación muy diferenciada de las muestras consideradas.

Se han encontrado varios “cluster” o grupos característicos, indicando que existe una cierta similitud entre vinos analizados al cabo de un año desde el embotellado y envío al laboratorio, poniendo de manifiesto una ligera evolución convergente del color en botella.

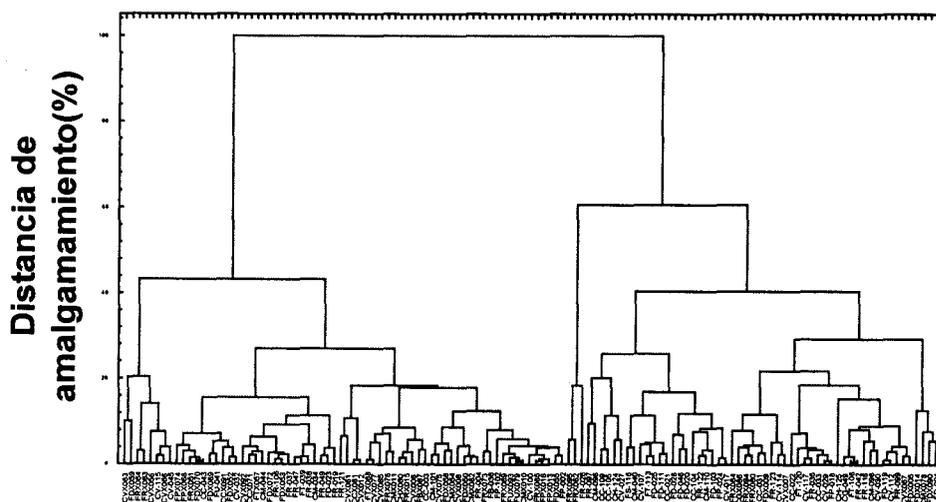


Figura 44. Dendrograma de muestras para  $L^* a^* b^*$  según el método de amalgamamiento completo.

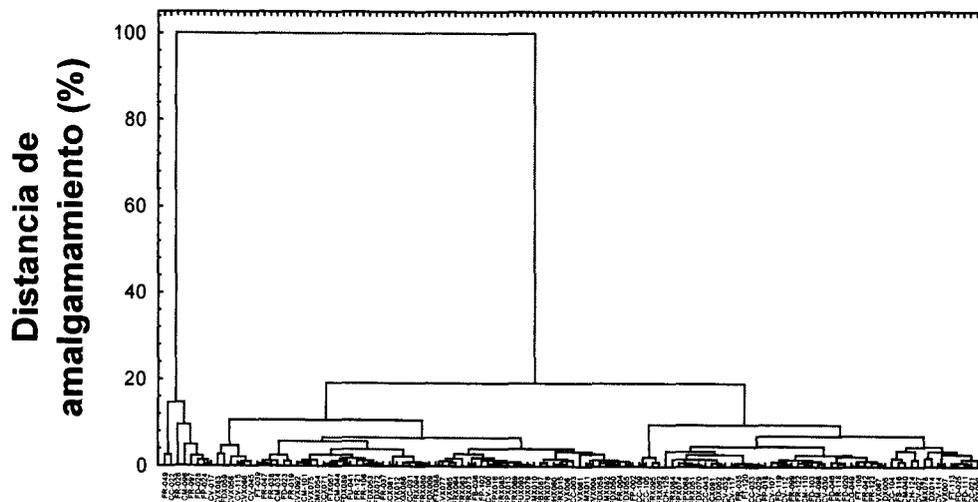


Figura 45. Dendrograma de muestras para  $L^* C^*_{uv} h_{uv} s^*_{uv}$  según el método de amalgamamiento completo.

También se ha realizado una selección de variables antociánicas basadas en criterios químicos, es decir, considerando varios de grupos de antocianos según su presencia en las muestras analizadas:

- Los 6 antocianos mayoritarios
- Los 12 antocianos que aparecen en un 80 % de la muestras
- La totalidad de los compuestos antocianos que aparecen en todas las muestras

En este caso, como ocurría en el apartado anterior, las agrupaciones encontradas son similares para los tres grupos de antocianos considerados y se vuelve a observar cierta similitud entre vinos analizados al cabo de un año desde el embotellado y envío al laboratorio, es decir, cierta convergencia del color del vino durante el almacenamiento en botella (Figura 46).

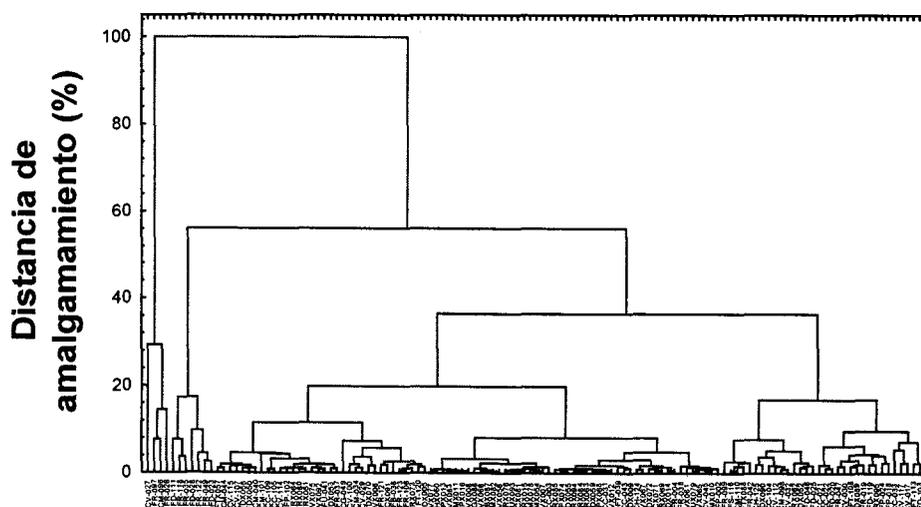


Figura 46. Dendrograma de muestras para 6 antocianos según el método de amalgamamiento completo.

Por último, se ha probado obtener las agrupaciones jerarquizadas considerando tanto las variables cromáticas (las tres series anteriores) como las químicas (los tres grupos de antocianos) de forma combinada. Los resultados obtenidos no modifican sensiblemente las observaciones realizadas cuando los parámetros se toman por separado. La Figura 47 muestra el dendograma de casos cuando se incluye el algoritmo  $L^* C^*_{ab} h^*_{ab}$  y los 6 antocianos mayoritarios. Se vuelve a encontrar un gran “cluster” que incluye los vinos analizados tras un periodo de 1 año de evolución en botella.

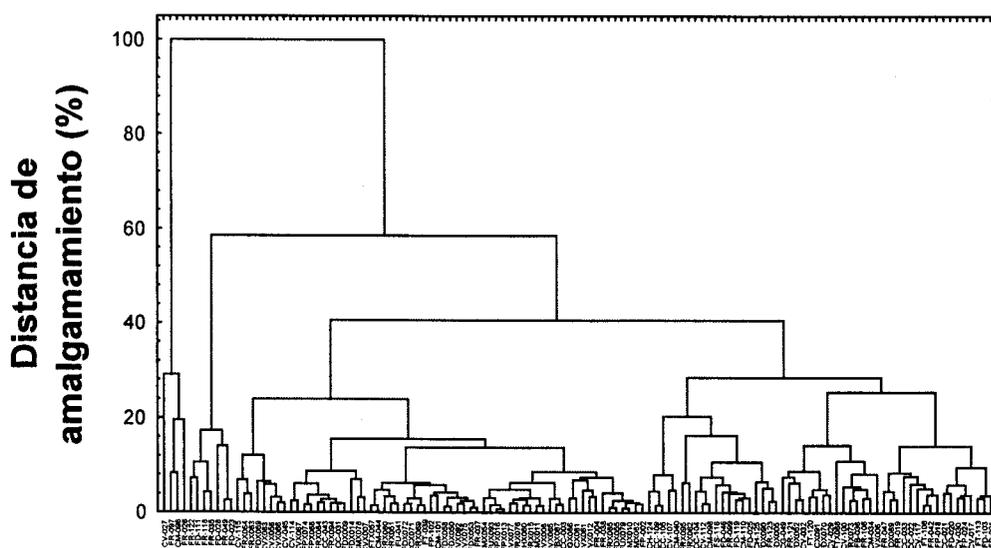


Figura 47. Dendograma de muestras para los 6 antocianos y la serie  $L^* C^*_{ab} h^*_{ab}$  según el método de amalgamamiento completo.

## 6.2. MÉTODOS DE REGRESIÓN

### 6.2.1. Correlaciones simples

En este apartado se presentan las matrices de correlación (coeficientes lineales de Pearson,  $r^*$ ) entre las concentraciones de los distintos antocianos, las características cromáticas, y entre ambos grupos de parámetros (Tablas 6 y 7).

Se observa que, de forma general, la mayor o menor relación entre los antocianos está estrechamente relacionada con la frecuencia de aparición de los compuestos en las muestras, es decir, como es lógico, aquellos que aparecen en pocos vinos presentan niveles de correlación con los demás compuestos muy bajos, aunque es variable para los distintos picos. Es el caso de los compuestos 10 a 12 y el acetato de peonidina, que están presentes en menos de 12 muestras. Otros, sin embargo, a pesar de estar poco representados, presentan correlaciones significativas: entre el cumarato de peonidina y el monoglucósido de peonidina ( $r^* = 0.60$ ). Hay otro grupo de compuestos también minoritarios, pico 6, Pt-(6 acetil)-3-glucósido, Mv-(6 cafeoil)-3-glucósido y Pn-(6 cumaril)-3-glucósido, cuyas correlaciones son variables presentando una correlación más alta con los monoglucósidos, los acetatos y los cumaratos. Así, el pico 6 presenta sus valores más altos para la Mv-3g y los acetatos y cumaratos de los tres antocianos (Mv, Pt y Pn). El acetato de petunidina, como ocurría en el grupo de la peonidina, presenta las correlaciones más altas para su monoglucósido ( $r^* = 0.44$ ) y el cumarato ( $r^* = 0.65$ ), y además, con los tres compuestos de la malvidina, monoglucósido ( $r^* = 0.46$ ), acetato ( $r^* = 0.55$ ) y cumarato ( $r^* = 0.61$ ). La Mv-(6 cafeoil)-3-glucósido se correlaciona mejor con los otros derivados de la malvidina y con los picos no identificados, 4, 6 y 14, aunque en ningún caso superan  $r^* = 0.5$ . El último de este grupo, Pn-(6 cumaril)-3-glucósido, se comporta igual pero hay que destacar su mayor correlación con los otros derivados de la peonidina y con los cumaratos de petunidina ( $r^* = 0.74$ ) y malvidina ( $r^* = 0.69$ ).

Otro grupo de compuestos con una presencia media en los vinos tintos analizados y un comportamiento variable se presentan a continuación. En primer

lugar eluye el pico 1, derivado de la catequina y la Mv-3g que, estando presente en 36 muestras, presenta en todos los casos correlaciones muy bajas con los demás compuestos. La presencia del monoglucósido de cianidina está muy relacionada con los demás monoglucósidos, acetatos y cumaratos, destacando la correlación con la Df-3g ( $r^* = 0.83$ ); y aunque su presencia es mayor en los vinos con más cantidad de antocianos, su correlación con los derivados minoritarios es pequeña, del orden del anterior compuesto ( $r^*$  en torno a 0.15 unidades). El pico 4, de naturaleza desconocida, presenta valores de correlación en torno a 0.5 excepto para los derivados 9-12 con los que tiene  $r^* \leq 0.1$ . Por último, un compuesto presente en aproximadamente la mitad de las muestras es la vitisina A, pero a pesar de su frecuencia no parece estar muy correlacionado con ningún otro antociano o derivado; esto puede ser porque se forma durante la fermentación a partir de malvidina y el ácido pirúvico producido por las levaduras, dependiendo, por tanto, de este último, la cantidad formada.

Los compuestos más ubícuos son los monoglucósidos y el cumarato de malvidina, con la excepción ya mencionada de la cianidina ya vista. Todos tienen un comportamiento similar, ya que presentan altas correlaciones entre ellos, con acetatos y cumaratos y con el pico 14 cuyo origen no se conoce; con los compuestos 4,6 y el cafeato de malvidina se relaciona poco y con los compuestos derivados 1 y 9-12 tiene correlaciones aún más bajas que con los anteriores. También hay que destacar que estos compuestos se encuentran muy ligados al contenido total de antocianinas, con coeficiente de correlación superior, en todos los casos, a 0.9 unidades. Destaca el coeficiente entre Mv-3g y antocianos totales debido, sin duda, a que este compuesto es el mayoritario ( $r^* = 1.0$ ).

La Tabla 6 recoge las relaciones lineales que existen entre las variables CIELAB y CIELUV más importantes, obtenidas para cubeta de 2 mm:

Tabla 6. Coeficientes de correlación lineal entre los parámetros colorimétricos CIE.

	L*	a*	b*	C* <sub>ab</sub>	h <sub>ab</sub>	u*	v*	C* <sub>uv</sub>	h <sub>uv</sub>	s* <sub>uv</sub>
L*	1.00	-0.95	0.31	-0.95	0.65	-0.94	0.58	-0.93	-0.21	-0.96
a*	-0.95	1.00	-0.44	0.99	-0.76	0.98	-0.70	0.96	0.31	0.94
b*	0.31	-0.44	1.00	-0.30	0.89	-0.25	0.95	-0.18	-0.41	-0.22
C* <sub>ab</sub>	-0.95	0.99	-0.30	1.00	-0.65	1.00	-0.57	0.99	0.29	0.96
h <sub>ab</sub>	0.65	-0.76	0.89	-0.65	1.00	-0.62	0.97	-0.56	-0.36	-0.55
u*	-0.94	0.98	-0.25	1.00	-0.62	1.00	-0.53	1.00	0.24	0.96
v*	0.48	-0.70	0.95	-0.57	0.97	-0.53	1.00	-0.47	-0.43	-0.50
C* <sub>uv</sub>	-0.93	0.96	-0.18	0.99	-0.56	1.00	-0.47	1.00	0.24	0.96
h <sub>uv</sub>	-0.21	0.31	-0.41	0.29	-0.36	0.24	-0.43	0.24	1.00	0.26
s* <sub>uv</sub>	-0.96	0.94	-0.22	0.96	-0.55	0.96	-0.50	0.96	0.26	1.00

Se observa que la relación entre todos los parámetros CIELAB es alta, ya que en todos los casos supera el valor de  $r^* = 0.76$ . Las correlaciones más bajas se dan entre la claridad (L\*) y los parámetros cromáticos CIELAB. Las variables más correlacionadas son a\*, b\*, C\*<sub>ab</sub> y h<sub>ab</sub> entre sí con valores superiores a  $r^* = 0.90$ . Este comportamiento es similar entre los parámetros del espacio CIELUV.

Entre ambos espacios se observa, como era de esperar, que la correlación es alta entre a\* y u\*; b\* y v\*; los cromas y, los tonos de ambos. Por otro lado, la saturación, sólo definida por el espacio CIELUV, correlaciona muy bien con la claridad (L\*), por lo que en esta zona del diagrama de acuerdo con el signo de la correlación, el aumento de la saturación percibida coincide con una disminución de la claridad.

La matriz de correlación entre los compuestos antociánicos y las variables cromáticas de los dos espacios de color (CIELAB y CIELUV) se presentan en la Tabla 7:

Tabla 7. Correlaciones entre los antocianos y los parámetros colorimétricos CIELAB.

Compuesto antociánico	L*	a*	b*	C* <sub>ab</sub>	h <sub>ab</sub>
Catequina-Mv-3-glucósido	-0.01	0.03	-0.10	0.00	-0.12
Delfinidina-3-glucósido	-0.55	-0.63	-0.57	0.59	-0.63
Cianidina-3-glucósido	-0.50	-0.54	-0.34	0.53	-0.42
Pico 4 (desconocido)	-0.29	-0.37	-0.48	0.32	-0.47
Petunidina-3-glucósido	-0.56	-0.64	-0.60	0.60	-0.65
Pico 6 (desconocido)	-0.20	-0.17	-0.25	0.14	-0.26
Peonidina-3-glucósido	-0.55	-0.63	-0.55	0.59	-0.61
Malvidina-3-glucósido	-0.54	-0.61	-0.65	0.56	-0.69
Mv-gls-py derivado (vit A)	-0.14	-0.11	-0.05	0.11	-0.09
Vitisina B	-0.16	-0.14	0.01	0.14	-0.07
Pico 11 (desconocido)	0.05	-0.07	-0.12	-0.08	-0.06
Pico 12 (desconocido)	-0.14	-0.09	-0.10	0.07	-0.13
Pt-(6 acetil)-3-glucósido	-0.23	-0.26	-0.26	0.24	-0.27
Pico 14 (desconocido)	-0.38	-0.42	-0.45	0.39	-0.45
Pn-(6 acetil)-3-glucósido	-0.01	0.00	-0.01	0.00	-0.02
Mv-(6 acetil)-3-glucósido	-0.35	-0.42	-0.55	0.37	-0.53
Mv-(6 cafeoil)-3-glucósido	-0.11	-0.12	-0.21	0.09	-0.20
Pt-(6 cumaril)-3-glucósido	-0.38	-0.41	-0.32	0.39	-0.35
Pn-(6 cumaril)-3-glucósido	-0.31	-0.34	-0.23	0.34	-0.26
Mv-(6 cumaril)-3-glucósido	-0.45	-0.51	-0.58	0.46	-0.58

Se observa que el mayor número de correlaciones lineales significativas se ha obtenido para los cuatro monoglucósidos mayoritarios (Df-3g, Pt-3g, Pn-3g y Mv-3g). Estas correlaciones encontradas son superiores a 0.5 para todos los parámetros de color. Los otros dos antocianos, que también están presentes en la mayoría de las muestras de vino tinto, acetato y cumarato de malvidina no se correlacionan bien con los parámetros de color. Se correlacionan significativamente con el tono y la coordenada  $b^*$ , y el cumarato, además, con la coordenada  $a^*$ .

Para los compuestos antociánicos minoritarios no se dan correlaciones significativas con las variables cromáticas, lo que puede resultar lógico, puesto que al estar en pequeñas cantidades, o no estar presentes, difícilmente pueden influir individualmente de forma significativa en el color de la muestra. Pero existe una excepción, la Cianidina-3g, que aun siendo minoritario, presenta coeficientes de Pearson superiores a 0.5 para la claridad, tono y coordenada  $b^*$ .

En cualquier caso, para todos los antocianos, la saturación  $s^*_{uv}$  ha sido el parámetro mejor correlacionado. Como era de esperar, y de acuerdo al signo de los coeficientes de correlación, el aumento en la cantidad de derivados antociánicos se correlaciona con la disminución en la claridad del vino ( $L^*$ ), valores de tono más azulados ( $h_{ab}$ ) y un aumento del croma ( $C^*_{ab}$ ).

### 6.2.2. Regresiones múltiples

La obtención de coeficientes de correlación simple relativamente bajos justifica un estudio en profundidad de las posibles relaciones multivariantes, en el que se incluye en los algoritmos más de una variable que aporte información relevante en las ecuaciones de predicción.

La regresión lineal múltiple (*RLM*) permite cuantificar la relación entre varias variables independientes o *predictoras* y una variable dependiente o *criterio*. De esta forma, es posible establecer cuales son los mejores *predictores* de

dicha variable dependiente según los coeficientes obtenidos, que representan, a su vez, la correlación existente entre ambos.

En general, los procedimientos de regresión múltiple estiman una ecuación lineal según la forma general:

$$y = b_0 + b_1 x_1 + b_2 x_2 + \dots + b_k x_k$$

donde  $k$  es el número de *predictores*;  $b_0$  una *constante* también llamada *intercept*;  $b_1, b_2, \dots, b_k$  son los *coeficientes de correlación parcial* (B) y representan las respectivas contribuciones de cada variable independiente en la variable dependiente.

También se puede expresar la ecuación lineal resultante mediante los coeficientes de regresión beta ( $\beta$ ) que se obtienen cuando las variables se estandarizan, es decir, se hace que los datos tengan media de 0 y a desviación estándar de 1. Así, la ventaja de los coeficientes *beta*, comparado con los coeficientes B, es que la magnitud de los  $\beta$  permite comparar la contribución relativa de cada variable independiente en la predicción de las variables dependientes. Por ello, se ha elegido este tipo de ecuación lineal para la predicción de los parámetros.

Se realizan tres tipos de *RLM*:

- Estándar, en la que se consideran al mismo tiempo todas las variables independientes elegidas
- *Forward* stepwise, en la que se evalúan las variables independientes en cada paso, añadiendo una a una las diferentes variables para mejorar las correlaciones
- Selección manual de las variables independientes que son mas significativas

Se han realizado diferentes regresiones lineales múltiples considerando como variables dependientes varias coordenadas de color de los dos espacios uniformes CIELAB y CIELUV ( $L^*, a^*, b^*, C^*_{ab}, h_{ab}$  y  $s^*_{uv}$ ) y como variables

independientes distintos grupos de antocianos. También se han realizado las RLM considerando como variables dependientes los principales antocianos presentes en el vino y como variables independientes las coordenadas de color. En ambos casos con la única intención de orientar sobre las posibilidades de obtener ecuaciones predictivas, tanto del color final como de la composición antociánica responsable de este.

Cuando se consideran como variables dependientes los parámetros de color se observa que los mejores resultados se obtienen, en todos los casos, cuando se utilizan como variables independientes los 20 antocianos que han aparecido en los vinos tintos jóvenes españoles de variedad Tempranillo estudiados, como se observa en la Tabla 8. Hay que considerar que no todos los vinos poseen todos los antocianos detectados por lo que habría que utilizar las ecuaciones obtenidas a partir de un número menor de compuestos (12 antocianos) y, en último caso, la ecuación con los seis antocianos principales, aunque el valor de  $R^2$  sea inferior. También se observa cómo para el cálculo de todos los parámetros de color los  $R^2$  son muy similares si se consideran los seis antocianos mayoritarios (delfinidina, petunidina, peonidina y malvidina monoglucósido y, el acetato y cumarato de la malvidina) o bien estos 6 más el pico 9 que está presente en más de un 55% de las muestras analizadas, luego se podría decir que este pico no contribuye de forma importante a la obtención de los parámetros de color puesto que la mejora está en torno a sólo 0.01 unidades de  $R^2$  (ver Tablas 14 a 25 del Apéndice II).

El coeficiente  $R^2$  que mejor resulta es para el tono ( $h_{ab}$ ), con un valor de 0.64, lo que significaría que los antocianos presentes en el vino contribuirían mayormente al tono de los vinos tintos jóvenes, y de forma significativa los siguientes antocianos: pico 1, pico 4, Mv-3g, Mv-ac y Pn-cm, de los cuales es la malvidina-3-monoglucósido la que aparece como significativa en todas las regresiones que se han realizado, es decir, es de todos los antocianos el que más contribuye de forma inversa al valor del tono de las muestras. Este hecho podría explicarse ya que el tono presenta, para las muestras estudiadas, valores en la zona

de los rojos netos y azulados y la Mv-3g presenta su máximo de absorción más desplazado hacia la zona de los azules que otros compuestos, siendo, además, su presencia mucho mayor que los otros (llegando hasta el 60% del total de los antocianos). Así, parece que cuanto mayor sea la cantidad de malvidina menor será el valor del tono. Los otros compuestos antociánicos no aparecen en todas las regresiones, por lo que su contribución a este parámetro sería menor. Estos datos se obtienen teniendo en cuenta el total de los antocianos, utilizando el método de regresión sencillo y son muy similares a los obtenidos si se aplica el método de regresión por pasos, como puede verse en la Tabla 23 del Apéndice II, variando el coeficiente  $R^2$  en torno a 0.01 unidades. Los valores de  $R^2$  que se obtienen tras hacer una selección previa de los compuestos difieren en torno a 0.06 unidades con los del método de regresión sencillo y tras aplicar el método por pasos, como ocurría antes, empeoran en torno a 0.01 unidades. Así, los coeficientes de regresión para este parámetro oscila entre 0.64 para todos los antocianos y 0.51 para los seis antocianos mayoritarios del vino, por lo que en todos los casos los valores de  $R^2$  serían aceptables.

El parámetro de color  $a^*$  presenta la mejor regresión también para los 20 antocianos ( $R^2 = 0.56$ ), siendo el monoglucósido de la petunidina ( $R^2 = 2.08$ ) el que más contribuye significativamente (de forma positiva) a determinar este parámetro en las distintas ecuaciones obtenidas; y en menor proporción el monoglucósido de peonidina ( $R^2 = 0.71$ ); pudiéndose explicar porque estos dos antocianos aportan un color rojo neto que corresponde con el eje positivo de  $a^*$ . En algunos casos, también aparecen la delfinidina, el acetato de malvidina, y los picos 9 y 14. En este caso los valores de  $R^2$  oscilan entre 0.46 y 0.56 unidades.

En cambio, en el cálculo de la coordenada de color  $b^*$  es la malvidina-3-monoglucósido la que está presente de forma significativa en todas las ecuaciones de regresión y de forma inversa, como era de esperar, ya que se ha dicho que la Mv-3g aporta mas componente azul luego cuanto mas haya mas bajo es el valor del parámetro  $b^*$  que va del amarillo (eje +) al azul (eje -). En cuanto a las distintas ecuaciones obtenidas para este parámetro la mejor es la obtenida

considerando los 20 antocianos ( $R^2= 0.59$ ) y la peor en la que se consideran los seis antocianos y se utiliza el método por pasos ( $R^2= 0.4748$ ).

En cuanto al croma ( $C^*_{ab}$ ), se observa que son los monoglucósidos de delfinidina, petunidina y peonidina los que más contribuyen de forma significativa a su predicción. La Df-3g contribuye de forma negativa y con coeficiente de correlación en torno a la unidad, es decir, que cuanto mas delfinidina haya en el vino menor va a ser el valor del croma de éste. La Pt-3g contribuye positivamente, con un coeficiente alto y en todas las ecuaciones obtenidas. La Pn-3g también contribuye positivamente pero en menor proporción que el anterior. Además de estos tres, hay otros antocianos que contribuyen significativamente, aunque en menor proporción, a la obtención del croma en algunas de las ecuaciones de regresión: Mv-3g, p9, Mv-ac y p14 pero los coeficientes de correlación son, en todos los casos, menores a 0.5 unidades. La mejor ecuación, como en todos los casos, se obtiene para todos los antocianos por el método simple ( $R^2= 0.51$ ) aunque los valores son peores que para otros parámetros.

La claridad ( $L^*$ ) es de todos los parámetros estudiados el que se calcula a partir de los antocianos con una peor significación, ya que  $R^2$  oscila entre 0.48 en el mejor de los casos y 0.36 en el peor de ellos. En la claridad contribuyen varios antocianos como puede verse en la Tabla 8, pero es la Df-3g, Pt-3g y Pn-3g las que contribuyen significativamente con un coeficiente de correlación superior a 0.5. Al contrario de lo que ocurría para el croma, la delfinidina contribuye positivamente y la petunidina y peonidina negativamente. Luego, teniendo en cuenta la composición antociánica parece que, en general, cuanto mayor sería el valor de croma obtenido menor sería la claridad de las muestras de vino.

Por último, se han obtenido las ecuaciones de regresión para el parámetro CIELUV de la saturación percibida ( $s^*_{uv}$ ) observándose que la ecuación es similar a la que se obtiene para la claridad, tanto en los antocianos que resultan significativos como en los coeficientes de correlación, pero con el signo contrario y un  $R^2$  que en todos los casos es superior al obtenido para la claridad.

Se pueden plantear ecuaciones de regresión lineal múltiple en las que se consideren como variables dependiente los siete antocianos mayoritarios y como variables independientes diferentes coordenadas de color de los dos espacios uniformes CIELAB y CIELUV ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $C^*_{ab}$ ,  $h_{ab}$  y  $s^*_{uv}$ ), con el fin de orientar sobre la posible composición antociánica mayoritaria de los vinos tintos jóvenes de la variedad Tempranillo, que conduce a dichas características de color. Los resultados obtenidos son idénticos si se hace o no la selección previa de variables independientes en función de su significación estadística, y difieren poco o nada tras aplicar el método por pasos, como se puede observar en las Tablas 12 y 13 del Apéndice II. En la Tabla 8 se presentan las ecuaciones obtenidas por el método sencillo.

Se observa que el coeficiente  $R^2$  con los parámetros de color es mayor cuanto mayor es la presencia del antociano en las muestras, así, el monoglucósido de malvidina (Mv-3g), que es el más abundante en todos los vinos analizados presenta un  $R^2 = 0.68$ . Para el pico 9, que es de los siete antocianos el que está en menor proporción, sólo se obtiene un  $R^2 = 0.03$ . Este último valor podría deberse a que este antociano aunque presente en un gran número de muestras, está en muy pequeña cantidad y su contribución al color de las muestras es muy bajo, por ello en su ecuación ninguna variable independiente presenta un coeficiente significativo (ver Tabla 8). Luego como se observa el coeficiente  $R^2$  es mayor cuanto mayor sea el número de muestras en la que aparece el compuesto y cuanto mayor sea la cantidad en la que aparece.

Los cuatro antocianos mayoritarios (Df-3g, Pt-3g, Pn-3g y Mv-3g) presentan valores de  $R^2$  mayores de 0.59 por lo que la regresión puede ser buena para la predicción de la cantidad de estos compuestos. Los derivados de la malvidina, acetato y cumarato, presentan valores algo peores ( $R^2 = 0.43$  y  $R^2 = 0.53$ , respectivamente) pero también se pueden considerar aceptables.

En cuanto a las variables independientes que aparecen en las ecuaciones, en los seis antocianos principales (se excluye pico 9 porque no es significativo)

son significativas:  $a^*$ ,  $b^*$ , y  $C^*_{ab}$ . Los primeros ( $a^*$  y  $b^*$ ) contribuyen de forma negativa a la ecuación; además se observa que, de las dos variables, el parámetro  $a^*$  contribuye entre 3 y 6 veces más que  $b^*$ . El croma, en cambio, contribuye de forma positiva y con coeficientes parciales del mismo orden que la coordenada  $a^*$ . Además en tres de los antocianos (Df-3g, Pt-3g y Pn-3g) también contribuye de forma significativa y positivamente la saturación del espacio CIELUV ( $s^*_{uv}$ ) aunque el coeficiente de correlación parcial es menor a la unidad en los tres casos, luego su contribución es menor. Lo que concuerda con lo ya observado anteriormente sobre la significación de estos tres compuestos en la predicción de  $S^*_{uv}$ .

Tabla 8. Las mejores ecuaciones para obtener los antocianos en función de los parámetros de color y viceversa.

	R <sup>2</sup>
$a^* = 0.118 p01 - 1.210 Df - 0.047 Cy + 0.185 p04 + 2.079 Pt + 0.149 p06 + 0.708 Pn - 0.274 Mv + 0.148 p09 + 0.129 p10 - 0.062 p11 + 0.006 p12 + 0.007 Pt-ac - 0.136 p14 - 0.045 Pn-ac - 0.380 Mv-ac - 0.082 Mc-cf + 0.102 Pt-cm - 0.248 Pn-cm - 0.251 Mv-cm$	0.5602
$b^* = -0.096 p01 - 0.136 Df + 0.218 Cy - 0.318 p04 + 0.631 Pt - 0.100 p06 - 0.105 Pn - 1.466 Mv - 0.387 p09 + 0.233 p10 + 0.003 p11 - 0.060 p12 - 0.086 Pt-ac - 0.093 p14 - 0.043 Pn-ac + 0.008 Mv-ac + 0.194 Mc-cf + 0.061 Pt-cm + 0.305 Pn-cm + 0.297 Mv-cm$	0.5925
$C_{ab}^* = 0.094 p01 - 1.327 Df - 0.020 Cy + 0.146 p04 + 2.419 Pt + 0.133 p06 + 0.722 Pn - 0.611 Mv + 0.147 p09 + 0.131 p10 - 0.052 p11 - 0.016 p12 - 0.008 Pt-ac - 0.170 p14 - 0.060 Pn-ac - 0.409 Mv-ac - 0.049 Mc-cf + 0.102 Pt-cm - 0.202 Pn-cm - 0.176 Mv-cm$	0.5090
$h^* = -0.149 p01 + 0.364 Df + 0.164 Cy - 0.298 p04 - 0.146 Pt - 0.163 p06 - 0.324 Pn - 1.257 Mv - 0.106 p09 - 0.060 p10 + 0.041 p11 - 0.065 p12 - 0.072 Pt-ac - 0.018 p14 - 0.041 Pn-ac + 0.185 Mv-ac + 0.178 Mc-cf + 0.011 Pt-cm + 0.351 Pn-cm + 0.403 Mv-cm$	0.6381
$L^* = -0.081 p01 + 1.475 Df - 0.114 Cy - 0.147 p04 - 2.118 Pt - 0.210 p06 - 0.575 Pn - 0.070 Mv - 0.188 p09 - 0.177 p10 + 0.025 p11 - 0.059 p12 - 0.007 Pt-ac + 0.048 p14 - 0.003 Pn-ac + 0.493 Mv-ac + 0.049 Mc-cf - 0.053 Pt-cm + 0.251 Pn-cm + 0.299 Mv-cm$	0.4791
$Df = -6.112 a^* - 1.211 b^* + 5.393 C_{ab}^* - 0.407 h_{ab} + 0.195 L^* + 0.812 s_{uv}^*$	0.6295
$Pt = -6.124 a^* - 1.379 b^* + 5.546 C_{ab}^* - 0.205 h_{ab} + 0.113 L^* + 0.681 s_{uv}^*$	0.6751
$Pn = -3.985 a^* - 1.146 b^* + 3.661 C_{ab}^* - 0.002 h_{ab} + 0.293 L^* + 0.823 s_{uv}^*$	0.5937
$Mv = -6.901 a^* - 1.338 b^* + 6.045 C_{ab}^* - 0.506 h_{ab} - 0.036 L^* + 0.579 s_{uv}^*$	0.6824
$P09 = -1.426 a^* - 0.022 b^* + 0.808 C_{ab}^* - 0.310 h_{ab} - 0.323 L^* + 0.200 s_{uv}^*$	0.0288
$Mv-ac = -4.681 a^* - 1.359 b^* + 4.447 C_{ab}^* + 0.124 h_{ab} - 0.145 L^* + 0.077 s_{uv}^*$	0.4275
$Mv-cm = -5.131 a^* - 1.521 b^* + 4.924 C_{ab}^* + 0.2555 h_{ab} - 0.339 L^* - 0.009 s_{uv}^*$	0.5297

## **VII. ERRORES INSTRUMENTALES**

En Colorimetría, como en otras ciencias, es tan importante conocer la medición como el error cometido. El estudio del error en la medición del color resulta complicado debido a la naturaleza múltiple de la visión del color. Existen errores en la medición de la magnitud física, debidos al operador, y existen errores en la evaluación sensorial del estímulo físico por el observador. Además, existen los errores instrumentales cuya naturaleza varía según el tipo de instrumento de medida (colorímetro, espectrofotómetro, etc.).

En las medidas instrumentales del color, objetivas, y más concretamente en las espectrofotométricas, solo contribuyen al error de los datos obtenido el instrumento de medida y el operador, puesto que el observador considerado es un patrón que viene preestablecido en el procedimiento.

En cuanto al operador, en general, se supone que un manejo cuidadoso puede minimizar los errores, sobre todo si se programa una calibración del aparato cada cierto tiempo. Es, por ello, fundamental considerar los errores instrumentales, ya que son los que más contribuyen a los errores en la medida.

Cada instrumento de medida del color tiene sus características y como consecuencia su fuente de errores. Por ello, para realizar las medidas espectrofotométricas es necesario conocer sus características.

La precisión de un espectrofotómetro se mide por la capacidad del instrumento para repetir una medida de transmitancia o reflectancia espectral de un patrón establecido. La exactitud es su capacidad para proporcionar datos lo más parecidos posible a los valores reales. Un instrumento puede ser preciso pero no ser exacto, y viceversa. Dependiendo del tipo de medida que se va a realizar, puede ser más importante una característica u otra, aunque la situación ideal es que se dieran ambas. Esto no siempre es posible debido a los errores instrumentales que se producen y que no se pueden eliminar totalmente.

Las fuentes de error dependen del tipo de instrumento y sus características de construcción (*Lozano, 1978; Berns y Peterson, 1988; Fairchild y Reniff, 1991; Burns y Berns, 1997; Berns y Reniff, 1997*). Cada fuente de error contribuye, aunque de distinta forma, a la incertidumbre de las medidas y, por lo tanto, a los valores triestímulo que se derivan de ellas. Según *Campos (1999)*, entre las fuentes de error más importantes están:

Señal de oscuridad: Los instrumentos pueden dar una respuesta en ausencia de luz por lo que es necesario medir la señal de cero y restarla a todas las medidas. En el caso de la medida del mosto o vino, utilizando un espectrofotómetro por transmisión, el blanco se hace con agua destilada.

Errores fotométricos: Hace referencia a los errores que provocan que el valor fotométrico medido difiera del real. Principalmente hay que considerar la linealidad del instrumento, es decir, la proporcionalidad entre la respuesta del detector y la cantidad de luz que incide sobre él, que puede no darse. Aunque también se producen errores debidos a las interreflexiones entre la muestra que medir y los componentes ópticos anejos, la luz que entra en el instrumento desde el exterior, y otros.

Longitud de onda: Pueden producirse desajustes en el instrumento, de tal forma que los datos asignados a una determinada longitud de onda no sean los reales. Este error es debido a desajustes en el movimiento del sistema dispersor o por incapacidad de fijar la longitud de onda requerida. Por ello es necesario que la escala de longitudes de onda del instrumento sea verificada periódicamente.

Ancho de banda espectral: Las funciones de mezcla que se usan para el cálculo de los valores triestímulo están definidas para un ancho de banda de 1 nm y la CIE recomienda usar este ancho de banda para reducir la incertidumbre de las medidas, dejando la opción de usar otros (5, 10 y 20 nm) para medidas menos precisas. Se sabe que instrumentos con anchos de banda distintos darán valores

triestímulo diferentes, pero además la forma de la función rendija, que determina el ancho de banda, también influye (*Stearns, 1981a*).

Intervalo de medida: Al igual que en el caso anterior, la CIE recomienda el uso de un intervalo de medida de 1 nm y, en cualquier caso, que no sea mayor que el ancho de banda espectral utilizado. Si el ancho de banda es muy grande (e.g. 20 nm), usar un intervalo de integración menor podría disminuir los errores en las coordenadas de color.

Estas condiciones deben ser fijadas con el fin de minimizar los errores posteriores en los valores triestímulo y coordenadas de color, pero nunca se pueden eliminar totalmente debido a la inevitable anchura finita de la rendija del monocromador y consecuentemente a la anchura del paso de banda espectral (*Judd y Wyszecki, 1975; Stearns, 1981b*).

Se ha planteado el estudio de los errores instrumentales, que se producen cuando se mide el color de los derivados de la uva tinta, con el fin de conocer la veracidad de las medidas que se realizan en el laboratorio. Y además se han buscado soluciones que corrijan los errores instrumentales producidos.

Al igual que el color percibido de un estímulo no es algo absoluto, sino que depende de las circunstancias que lo rodean, la medida del color depende de las condiciones en las que se realiza. Como el objetivo de cualquier medida es que sea única y repetible, se han definido condiciones estándar para algunos parámetros que influyen en el resultado de la medida: el observador y el iluminante. Pero existen numerosos factores, como la temperatura o el grado de humedad, y otros relacionados con la arquitectura del instrumento, tales como la geometría de iluminación-observación, que condicionan dicha medida.

Así mismo, en el cálculo de los valores triestímulo obtenidos a partir de las medidas espectrales, se producen errores asociados, tanto al ancho de banda espectral como al intervalo de medida (*Fairchild y Reniff, 1991; Burns y Berns, 1997*). Aunque se ha estudiado este error en el análisis del color de los patrones

cerámicos (*Berns y Peterson, 1988; Berns y Reniff, 1997*), no existen, hasta ahora, aplicaciones a los alimentos.

En este Capítulo se estudia, por una parte, el efecto que tiene el cálculo de las coordenadas de color utilizando un paso de integración mayor que el ancho de banda de medida y, por otra, la dependencia del ancho de banda espectral utilizado.

### **7.1. ERRORES POR EL INTERVALO DE INTEGRACION**

Lo más habitual a la hora de calcular las coordenadas cromáticas es que se utilice un paso de integración igual al ancho de banda espectral del instrumento, tal como recomiendan organizaciones internacionales como la CIE o la ASTM, pero no siempre es así.

Se ha analizado el efecto que tiene el cálculo de las coordenadas de color utilizando un paso de integración mayor que el ancho de banda de medida. Esta situación suele producirse en la industria con el fin de agilizar los cálculos.

#### ***Parte experimental***

Las muestras elegidas para este estudio se han obtenido de los espectros de transmisión de dos tipos de muestras que contienen antocianos en disolución: Por un lado, un total de cinco mostos tintos procedentes de la variedad Tempranillo procedentes de la última fase de la maduración, ya que los mostos iniciales son de uva muy verde que todavía no ha enverado. Por otro, una serie de 9 disoluciones, a distintos niveles de pH, del antociano petunidina (pigmento natural presente en mostos y vinos tintos).

En el caso de los mostos tintos, antes de realizar la medida se centrifuga en ultra centrifuga Sorvall TC-6 durante 5 minutos y luego se filtra. Para las disoluciones de antocianos la medida se hace sin necesidad de filtrar previamente.

Los espectros de absorción se registran directamente, con un espectrofotómetro de fotodiodos UV/vis Hewlett-Packard HP-8452, en la región del visible (entre 380 y 780 nm) a intervalos de 2 nm, en cubeta de vidrio de 10 mm de paso de luz, frente a agua destilada como blanco de referencia.

Tal como indica el método de ordenadas ponderadas, el espectro de transmisión visible de la muestra se pondera según los factores característicos de las condiciones visuales de referencia elegidas: en este caso Observador patrón CIE 1931, de 2° de ángulo de visión, y el Iluminante Estándar A, que se corresponde con la luz de una lámpara incandescente. Según las ecuaciones [a21] del Apéndice I se obtienen los Valores Triestímulo X,Y,Z que definen el color de la muestra y que son el punto de partida para calcular el resto de las variables cromáticas.

Se calculan las coordenadas que define el espacio considerado uniforme por la CIE: CIELAB (ecuaciones [a36] a [a46]). Estos datos aparecen en las Tablas 6 a 9 del Apéndice II.

### ***Procedimiento***

Se ha partido, como referencia, de las coordenadas cromáticas obtenidas a partir del espectrofotómetro con ancho de banda espectral de 2 nm y calculadas con un intervalo de integración también de 2 nm.

Los nuevos pasos de integración elegidos para calcular las coordenadas de color han sido: 10 y 20 nm que son los más utilizados en ambientes industriales.

Las coordenadas de color, obtenidas con estos nuevos pasos de integración, se han comparado con los datos iniciales y se expresa la diferencia de color ( $\Delta E^*_{ab}$ ), croma ( $\Delta C^*_{ab}$ ) y claridad ( $\Delta L^*$ ) entre ambas, por las fórmulas que aparecen en el Apéndice I. Si las diferencias obtenidas son mayores que 0.5 unidades CIELAB, no debería considerarse la utilización de ese paso de sumación para el cálculo de las coordenadas de color. Suele considerarse que 0.5 unidades CIELAB es la diferencia de color que se acepta como umbral distinguible desde el punto de vista visual.

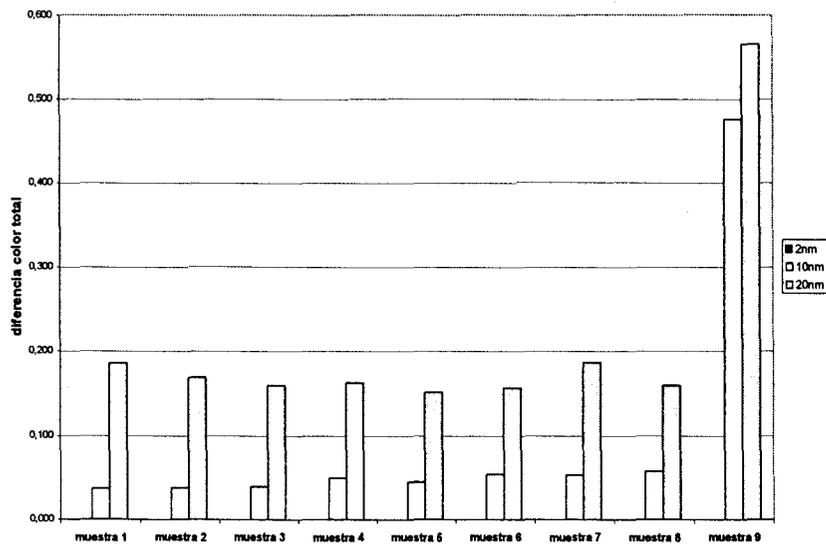


Figura 48. Errores debido al intervalo de integración utilizado en los mostos respecto a 2 nm.

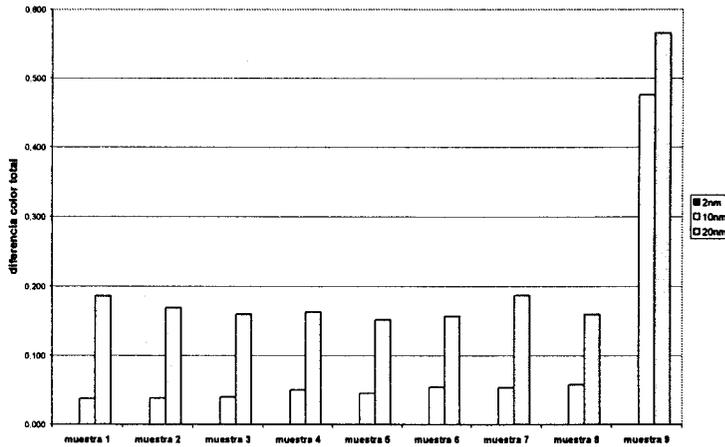


Figura 49. Errores debido al intervalo de integración utilizado en las disoluciones de antociano respecto a 2 nm.

En las Figuras 48 y 49 se presentan los errores que se cometen en el cálculo del color al utilizar un paso de integración de 10 ó 20 nm, cuando los datos iniciales se han medido con ancho de banda de 2 nm.

En las Figuras 50 y 51 se ofrece el valor medio del error para las diferencias  $\Delta E^*_{ab}$ ,  $\Delta C^*_{ab}$  y  $\Delta L^*$ .

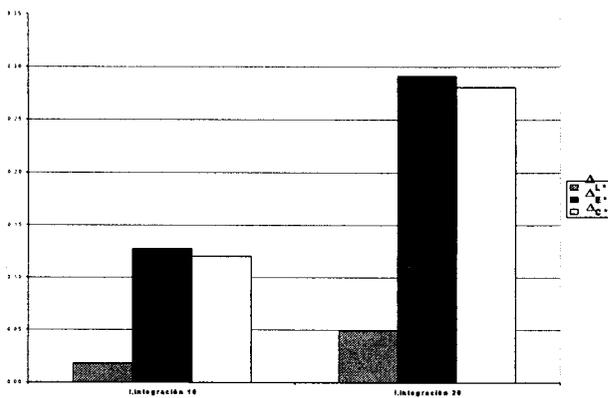


Figura 50. Variación de los parámetros colorimétricos en los mostos

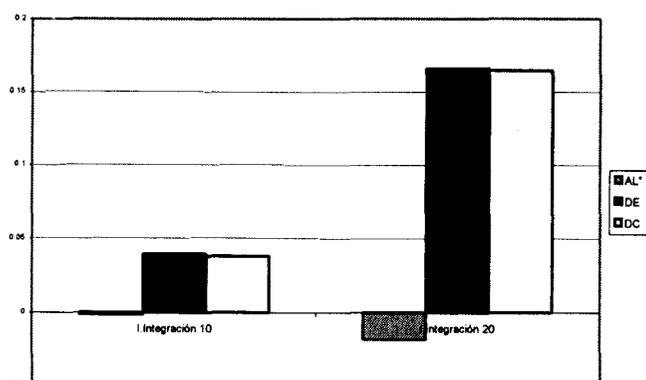


Figura 51. Variación de los parámetros colorimétricos en las disoluciones de antocianos

Se observa que el error cometido es mayor cuanto mayor es el paso de integración, utilizado en el cálculo de las coordenadas de color, con respecto al ancho de banda espectral del instrumento.

Observando los errores producidos en el cálculo de las coordenadas cromáticas, representadas por las diferencias de color total ( $\Delta E^*_{ab}$ ), de croma ( $\Delta C^*_{ab}$ ) y de claridad ( $\Delta L^*$ ), se comprueba que los errores en claridad son los más pequeños, con lo que los valores de  $\Delta E^*_{ab}$  y  $\Delta C^*_{ab}$  son del mismo orden, ya que se puede considerar, en estas muestras, que  $\Delta L^*$  con  $\Delta C^*_{ab}$  representan prácticamente el error global ( $\Delta E^*_{ab}$ ) pues no existen diferencias importantes de tono ( $h_{ab}$ ).

Teniendo en cuenta los valores aceptables de  $\Delta E^*_{ab}$ , se pone de manifiesto que tanto para los mostos tintos como para las disoluciones de antociano es posible, en general, utilizar un paso de integración mayor que el ancho de banda espectral de medida.

Estos resultados demuestran también que, para aquellos alimentos como es el caso de los mostos en los que no hay error apreciable en las coordenadas por aumentar el paso de integración, se podría usar el valor de transmitancia de

determinadas longitudes de onda para construir una escala de cambio de color. No sería necesario, por tanto, medir el espectro completo.

## 7.2. ERRORES POR EL ANCHO DE BANDA ESPECTRAL

En el cálculo de los valores triestímulo influye el ancho de banda espectral utilizado, siempre que este no sea infinitesimal. Este hecho ocurre en todos los aparatos de medida, ya que la anchura de banda debe ser suficiente para que la señal supere el mínimo perceptible por el detector.

No sólo influye el ancho de banda espectral en el cálculo de los valores triestímulo sino también la forma de la “función rendija” (*Stearns, 1981a*). Esta función rendija puede ser simétrica o asimétrica según la acción del monocromador sobre el flujo espectral que lo atraviesa. En la práctica suele existir cierta asimetría, pero en este estudio se considera que la función rendija es triangular y simétrica, sin que esta restricción reste valor a los resultados obtenidos. Esta elección representa la situación más común en la práctica industrial.

El error atribuible a la influencia del ancho de banda espectral puede variar desde décimas a una unidad CIELAB, cuando los valores triestímulo no están corregidos, y disminuir a centésimas o milésimas de unidad tras aplicar las estrategias de corrección.

Para eliminar el error producido al utilizar un ancho de banda que no es infinitesimal la American Society for Testing and Materials (ASTM) propone la utilización de unas determinadas funciones de peso triestímulo, ya calculadas siguiendo el método propuesto por *Venable (1989)*. También incluye un método de corrección para la dependencia del ancho de banda propuesto por *Stearns y Stearns (1988)*. Con estas funciones de peso, resultado de una estrategia combinada, se consigue que el error medio introducido para un intervalo de integración y ancho de banda de 10 nm sea sólo de 0.004 unidades CIELAB en las muestras analizadas por estos autores.

### ***Parte experimental***

Son las mismas consideradas en el apartado anterior, así como la descripción del procedimiento.

### ***Procedimiento***

Se parte de las medidas espectrales de las cinco muestras de mosto y de las nueve muestras de disoluciones de antociano, obtenidas con ancho de banda e intervalo de medida de 2 nm. Dado que no se dispone de datos de las mismas muestras medidos con anchos de banda superiores, se calcula la transmitancia efectiva para anchos de banda de 10 y 20 nm, según la ecuación:

$$T_{ab} = \frac{\int_{ab} T(\lambda)B(\lambda)d\lambda}{\int_{ab} B(\lambda)d\lambda} \quad [11]$$

siendo  $T(\lambda)$ , los valores de transmitancia;  $B(\lambda)$ , la función rendija, supuesta triangular en este trabajo; y  $ab$ , el intervalo espectral cubierto por el ancho de banda.

Al objeto de evitar el error de integración, se han interpolado los espectros medidos para tener valores de transmitancia con 0,1 nm de paso. La interpolación se ha llevado a cabo mediante funciones “spline”.

Una vez obtenida la transmitancia efectiva para los distintos anchos de banda (10 y 20 nm), se calculan las coordenadas de color para el iluminante A y el observador de 2°. Para los casos de ancho de banda e intervalo de medida de 10 y 20 nm es común, en la práctica industrial, calcular los valores usando los factores de peso recomendados en la norma E 308-95 (*ASTM, 1995*)  $W_x$ ,  $W_y$  y  $W_z$ , que contienen el producto del iluminante por el observador, para el intervalo correspondiente, y que han sido preparados para corregir el error en las medidas espectrales debido al ancho de banda.

Los valores triestímulo se calculan entonces como:

$$\begin{aligned}
 X &= \sum_{380}^{780} W_x(\lambda) \cdot R(\lambda) \cdot \Delta\lambda \\
 Y &= \sum_{380}^{780} W_y(\lambda) \cdot R(\lambda) \cdot \Delta\lambda \\
 Z &= \sum_{380}^{780} W_z(\lambda) \cdot R(\lambda) \cdot \Delta\lambda
 \end{aligned}
 \tag{12}$$

A partir de estos valores se obtienen los parámetros colorimétricos CIELAB y se calculan las diferencias ( $\Delta E^*_{ab}$ ) entre éstos, para los distintos anchos de banda utilizados.

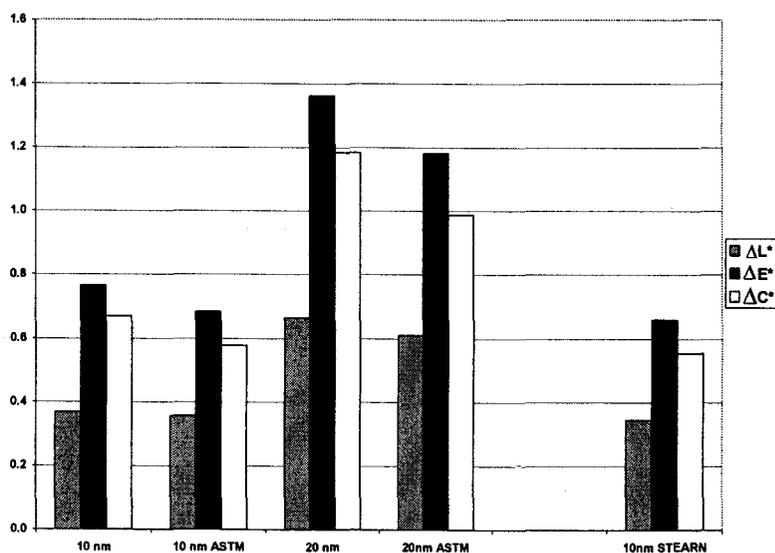


Figura 52. Errores debido al ancho de banda espectral utilizado en los mostos

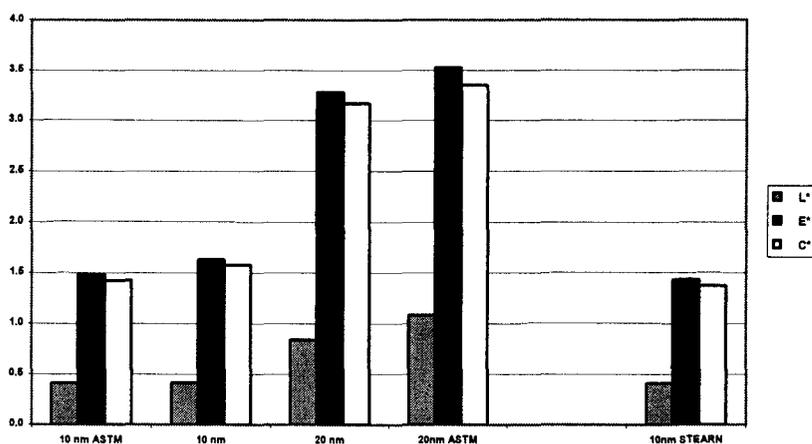


Figura 53. Errores debido al ancho de banda espectral utilizado en las disoluciones de antociano

En las Figuras 52 y 53 se representan las diferencias de color, croma y claridad encontradas entre las coordenadas de los datos de partida de 2 nm y las coordenadas obtenidas para anchos de banda de 10 y 20 nm, tanto al aplicar el método ASTM como al utilizar los valores tabulados del iluminante y el observador sin corrección del ancho de banda.

Tanto para las muestras de mostos como en el caso de las disoluciones de antocianos, se puede observar que en casi todos los casos estudiados la diferencia de color debida al ancho de banda es mayor que 0.5 unidades CIELAB, es decir, perceptible visualmente. Sólo en el caso del cálculo de la claridad sin método de corrección y para 10 nm de ancho de banda, esta diferencia es menor, si bien se sitúa alrededor de las 0.4 unidades. Además, para los dos anchos de banda, utilizar el método propuesto por la ASTM no produce mejora notable en las diferencias de color encontradas. Además se observa que este comportamiento es mas pronunciado en el caso de las disoluciones antociánicas.

Por otro lado, *Stearns y Stearns (1988)* proponen un método de corrección que consiste en estimar la radiancia del objeto para un ancho de

banda infinitesimal a partir de valores obtenidos con ancho de banda mayor, concretamente entre 10 y 20 nm. El método asume que la radiancia del objeto puede aproximarse por un polinomio de segundo grado en un intervalo espectral equivalente a cuatro veces el ancho de banda utilizado. Los autores asimilan la transmitancia de las muestras a la radiancia. El método de cálculo se lleva a cabo siguiendo el esquema de la tabla 2 y aplicando la fórmula [13]:

$$Z_{R_3} = (MR_1 - 12MR_2 + 120MR_3 - 12MR_4 + MR_5) / 98 \quad [13]$$

Tabla 9. Esquema según Stearns & Stearns.

$\lambda$	ZR	MR
-2BW	ZR <sub>1</sub>	MR <sub>1</sub>
-1BW	ZR <sub>2</sub>	MR <sub>2</sub>
0	ZR <sub>3</sub>	MR <sub>3</sub>
1BW	ZR <sub>4</sub>	MR <sub>4</sub>
2BW	ZR <sub>5</sub>	MR <sub>5</sub>

donde los valores ZR corresponden a un ancho de banda de cero nanómetros y los valores MR son los medidos con el ancho de banda de 10 nm. El subíndice 3 hace referencia a la longitud de onda de interés; el 2 y el 4, a la longitud de onda de interés menos y más el ancho de banda, respectivamente; y el 1 y el 5 a la longitud de onda de interés menos y más dos veces el ancho de banda el ancho de banda, respectivamente. En este método, igual que en los otros casos, se asume que el ancho de banda es triangular y simétrico.

Aplicando este método a las muestras estudiadas, se calculan las coordenadas de color, que deberían coincidir con las coordenadas verdaderas de 1 nm, pero esto no siempre es así, ya que se observan diferencias tanto en croma como en claridad (Figura 51 y 52). Se observa para los mostos que  $\Delta E^*_{ab} = 0.68256$  para 10 nm sin corrección frente a la  $\Delta E^*_{ab} = 0.65909$  obtenida por este método, luego se puede decir que la mejora es mínima. Para

las disoluciones de antocianos  $\Delta E^*_{ab} = 1.484$  para 10 nm sin corrección frente a la  $\Delta E^*_{ab} = 1.433$  obtenida por este método, luego también la mejora es mínima.

Se concluye que, para las muestras estudiadas, ni la medida con ancho de banda de 10 nm ni la aplicación del método propuesto por Stearns & Stearns a estas medidas son comparables con los datos obtenidos con un ancho de banda de 1 nm.

### 7.3. FUNCIONES DE PESO

Tras el estudio realizado se llega a la determinación de que hay que buscar funciones de peso que permitan obtener los valores triestímulo exactos a partir de los valores de transmitancia medidos experimentalmente con un ancho de banda de 10 nm. Como ya han mostrado otros autores (*Venables, 1988*), es necesario desarrollar funciones de peso específicas para cada tipo de muestra y cada función rendija.

El objetivo de las funciones que se buscan es el siguiente:

$$x(\Delta\lambda=1 \text{ nm}) = x(\Delta\lambda\neq 1 \text{ nm}) \cdot p(x)$$

$$y(\Delta\lambda=1 \text{ nm}) = y(\Delta\lambda\neq 1 \text{ nm}) \cdot p(y)$$

$$z(\Delta\lambda=1 \text{ nm}) = z(\Delta\lambda\neq 1 \text{ nm}) \cdot p(z)$$

La elección de las funciones de peso es arbitraria pudiendo, funciones muy distintas más o menos complejas, producir el mismo resultado. Se ha decidido elegir el sumatorio por ser el tipo de función más inmediata y sencilla con la que se obtienen resultados favorables.

#### *Parte experimental*

Para este estudio se seleccionan 22 muestras de mosto procedentes de uvas tintas Tempranillo próximas al estado de madurez, distintos de los anteriores y con la máxima variedad cromática posible.

Se parte de los espectros de transmitancia obtenidos, según el criterio ya expuesto anteriormente, para ancho de banda e intervalo de medida de 2 y 10 nm. El iluminante estándar considerado en este caso es el Iluminante D<sub>65</sub>.

A partir de estos datos, obtenidos con ancho de banda de 2 nm, es necesario calcular los valores que se obtendrían tras medir con un ancho de banda

de 1 nm, con los que se procede a calcular las funciones de peso. Para ello es necesario, en primer lugar, realizar una interpolación de los datos de partida, mediante funciones “spline”, para tener valores de transmitancia con 0.1 nm de paso, y en segundo lugar, con estos valores calcular los que se obtendrían en un espectrofotómetro con 1 nm de ancho de banda y de intervalo de medida.

### Procedimiento

Con los valores espectrales de 1 y 10 nm de todas las muestras se procede al cálculo de las funciones de peso. En primer lugar, se realizan dos pasos independientes:

- a) Se obtienen, matemáticamente, los datos cada 10 nm partiendo de las medidas espectrales obtenidas para un ancho de banda de 1 nm: cada diez valores se hace la media para cada longitud de onda tomando, junto con el valor central, los cinco valores anteriores y los cinco posteriores. De todas estas medias calculadas se obtiene el sumatorio:

$$\begin{aligned}
 X &= \sum_{380}^{780} \left( \sum_{\Delta\lambda}^{10} x(\lambda) \cdot T(\lambda) \cdot E(\lambda) \cdot \Delta\lambda \right) \\
 Y &= \sum_{380}^{780} \left( \sum_{\Delta\lambda}^{10} y(\lambda) \cdot T(\lambda) \cdot E(\lambda) \cdot \Delta\lambda \right) \\
 Z &= \sum_{380}^{780} \left( \sum_{\Delta\lambda}^{10} z(\lambda) \cdot T(\lambda) \cdot E(\lambda) \cdot \Delta\lambda \right)
 \end{aligned}
 \tag{14}$$

- b) Para ajustar con los datos obtenidos cada 10 nm, se aplica una función de peso desconocida en principio:

$$X = \sum_{380}^{780} p(x) \cdot x(\lambda) \cdot E(\lambda) \cdot T_{\Delta}(\lambda) \cdot \Delta\lambda$$

$$Y = \sum_{380}^{780} p(y) \cdot y(\lambda) \cdot E(\lambda) \cdot T_{\Delta}(\lambda) \cdot \Delta\lambda \quad [15]$$

$$Z = \sum_{380}^{780} p(z) \cdot x(\lambda) \cdot E(\lambda) \cdot T_{\Delta}(\lambda) \cdot \Delta\lambda$$

donde  $T_{\Delta}(\lambda)$  son los valores de la transmitancia cada 10 nm y  $p(\lambda)$  la función de peso que se busca.

A partir de aquí, se procede a la igualación de las ecuaciones [7] y [8] y, despejando, se obtiene la función de peso buscada para cada uno de los valores triestímulo:

$$p(x) = \frac{\sum_{\Delta\lambda} x(\lambda) \cdot T(\lambda) \cdot E(\lambda) \cdot \Delta\lambda}{10 \cdot x(\lambda) \cdot E(\lambda) \cdot T_{\Delta}(\lambda) \cdot \Delta\lambda_{10}}$$

$$p(y) = \frac{\sum_{\Delta\lambda} y(\lambda) \cdot T(\lambda) \cdot E(\lambda) \cdot \Delta\lambda}{10 \cdot y(\lambda) \cdot E(\lambda) \cdot T_{\Delta}(\lambda) \cdot \Delta\lambda_{10}} \quad [16]$$

$$p(z) = \frac{\sum_{\Delta\lambda} z(\lambda) \cdot T(\lambda) \cdot E(\lambda) \cdot \Delta\lambda}{10 \cdot z(\lambda) \cdot E(\lambda) \cdot T_{\Delta}(\lambda) \cdot \Delta\lambda_{10}}$$

donde  $\Delta\lambda$  tiene valor uno y  $\Delta\lambda_{10}$  es igual a diez.

Para estos mostos tintos se ha deducido, según las ecuaciones [14], [15] y [16], las correspondientes funciones de peso. La Figura 54 muestra las medias globales, que pueden considerarse válidas para cualquier muestra de mosto tinto. Se obtienen así los valores de las tres funciones de peso válidas para cualquier muestra de mosto tinto en general, teniendo en cuenta que, como muestra la

Figura 55, la variación entre los mostos ( $\sigma$ ) es mínima, no superando en ningún caso 0.098 unidades.

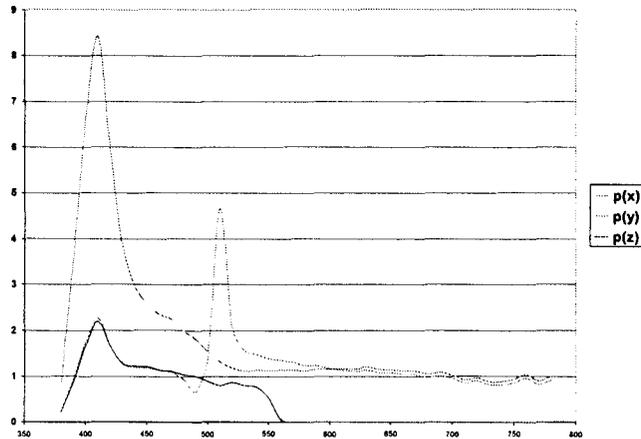


Figura 54. Funciones de peso globales.

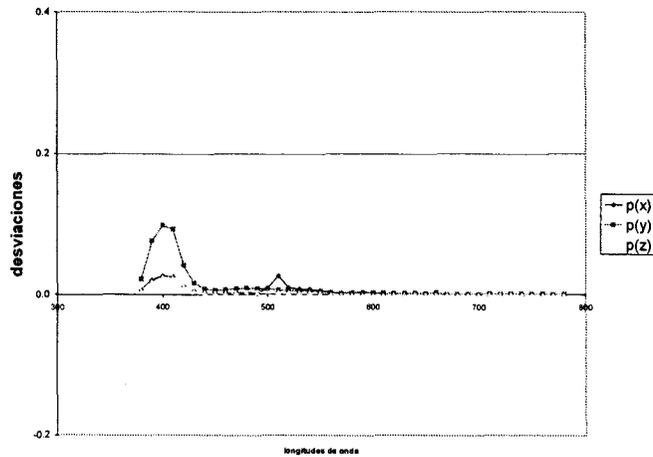


Figura 55. Desviación estándar ( $\sigma$ ) de las funciones de peso.

Al analizar los valores de las tres funciones de peso  $p(x)$ ,  $p(y)$ ,  $p(z)$ , se observa que cada una de ellas tiene una zona del espectro donde su acción correctora es mayor, esto se corresponde con los valores espectrales de cada uno de los valores triestímulo.

La función  $p(x)$  tiene valores máximos en el intervalo de 500 a 600 nm

(zona de los rojos-anaranjados) coincidiendo con el pico del valor triestímulo X, además posee, en la zona de los azules (390-450 nm), valores ligeramente altos. La función  $p(y)$ , en cambio, aporta mucha corrección en la zona de los azules (380-480 nm). La  $p(z)$  tiene su máximo en las longitudes de onda de los azules, coincidiendo con los valores de  $p(x)$ . Las tres funciones de peso tienen una zona a partir de 560 nm hasta 780 nm, donde el espectro es plano, y existe muy poca corrección.

Estos resultados pueden trasladarse al espacio CIELAB, teniendo en cuenta que la coordenada  $a^*$  representa el eje verde-rojo (desde  $-a^*$  hasta  $a^*$ ), y  $b^*$  el azul-amarillo (de  $-b^*$  hasta  $b^*$ ). Así, es la coordenada cromática  $a^*$  la que más se afecta por la corrección de la función  $p(x)$ . La coordenada  $b^*$ , a su vez, se modifica principalmente por la corrección que produce  $p(y)$  y, en menor grado por  $p(x)$  y  $p(z)$ .

## **VIII. CONCLUSIONES**

De los resultados obtenidos en el presente estudio sobre las características físicoquímicas y colorimétricas de los vinos tintos jóvenes de la variedad Tempranillo se pueden extraer las siguientes conclusiones:

1. Los parámetros enológicos más relacionados con el color presentan valores que se encuentran entre los considerados como usuales en vinos tintos jóvenes: acidez total (3.52 - 5.76 mg/L), pH (3.19 - 4.09), anhídrido sulfuroso libre (9.60 – 51.20 mg/L) y fenoles totales (1204 – 3103 mg/L)

2. El método cromatográfico puesto a punto para la determinación de los compuestos antociánicos ha permitido separar y analizar 20 antocianos diferentes, siendo el más abundante el monoglucósido de malvidina con valores que oscilan entre 2.17 y 150.45 mg/L.

3. Los monoglucósidos de delfinidina, peonidina y petunidina se encuentran presentes en más del 90 % de los vinos analizados mientras que el monoglucósido de cianidina sólo está presente en menos de un 25 % de ellos. Otros derivados mayoritarios como el acetato y el cumarato de malvidina también se encuentran en un alto porcentaje de muestras (más del 68 %). El resto de derivados antociánicos aparecen en un porcentaje de las muestras inferior al 30 %.

4. El estudio espectrofotométrico del color transmitido muestra que los vinos analizados poco después del embotellado, son los que presentan los valores de tono que tienden más a la zona de los azulados (por debajo de 25°), valores de croma más altos (superiores a 28 unidades CIELAB) y son más oscuros

(claridad superior a 60 unidades). Tras un año de almacenamiento en botella se observan aumentos del ángulo de tono hacia los rojos anaranjados, más claros y valores de croma mas bajos

5. En el estudio espectrorradiométrico del color reflejado tanto en cubeta como en copa de cata, los vinos analizados tras el embotellado presentan valores de tono que tienden más a la zona de los azulados, valores altos de croma y bajos de claridad. En general, se observa un desplazamiento de las medidas de la luz reflejada en copa con respecto a la cubeta, hacia valores más bajos de croma y claridad (por debajo de 47 unidades CIELAB y 40 unidades respectivamente).

6. En el análisis visual llevado a cabo por un panel de catadores la mayoría de las muestras evaluadas al poco tiempo de su embotellado presentan tonos rojos-azulados; las que estuvieron un año almacenadas en botella, en general, presentan tonos en torno a los rojos netos, y prácticamente todas las que se analizaron pasados más de veinte meses presentan tonos rojos anaranjados.

7. El análisis de agrupaciones jerarquizadas basado en las variables cromáticas y el perfil antociánico ha puesto de manifiesto cierta convergencia del color con la evolución del vino en botella, encontrándose agrupaciones características o “cluster” con distancias de amalgamamiento inferiores al 20 %, indicando que existe una cierta similitud cromática y antociánica entre vinos analizados al cabo de un año desde el embotellado.

8. Mediante modelos de regresión múltiple, se han propuesto ecuaciones predictivas del color en función de los compuestos antociánicos. A partir de los parámetros CIELAB se obtienen ecuaciones múltiples para los compuestos coloreados mayoritarios, tales como los cuatro monoglucósidos (Df, Pn, Pt y Mv) y algunos derivados de la malvidina, lo que podría servir de base para la obtención de índices de composición antociánica.

9. Las diferencias observadas en el cálculo de los parámetros del color cuando se corrige el ancho de cubeta a 10 mm respecto a la medida directa de 2 mm, son de distinta magnitud según el parámetro considerado y no son

proporcionales a la cubeta utilizada. Esto confirma la necesidad en colorimetría de indicar claramente el paso de luz considerado.

10. Mediante un estudio de los errores de medida, se concluye que en el cálculo de las coordenadas de color, es posible utilizar un paso de integración mayor al ancho de banda espectral sin cometer errores apreciables por el ojo humano. Al variar el ancho de banda espectral de medida, se cometen errores en el cálculo de las coordenadas de color con respecto a las obtenidas con un ancho de banda de 1 nm, aunque éstos sólo son apreciables para anchos de banda por encima de 5 nm.

11. Para eliminar el efecto del ancho de banda se han propuesto funciones de peso que proporcionan valores de las coordenadas de color para intervalos de 10 nm, con errores inferiores al límite de detección, respecto a las originales, obtenidas a partir de los datos espectrales de 1 nm.

## **IX. APÉNDICE**

## COLORIMETRÍA TRIESTÍMULO

La Colorimetría es la rama de la ciencia que estudia la especificación numérica del color de un estímulo visual definido físicamente de manera que:

- Estímulos con la misma especificación y bajo las mismas condiciones de observación aparecen iguales para un observador con visión normal de los colores; es decir, que existe una perfecta igualación ("color matching").
- Estímulos que aparecen iguales poseen la misma especificación.
- Los números que comprende la especificación son funciones continuas de los parámetros físicos que definen la distribución de energía radiante espectral del estímulo.

### GENERALIZACIÓN TRICROMÁTICA

Las leyes experimentales de la igualación del color se resumen en un principio ya enunciado por *Newton (1672)* y reafirmado por (*Young, 1802a; 1802b*) conocido como "Generalización Tricromática". Ésta establece que, bajo un amplio rango de condiciones de observación, muchos estímulos de color pueden ser igualados por mezclas aditivas de tres estímulos primarios, cuyas energías radiantes se han ajustado y fijado previamente.

En Colorimetría, el concepto *mezcla aditiva*, se refiere a un estímulo de color para el cual la energía radiante en cualquier intervalo de longitud de onda y en cualquier zona del espectro es igual a la suma de las energías, en el mismo intervalo, de los componentes de la mezcla. Matemáticamente la igualación del color, en la Generalización Tricromática, obedece ciertas leyes de linealidad conocidas como las "leyes de las mezclas aditivas del color" de *Grassmann (1853)*.

La primera ley es la base de la colorimetría tricromática y se puede enunciar: la potencia radiante de un estímulo **Q** es equivalente a la suma de las potencias radiantes respectivas de los tres estímulos primarios (**R**, **G** y **B**). Existe una y sólo una combinación de tres primarios que iguala perceptualmente cualquier color real:

$$q Q \equiv r R + g G + b B \quad [A1]$$

La segunda ley, o ley de la proporcionalidad, establece que si la intensidad del estímulo que produce una sensación de color dada se multiplica por un factor cualquiera, el valor de la sensación no cambia:

$$n q Q \equiv n r R + n g G + n b B \quad [A2]$$

La tercera ley sostiene que la suma algebraica de dos estímulos cualesquiera es equivalente a la suma algebraica de las cantidades de los estímulos de referencia que igualan los estímulos en cuestión:

$$\begin{aligned} q_1 Q_1 &\equiv r_1 R + g_1 G + b_1 B \\ q_2 Q_2 &\equiv r_2 R + g_2 G + b_2 B \end{aligned} \quad [A3]$$

La suma de ambos será:

$$q_1 Q_1 + q_2 Q_2 \equiv (r_1 + r_2) R + (g_1 + g_2) G + (b_1 + b_2) B \quad [A4]$$

Además, de manera general, se cumplen las leyes de simetría y transitividad. Si un estímulo de color **A** iguala un estímulo de color **B**, entonces el estímulo **B** iguala el estímulo **A**. Si **A** iguala **B** y **B** iguala **C**, entonces **A** iguala **C**.

En la generalización tricromática, además, hay que tener en cuenta tres importantes consideraciones:

- la dependencia, en la igualación, de las condiciones de observación bajo las que se comparan dos estímulos,
- los posibles efectos de diferentes exposiciones de los ojos a la luz
- las diferencias que en la igualación pueden detectar diferentes observadores.

Dentro de las condiciones de observación, es importante tener en cuenta que el tamaño angular de los campos de igualación puede variar ampliamente, y por ello es un factor que ha sido considerado en las Recomendaciones de la CIE, tal como se verá más adelante.

El efecto de la pre-exposición a la luz se conoce como “persistencia de la igualación del color”. Aunque esta propiedad supone la no alterabilidad de la igualación del color aunque exista una exposición previa a la luz, evidentemente esto es cierto sólo si se trata de intensidades luminosas bajas o medias. Pero si la pre-exposición es a luces de alta intensidad, el efecto sobre la igualación ha de ser necesariamente apreciable.

No todos los observadores necesitan tres estímulos primarios independientes para conseguir las igualaciones aditivas de color con un estímulo dado. Para una pequeña, pero importante proporción (aproximadamente 2.6% de los hombres y menos del 0.05% de las mujeres), es suficiente con dos estímulos primarios; se trata de observadores con visión defectuosa del color denominados dicrómatas. Para los monocrómatas (en mucha menor proporción, 0.003%) en realidad no existe discriminación del color, y su igualación es, de hecho, una igualación del brillo, puesto que se realiza con un solo estímulo primario. También entre la igualación tricromática se pueden dar defectos en la visión; así, un 5.5% de los hombres y un 0.4% de las mujeres se pueden considerar tricrómatas anómalos, pues experimentan desviaciones de la igualación cromática general como menor sensibilidad a las diferencias de color y otras deficiencias en la respuesta visual.

Excluyendo todos los observadores con defectos en la visión cromática (monocrómatas, dicrómatas y tricrómatas anómalos) queda aproximadamente un 95% de observadores cuya visión del color puede considerarse normal y, en los que son aceptables las aproximaciones colorimétricas para un hipotético *observador normal medio*. Sobre esta base fueron establecidos, por la "Commission Internationale de l'Éclairage", en 1931 el **Observador Colorimétrico Patrón CIE 1931**, y en 1964 el **Observador Colorimétrico Patrón Suplementario CIE 1964**, más apropiado para campos visuales de igualación más amplios.

#### *Espacio triestímulo*

Las leyes que rigen la generalización tricromática se pueden expresar de forma geométrica, considerando un espacio vectorial de tres dimensiones denominado **Espacio triestímulo**, en el que cada estímulo de color (**Q**) viene representado por un vector, expresión de las cantidades proporcionales de cada uno de los estímulos primarios rojo (**R**), verde (**G**) y azul (**B**).

En la especificación completa de un estímulo de color es necesario conocer, además de la distribución espectral absoluta de energía radiante emitida por la superficie externa, otros factores que caracterizan la situación del estímulo, tales como el tamaño angular de dicha superficie. Sin embargo, en el desarrollo de las expresiones para la igualación de color estos factores suelen considerarse fijos, con lo cual, el estímulo solamente viene caracterizado por su **distribución espectral de energía**,  $\{P_\lambda d\lambda\}$ . Así, se definen los estímulos primarios de valor unitario:

- $\{\rho P_\lambda d\lambda\}_R$ , que define el estímulo primario ROJO
- $\{\gamma P_\lambda d\lambda\}_G$ , que define el estímulo primario VERDE
- $\{\beta P_\lambda d\lambda\}_B$ , que define el estímulo primario AZUL
- $\{P_\lambda d\lambda\}_Q$  para un estímulo de color cualquiera, **Q**

$\rho, \gamma, \beta$  son factores constantes positivos que tienen utilidad sólo en determinadas aplicaciones. En general, se suelen escoger como cantidades unitarias de estímulos primarios aquellas que al mezclar aditivamente producen una igualación de color completa con un estímulo acromático especificado, es decir, caracterizado por un espectro de energía constante.

De acuerdo con esto, un estímulo dado  $Q$  podría expresarse como la mezcla aditiva de determinadas cantidades de los tres estímulos primarios fijados  $R, G, B$ :

$$Q \equiv R_Q R + G_Q G + B_Q B \quad [A5]$$

Los factores escalares  $R_Q, G_Q, B_Q$  asignados a los estímulos primarios se denominan **valores triestímulo** (término abreviado de "Valores del Triple Estímulo Internacional") de  $Q$ .

Esta ecuación vectorial tiene una sencilla interpretación geométrica en el espacio tridimensional mostrado en la Figura A1. Los vectores unitarios  $R, G, B$ , que representan los estímulos primarios, definen el espacio, tienen un origen común y se sitúan en tres direcciones arbitrariamente elegidas. Las tres componentes que definen el vector  $Q$  se sitúan a lo largo de los ejes definidos por  $R, G, B$ , y tienen longitudes respectivamente iguales a la  $R_Q, G_Q, B_Q$ , valores triestímulo de  $Q$ . De esta manera, en el espacio triestímulo- $(R,G,B)$  el estímulo coloreado  $Q$  se define como un vector triestímulo- $(R_Q, G_Q, B_Q)$ .

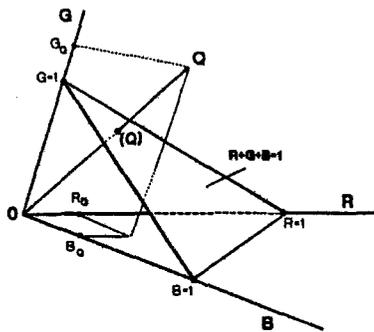


Figura A1. Espacio cromático  $(R, G, B)$ .

La representación vectorial del color, además de no ser totalmente correcta por carecer del elemento neutro para la operación (Álvarez-Claro y col., 1976; Álvarez-Claro y Hita, 1978), no resulta práctica, puesto que conlleva el manejo de estructuras tridimensionales. Por ello se prefiere un tratamiento bidimensional del mismo, aunque hay que tener en cuenta que necesariamente se reduce la información que ofrece el vector triestímulo. Una representación bidimensional útil es la que se obtiene por la proyección sobre el plano  $R+G+B=1$ , según muestra la Figura A1. Cada vector triestímulo  $Q$  intersecciona con dicho plano en un punto  $Q$ . Es fácil entender que la localización de dicho punto  $Q$  determina la dirección del vector pero no su longitud, caracterizada por la intensidad del estímulo.

En el plano unitario es conveniente elegir como ejes de coordenadas las líneas de intersección entre dicho plano y cada uno de los planos definidos por pares de vectores primarios. El triángulo formado por dichas líneas de intersección define el **diagrama de cromaticidad- $(r,g,b)$** . Las coordenadas de cromaticidad de  $Q$  están relacionadas con los valores triestímulo ( $R=R_Q, G=G_Q, B=B_Q$ ) y vienen definidas por las siguientes ecuaciones:

$$r = \frac{R}{R + G + B} \quad g = \frac{G}{R + G + B} \quad b = \frac{B}{R + G + B} \quad [A6]$$

de donde se desprende que:

$$r + g + b = 1$$

La representación de dos de las coordenadas resulta suficiente para la definición práctica de cualquier color. El triángulo equilátero representado en la Figura A2 se conoce como **Triángulo de Color de Maxwell**. Más recientemente se prefiere la representación sobre un triángulo donde los dos ejes de coordenadas elegidos  $(r,g)$  sean perpendiculares entre sí. El triángulo rectángulo así definido se puede obtener mediante sencillas modificaciones sobre el espacio triestímulo que no alteran las ecuaciones colorimétricas básicas.

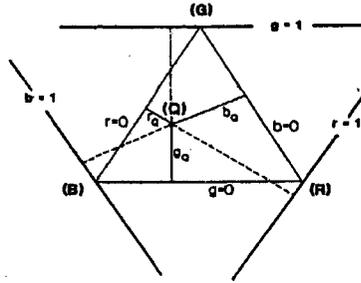


Figura A2. Triángulo de Color de Maxwell

**Ecuaciones colorimétricas básicas**

En un espacio vectorial, el vector resultante de la suma de otros puede expresarse como la resultante de las sumas parciales de las componentes de éstos. De la misma forma, un estímulo de color  $Q$ , con distribución de energía radiante  $\{P_\lambda d\lambda\}_Q$ , puede expresarse como la mezcla aditiva de una serie de estímulos  $Q_i$ , con distribuciones espectrales  $\{P_\lambda d\lambda\}_{Q_i}$ , asociados a  $n$  intervalos de longitud de onda de ancho  $(\Delta\lambda)_i$  (donde  $i=1$  a  $n$ ). Los  $n$  intervalos de longitud de onda, no necesariamente de anchura constante, subdividen completamente el espectro visible (380 a 770 nm).

Cada estímulo  $Q_i$  se define por la ecuación básica:

$$Q_i \equiv R_{Q_i}R + G_{Q_i}G + B_{Q_i}B \tag{A7}$$

donde  $R_{Q_i}$ ,  $G_{Q_i}$ ,  $B_{Q_i}$  son los valores triestímulo de  $Q_i$

La mezcla aditiva de todos los estímulos  $Q_i$  igualará el estímulo original  $Q$  que, entonces, puede definirse como:

$$Q = \sum_{i=1}^n Q_i = \left( \sum_{i=1}^n R_{Q_i} \right) R + \left( \sum_{i=1}^n G_{Q_i} \right) G + \left( \sum_{i=1}^n B_{Q_i} \right) B \tag{A8}$$

El número  $n$  de intervalos crece a medida que se reduce la anchura de los mismos. El caso límite genera la siguiente suma:

$$P = \lim_{|(\Delta\lambda)_{i=k}| \rightarrow 0} \sum_{i=1}^n P_{\lambda_i}(\Delta\lambda)_i \tag{A9}$$

esto es, la integral definida de la concentración de energía radiante espectral  $P_\lambda$  en el espectro visible (entre  $\lambda_a$  y  $\lambda_b$ ),

$$\int_{\lambda_a}^{\lambda_b} P_\lambda d\lambda = \lim_{|(\Delta\lambda)_{i=k}| \rightarrow 0} \sum_{i=1}^n P_{\lambda_i}(\Delta\lambda)_i \tag{A10}$$

Normalmente la subdivisión del espectro se realiza para intervalos constantes de longitud de onda, con lo que  $(\Delta\lambda)_i = \Delta\lambda$ , y así la ecuación definitiva es:

$$P = \int_{\lambda_a}^{\lambda_b} P_\lambda d\lambda = \lim_{\Delta\lambda \rightarrow 0} \sum_{i=1}^n P_{\lambda_i} \Delta\lambda \tag{A11}$$

donde  $\lambda_i$  corresponde a la longitud de onda central del intervalo  $\Delta\lambda$ ;  $P_\lambda \Delta\lambda$  representa la energía radiante del intervalo  $d\lambda$ , y se denomina normalmente "estímulo monocromático de longitud de onda  $\lambda$ ",  $Q_\lambda$ . Cada estímulo monocromático  $Q_\lambda$  puede expresarse:

$$Q_\lambda \equiv R_\lambda R + G_\lambda G + B_\lambda B \quad [A12]$$

donde  $R_\lambda, G_\lambda, B_\lambda$  se suelen denominar "valores triestímulo espectrales".

Se define como *estímulo equienergético*  $E$  el compuesto por estímulos monocromáticos  $E_\lambda$  cuya energía radiante es constante e igual a 1 en todas las longitudes de onda del espectro visible (desde  $\lambda_a=380$  a  $\lambda_b=770$  nm). Estos estímulos monocromáticos vienen definidos por la ecuación:

$$E_\lambda = \bar{r}(\lambda) R + \bar{g}(\lambda) G + \bar{b}(\lambda) B \quad [A13]$$

donde  $\bar{r}(\lambda), \bar{g}(\lambda), \bar{b}(\lambda)$  son notaciones especiales para los valores triestímulo del estímulo monocromático  $E_\lambda$ . Los estímulos primarios fijados son también estímulos monocromáticos cuyas longitudes de onda son:  $\lambda_R = 700$  nm,  $\lambda_G = 546.1$  nm,  $\lambda_B = 435.8$  nm, respectivamente.

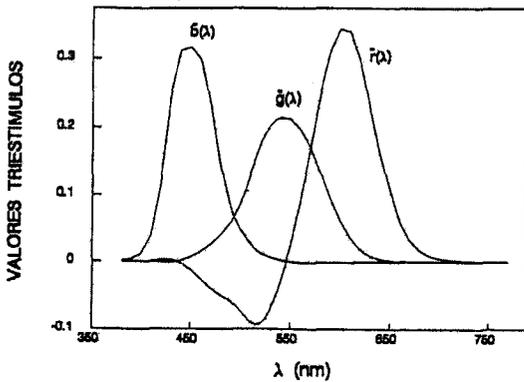


Figura A3. Funciones de Igualación de color del Sistema RGB.

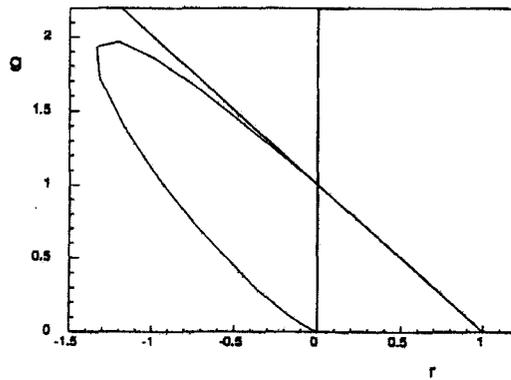


Figura A4. Diagrama cromático (r,g)

Se denominan *funciones de igualación de color* (Figura A3) a las series de valores triestímulo espectrales de  $E_\lambda$  en un determinado sistema de estímulos primarios (por ej.  $R, G, B$ ). A partir de los valores triestímulo  $\bar{r}(\lambda), \bar{g}(\lambda), \bar{b}(\lambda)$  de cada estímulo monocromático  $E_\lambda$ , según la fórmula general, se obtienen las coordenadas cromáticas  $r(\lambda), g(\lambda), b(\lambda)$ . La representación en un diagrama cartesiano de todos los valores  $r(\lambda), g(\lambda)$  produce el denominado "*spectrum locus*", que define el **diagrama cromático-(r,g)** (Figura A4). En el diagrama de cromaticidad-(r,g) el estímulo equienergético  $E$  viene expresado por las coordenadas cromáticas:

$$r_E = g_E = 0.333$$

La línea recta que une los puntos extremos del *spectrum locus* ( $\lambda_a=380$  nm,  $\lambda_b=770$  nm) se denomina *línea de púrpuras* y representa la localización cromática de las mezclas aditivas de los estímulos situados en ambos extremos. La consideración de estas funciones de igualación de color permite calcular los valores triestímulo de un estímulo de color  $Q$  según la ecuación para cada estímulo monocromático  $Q_i$ :

$$Q_\lambda = (P_\lambda d\lambda) E_\lambda = (P_\lambda d\lambda) \bar{r}(\lambda) R + (P_\lambda d\lambda) \bar{g}(\lambda) G + (P_\lambda d\lambda) \bar{b}(\lambda) B \quad [A14]$$

Asumiendo que  $P_\lambda$  es una función continua en el espectro visible, la ecuación [A14] es integrable, esto es, los valores triestímulo  $R=R_Q, G=G_Q, B=B_Q$  de un estímulo  $Q$  vienen dados por las expresiones:

$$R = \int_{\lambda_a}^{\lambda_b} P_\lambda \bar{r}(\lambda) d\lambda \quad G = \int_{\lambda_a}^{\lambda_b} P_\lambda \bar{g}(\lambda) d\lambda$$

[A15]

$$B = \int_{\lambda_a}^{\lambda_b} P_\lambda \bar{b}(\lambda) d\lambda$$

### SISTEMA COLORIMÉTRICO CIE

A partir del concepto original de espacio triestímulo y de las ecuaciones colorimétricas básicas, la CIE propuso en 1931, aunque se publicaría un año más tarde (*CIE, 1932*), su sistema colorimétrico basado en unas "Especificaciones sobre observadores estándares en colorimetría" y unas "Recomendaciones sobre cuestiones relacionadas".

La dificultad en el cálculo de los valores triestímulo **R**, **G**, **B** según las ecuaciones básicas indujo a la CIE a la adopción de otro sistema tricromático. Este sistema se basa en los experimentos que realizaron *Guild (1931)* y *Wright (1928)* con observadores reales, en los que establecieron las magnitudes de los primarios que igualaban los colores espectrales. Mediante una transformación matricial, a partir de los primarios **R**, **G**, **B** se definen los nuevos estímulos **X**, **Y**, **Z**. Se trata de estímulos imaginarios y no igualables con los espectrales visibles, pero que aseguran que las coordenadas de cromaticidad *x*, *y*, *z*, no adopten valores negativos, cuyo significado físico podría resultar confuso en su aplicación a la medida del color de materiales coloreados.

Asimismo, se definen las "funciones de igualación de color" como las propiedades del Observador Estándar CIE-1931 (u Observador de 2°), en el rango de longitudes de onda de la zona visible del espectro (Figura A5). Se representan por:

$$\bar{x}(\lambda) \quad \bar{y}(\lambda) \quad \bar{z}(\lambda)$$

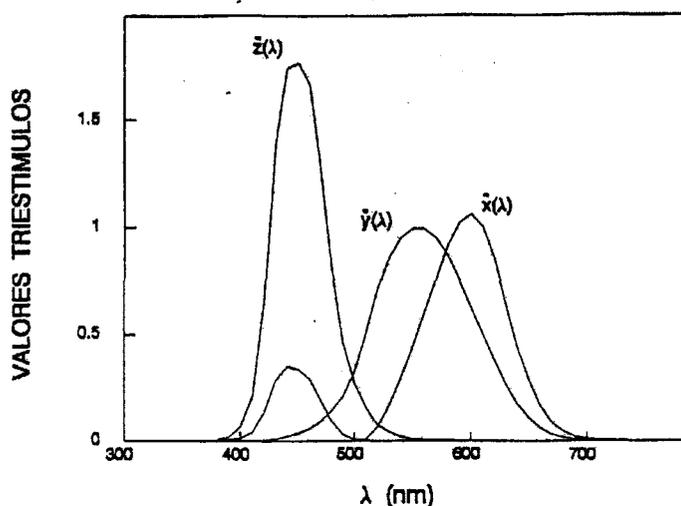


Figura A5. Funciones de Igualación de Color del Sistema XYZ.

En 1964 se define un Observador Estándar Colorimétrico Suplementario (u Observador de 10°), completamente análogo al anterior, cuyas funciones de igualación de color son:

$$\bar{x}_{10}(\lambda) \quad \bar{y}_{10}(\lambda) \quad \bar{z}_{10}(\lambda)$$

La CIE define una serie de Distribuciones Espectrales de Energía Radiante a las que se denomina "Iluminantes Estándares CIE" (*Committee on Colorimetry, 1944*), y que vienen simbolizadas por la expresión general

$$\{ S(\lambda) d(\lambda) \}$$

donde  $S(\lambda)$ , o "distribución espectral relativa del iluminante", representa la concentración espectral de energía radiante incidente. Los valores que adopta esta expresión a lo largo del espectro se encuentran tabulados en la bibliografía (*Judd y Wyszecki, 1975; Wyszecki y Stiles, 1982*).

Entre los diferentes iluminantes propuestos están:

**Iluminante A**, que representa la luz de un radiador total a la temperatura absoluta de 2856 K, según la Escala Internacional Práctica de Temperatura 1968.

**Iluminante B**, que representa la luz solar directa y se relaciona con una temperatura de color aproximada de 4874 K.

**Iluminante C**, que se asimila con la luz diurna media (tradicionalmente luz de cielo nublado), con temperatura de color de, aproximadamente, 6774 K.

**Iluminante D<sub>65</sub>**, se relaciona con una temperatura de color aproximada de 6504 K y representa una fase de la luz de día natural. Es el más utilizado actualmente y el que recomienda la CIE en la mayoría de los casos.

**Iluminante D<sub>55</sub>**, relacionado con una temperatura de color de 5503 K.

**Iluminante D<sub>75</sub>**, junto con el D<sub>55</sub> son la alternativa al D<sub>65</sub> recomendada por la CIE. Se relaciona con una temperatura de color de 7504 K.

### Sistemas CIE 1931-(x,y) y CIE 1964-(x<sub>10</sub>,y<sub>10</sub>) (CIEXYZ)

#### Cálculo de valores triestímulo y coordenadas de cromaticidad

Para la definición de los valores triestímulo y el cálculo de las coordenadas de cromaticidad, la CIE propone las siguientes ecuaciones generales, de acuerdo con los dos observadores patrón:

CIE 1931-(x,y)	CIE 1964-(x <sub>10</sub> ,y <sub>10</sub> )
$X = k \int_{\lambda} P_{\lambda} \bar{x}(\lambda) d(\lambda)$	$X_{10} = k_{10} \int_{\lambda} P_{\lambda} \bar{x}_{10}(\lambda) d(\lambda)$
$Y = k \int_{\lambda} P_{\lambda} \bar{y}(\lambda) d(\lambda)$	$Y_{10} = k_{10} \int_{\lambda} P_{\lambda} \bar{y}_{10}(\lambda) d(\lambda)$ [A16]
$Z = k \int_{\lambda} P_{\lambda} \bar{z}(\lambda) d(\lambda)$	$Z_{10} = k_{10} \int_{\lambda} P_{\lambda} \bar{z}_{10}(\lambda) d(\lambda)$

$$\begin{array}{ll}
 \text{CIE 1931-(x,y)} & \text{CIE 1964-(x}_{10},y_{10}) \\
 x = \frac{X}{X+Y+Z} & x_{10} = \frac{X_{10}}{X_{10}+Y_{10}+Z_{10}} \\
 y = \frac{Y}{X+Y+Z} & y_{10} = \frac{Y_{10}}{X_{10}+Y_{10}+Z_{10}} \\
 z = \frac{Z}{X+Y+Z} & z_{10} = \frac{Z_{10}}{X_{10}+Y_{10}+Z_{10}}
 \end{array} \quad [\text{A17}]$$

donde X, Y, Z, X<sub>10</sub>, Y<sub>10</sub>, Z<sub>10</sub> son los valores triestímulo respectivos; x, y, x<sub>10</sub>, y<sub>10</sub> son las coordenadas de cromaticidad de ambos sistemas coloreados. k y k<sub>10</sub> toman valores arbitrarios y son factores normalizantes. P<sub>λ</sub> corresponde al componente monocromático de longitud de onda λ, en el estímulo coloreado.  $\bar{x}(\lambda)$ ,  $\bar{y}(\lambda)$ ,  $\bar{z}(\lambda)$  y  $\bar{x}_{10}(\lambda)$ ,  $\bar{y}_{10}(\lambda)$ ,  $\bar{z}_{10}(\lambda)$  son las funciones de igualación de color del espectro visible.

Se puede realizar una transformación de las ecuaciones generales a través de la definición del componente monocromático P(λ),

$$P(\lambda) = T(\lambda) S(\lambda) \quad [\text{A18}]$$

donde T(λ) es la transmitancia espectral del objeto, y así se obtienen las ecuaciones especiales:

$$\begin{array}{ll}
 \text{CIE 1931-(x,y)} & \text{CIE 1964-(x}_{10},y_{10}) \\
 X = k \int_{\lambda} T(\lambda) S(\lambda) \bar{x}(\lambda) d(\lambda) & X_{10} = k_{10} \int_{\lambda} T(\lambda) S(\lambda) \bar{x}_{10}(\lambda) d(\lambda) \\
 Y = k \int_{\lambda} T(\lambda) S(\lambda) \bar{y}(\lambda) d(\lambda) & Y_{10} = k_{10} \int_{\lambda} T(\lambda) S(\lambda) \bar{y}_{10}(\lambda) d(\lambda) \\
 Z = k \int_{\lambda} T(\lambda) S(\lambda) \bar{z}(\lambda) d(\lambda) & Z_{10} = k_{10} \int_{\lambda} T(\lambda) S(\lambda) \bar{z}_{10}(\lambda) d(\lambda)
 \end{array} \quad [\text{A19}]$$

que son aplicables a "estímulos objeto-color" (los producidos por la radiación transmitida o reflejada por un objeto) y en las que k y k<sub>10</sub> vienen definidas por las expresiones:

$$k = \frac{100}{\int_{\lambda} S(\lambda) \bar{y}(\lambda) d(\lambda)} \quad k_{10} = \frac{100}{\int_{\lambda} S(\lambda) \bar{y}_{10}(\lambda) d(\lambda)} \quad [\text{A20}]$$

De esta forma, los valores triestímulo Y e Y<sub>10</sub> del difusor transmitente perfecto [T(λ)=1.0 ó β(λ)=1.0, a todas las longitudes de onda] se hacen igual a 100.

Para objetos reflectantes en lugar de transmisores, ha de utilizarse la reflectancia espectral, β(λ). El valor triestímulo Y, así calculado, define el "factor de luminancia", a diferencia del factor Y<sub>10</sub> que no tiene tal significación fotométrica.

*Transformación de las integrales en sumas*

La complicación del cálculo integral lleva a que en los casos prácticos se haga una transformación en sumatorio de las integrales, utilizando dos métodos conocidos como de las ordenadas ponderadas y de las ordenadas seleccionadas.

El método más comúnmente usado es el de las ordenadas ponderadas. A partir de los valores de transmitancia (T) obtenidos para intervalos constantes de longitud de onda (1, 5 ó 10 nm), se calculan los valores triestímulo por aplicación de las ecuaciones:

CIE 1931-(x,y)

CIE 1964-(x<sub>10</sub>,y<sub>10</sub>)

$$\begin{aligned} X &= k \sum_{\lambda=\lambda_a}^{\lambda_b} T(\lambda) S(\lambda) \bar{x}(\lambda) \Delta(\lambda) & X_{10} &= k_{10} \sum_{\lambda=\lambda_a}^{\lambda_b} T(\lambda) S(\lambda) \bar{x}_{10}(\lambda) \Delta(\lambda) \\ Y &= k \sum_{\lambda=\lambda_a}^{\lambda_b} T(\lambda) S(\lambda) \bar{y}(\lambda) \Delta(\lambda) & Y_{10} &= k_{10} \sum_{\lambda=\lambda_a}^{\lambda_b} T(\lambda) S(\lambda) \bar{y}_{10}(\lambda) \Delta(\lambda) \quad [A21] \\ Z &= k \sum_{\lambda=\lambda_a}^{\lambda_b} T(\lambda) S(\lambda) \bar{z}(\lambda) \Delta(\lambda) & Z_{10} &= k_{10} \sum_{\lambda=\lambda_a}^{\lambda_b} T(\lambda) S(\lambda) \bar{z}_{10}(\lambda) \Delta(\lambda) \end{aligned}$$

$$k = \frac{100}{\sum_{\lambda=\lambda_a}^{\lambda_b} S(\lambda) \bar{y}(\lambda) \Delta(\lambda)} \quad k_{10} = \frac{100}{\sum_{\lambda=\lambda_a}^{\lambda_b} S(\lambda) \bar{y}_{10}(\lambda) \Delta(\lambda)} \quad [A22]$$

La concentración relativa de energía radiante, S(λ), es siempre constante dentro del intervalo de anchura Δλ. Por consiguiente, el producto con la función de igualación correspondiente es constante.

Un método alternativo es el de las ordenadas seleccionadas de *Hardy (1936)*. Aquí los intervalos de λ en que se divide el espectro no son de anchura constante aunque su número es menor (generalmente 30, reduciéndose hasta 10 intervalos si los colores no difieren mucho del blanco o el gris). El criterio seguido al establecer los Δλ es la elección de la anchura, de tal modo que el producto S(λ)·τ(λ)·Δλ sea constante para la longitud de onda media de cada intervalo. Después, se procede de igual forma que en el método de las ordenadas ponderadas. Diversos autores consideraron este método suficientemente preciso para la mayoría de los requerimientos, llegándose a diseñar ingeniosos aparatos que calculaban los valores triestímulo a partir de los datos espectrofotométricos (*Swank y Mellon, 1937*).

Si en el espacio CIEXYZ se representan los valores triestímulo de los estímulos monocromáticos, E<sub>λ</sub>, a lo largo del espectro visible, se obtiene la línea curva que muestra la Figura A7. Rotando la gráfica adecuadamente se tiene una imagen aproximada de una de las posibles proyecciones sobre el plano unitario o diagrama deromaticidad (Figura A8).

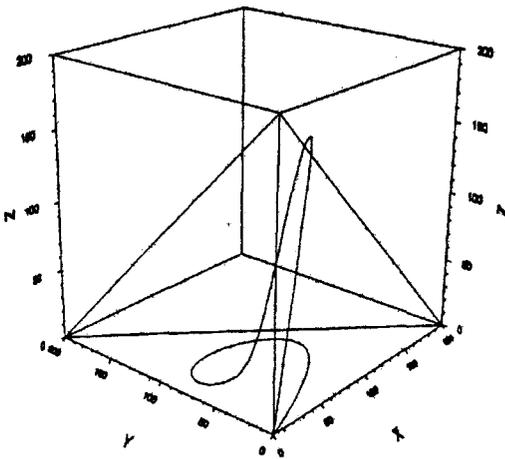


Figura A7. Espacio triestímulo XYZ.

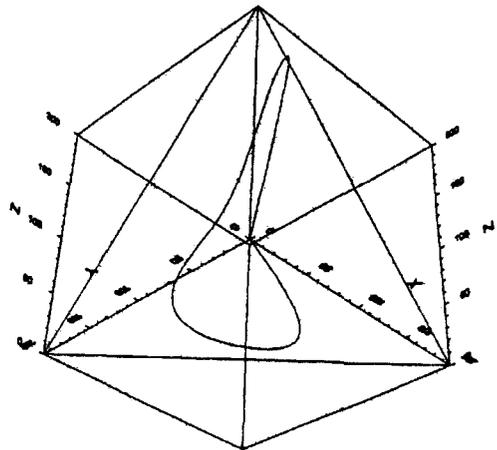


Figura A8. Rotación del Espacio XYZ

La proyección que se elige en colorimetría, a partir del origen de coordenadas, es oblicua y se realiza sobre un triángulo rectángulo produciendo el "spectrum locus" o perímetro del diagrama cromático (Figura A9). La línea de púrpuras representa las diferentes mezclas entre los estímulos monocromáticos extremos azul y rojo ( $\lambda=400$  nm y  $\lambda=770$  nm, respectivamente) (Figura A10).

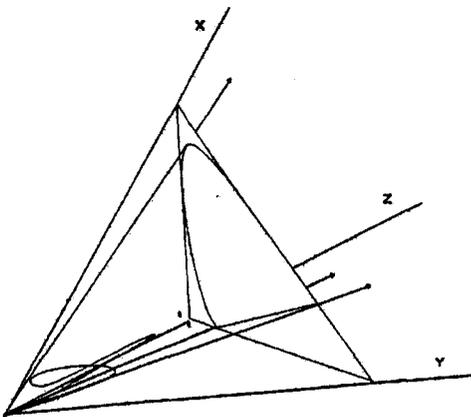


Figura A9. Proyección oblicua del Espacio XYZ.

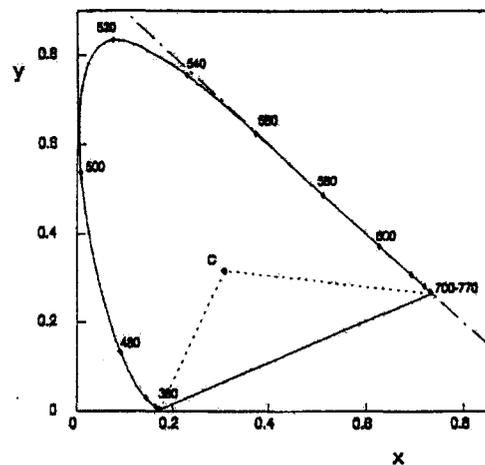


Figura A10. Diagrama cromático CIE 1931-(x,y)

### Longitud de onda dominante y pureza

A partir del espacio CIE 1931 (x,y), y de su diagrama de cromaticidad, se proponen dos conceptos importantes en la caracterización del color: longitud de onda dominante,  $\lambda_d$ , y pureza o saturación.

La longitud de onda dominante de un estímulo coloreado es la correspondiente al estímulo monocromático que, mezclado con uno acromático (iluminante de referencia), produce la igualación con el color original. La Figura A11 muestra las zonas de color predominante (Kelly, 1943).



- Pureza de excitación, en función de la coordenada (x ó y) a lo largo de la cual se orienta fundamentalmente el estímulo, con respecto a su longitud de onda dominante:

$$p_e(x) = \frac{x - x_C}{x_L - x_C} \quad \text{ó} \quad p_e(y) = \frac{y - y_C}{y_L - y_C} \quad [\text{A23}]$$

donde  $p_e(x)$  y  $p_e(y)$  son las purezas de excitación en función de la coordenada x ó y, respectivamente;  $x_c$ ,  $y_c$  son las coordenadas del iluminante o estímulo acromático;  $x_L$ ,  $y_L$  son las del estímulo de longitud de onda  $\lambda_d$ , o el punto correspondiente en la línea de púrpuras.

- Pureza colorimétrica, análoga a la anterior y que se expresa en función de la orientación predominante del punto:

$$p_c(x) = \frac{y_L}{y} \cdot \frac{x - x_C}{x_L - x_C} \quad \text{ó} \quad p_c(y) = \frac{y_L}{y} \cdot \frac{y - y_C}{y_L - y_C} \quad [\text{A24}]$$

La única diferencia entre ambas consiste en la consideración de  $x_L$ ,  $y_L$ , en el caso de estímulos no espectrales, como las coordenadas del estímulo complementario. Por esta razón, la pureza colorimétrica de estímulos no espectrales puede adquirir valores negativos.

Algunos trabajos han puesto de manifiesto la falta de uniformidad del Espacio Cromático CIE 1931, demostrando que existen variaciones de magnitud y orientación de las elipses cuando consideran observadores diferentes (*Brown y Macadam, 1949*).

### Escala uniforme UCS 1960

Hasta los años sesenta se habían propuesto diversos sistemas coloreados, a partir de la idea de transformar proyectivamente el espacio CIE (*Judd, 1935*), que fueron considerados por el Comité de Colorimetría CIE con el fin de conseguir espacios uniformes en los que las diferencias de color estuviesen correlacionadas con la apreciación visual, es decir, donde los colores con iguales diferencias observables puedan ser representados por puntos equidistantes.

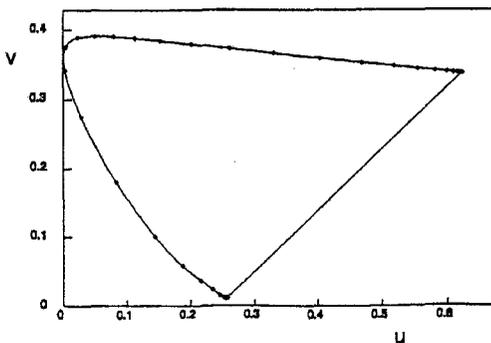


Figura A14. Escala de Cromaticidad Uniforme UCS 1960.

Éstos dieron lugar a la recomendación de la Escala de Cromaticidad Uniforme CIE 1960 (UCS) (Figura A14), propuesta por *MacAdam (1937; 1942; 1944)* que es una transformación proyectiva del Diagrama de Cromaticidad CIE 1931 (x,y). Se definieron las nuevas coordenadas u,v, a partir de las siguientes expresiones:

$$u = \frac{4x}{-2x + 12y + 3} \quad u = \frac{4X}{X + 15Y + 3Z}$$

ó

$$v = \frac{6y}{-2x + 12y + 3} \quad v = \frac{6Y}{X + 15Y + 3Z}$$
[A25]

en las que  $x$ ,  $y$ ,  $X$ ,  $Y$ ,  $Z$  son las coordenadas de cromaticidad y valores triestímulo, respectivamente, según el Observador Patrón CIE 1931.

### Espacio $U^*V^*W^*$

A partir del nuevo diagrama de cromaticidad UCS 1960, y basándose en el trabajo de Wyszecki (1963), la CIE considera, un año más tarde, una modificación tridimensional del mismo. Se trata del Sistema CIE 1964 ( $U^*V^*W^*$ ), en el que se incluyen los índices de cromaticidad  $U^*$  y  $V^*$ , y de luminosidad  $W^*$ , los cuales se definen según las ecuaciones:

$$W^* = 25 \sqrt[3]{Y} - 17 \quad [A26]$$

$$U^* = 13 W^* (u - u_0) \quad [A27]$$

$$V^* = 13 W^* (v - v_0) \quad [A28]$$

donde  $Y$  es el valor triestímulo CIE 1931;  $u, v$ , las coordenadas de cromaticidad CIE 1960 (UCS), correspondientes al estímulo coloreado en cuestión, y  $u_0$ ,  $v_0$ , las del estímulo acromático relacionado con el iluminante de referencia.

Se propone, además, una fórmula para las diferencias de color que considera la influencia de la luminosidad en la cromaticidad:

$$\Delta E_{U^*V^*W^*} = \sqrt{(\Delta U^*)^2 + (\Delta V^*)^2 + (\Delta W^*)^2} \quad [A29]$$

que es una extensión tridimensional del Teorema de Pitágoras para la distancia entre dos puntos del diagrama.

### Espacio CIELUV

Dos espacios cromáticos completan la serie de Recomendaciones de la CIE (1978): El espacio de color CIE 1976  $L^*u^*v^*$  (CIELUV), y el espacio de color CIE 1976  $L^*a^*b^*$  (CIELAB).

El espacio CIELUV es una modificación del sistema CIE 1964 ( $U^*V^*W^*$ ). Este espacio coloreado incorpora una nueva Escala Uniforme de Color, CIE 1976 UCS (Macadam, 1974; Nickerson, 1975; 1978), representada por el Diagrama de Cromaticidad ( $u', v'$ ) (Figura A15) y directamente relacionado con el Diagrama de Cromaticidad ( $u, v$ ) de 1960:

$$u' = \frac{4X}{X + 15Y + 3Z} \quad v' = \frac{9Y}{X + 15Y + 3Z} \quad [A30]$$

con lo que  $u' = u$  y  $v' = 1.5 \cdot v$

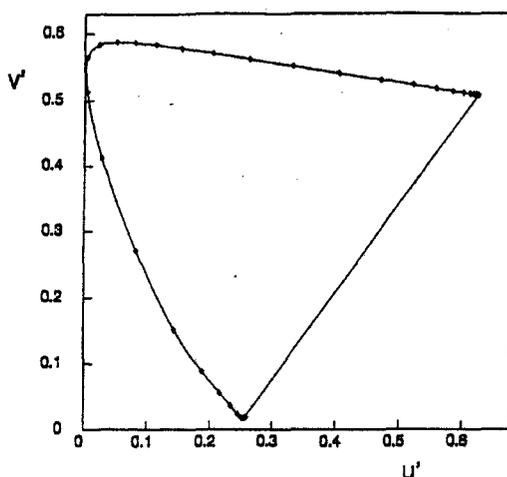


Figura A15. Escala de Cromaticidad Uniforme UCS 1976.

El espacio CIELUV viene determinado por la respuesta tridimensional en coordenadas rectangulares de las cantidades de "Claridad Psicométrica",  $L^*$ , y cromaticidad  $u^*$ ,  $v^*$ . Se definen por las expresiones:

$$L^* = 116,3 \sqrt[3]{\frac{Y}{Y_n}} - 16 \quad [A31]$$

$$u^* = 13 L^* (u' - u'_n) \quad [A32]$$

$$v^* = 13 L^* (v' - v'_n) \quad [A33]$$

donde  $u'$ ,  $v'$  representan la cromaticidad de un estímulo coloreado;  $u'_n$ ,  $v'_n$  la del estímulo blanco correspondiente al iluminante de referencia;  $Y$ ,  $Y_n$  son los valores triestímulo CIE 1931, para el estímulo considerado y el estímulo blanco, respectivamente.

Valores muy bajos de  $Y/Y_n$  pueden dar lugar a claridades negativas, por lo que se recomienda otra fórmula para  $L^*$  (en este caso  $L_m^*$ ):

$$L_m^* = 903,3 \left( \frac{Y}{Y_n} \right) \quad \text{para } Y/Y_n \leq 0,008856 \quad [A34]$$

Esta modificación se debe a (Pauli, 1976).

En este sistema, la fórmula para diferencias de color propuesta es análoga a la anterior, y también considera conjuntamente la claridad y cromaticidad:

$$\Delta E_{uv}^* = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta u^*)^2 + (\Delta v^*)^2} \quad [A35]$$

### Espacio CIELAB

El espacio de Color CIE 1976  $L^*a^*b^*$  (CIELAB), que procede de los sistemas de raíz cúbica (Glasser y col., 1958) como el Sistema ANLAB (Glasser y Troy, 1952), queda definido, tal como muestra la Figura A16, cuando se representan en coordenadas rectangulares las siguientes expresiones para claridad,  $L^*$ , y cromaticidad,  $a^*$ ,  $b^*$ :

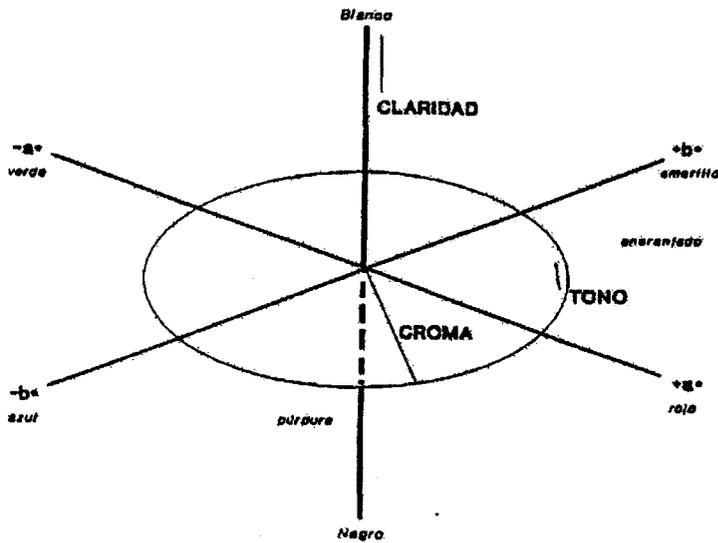


Figura A16. Coordenadas cartesianas y cilíndricas del Espacio CIE 1976-(L\*a\*b\*) (CIELAB)

**Claridad ( $L^*$ )**, que se define igual que en el sistema CIELUV y, análogamente, hay que considerar la modificación de (Pauli, 1976) para evitar la pérdida de uniformidad para valores de  $Y/Y_n < 0.008856$ .

$$L^* = 116 \sqrt[3]{\frac{Y}{Y_n}} - 16 \quad \text{para } Y/Y_n > 0,008856 \quad [\text{A36}]$$

$$L_m^* = 903,3 \left( \frac{Y}{Y_n} \right) \quad \text{para } Y/Y_n \leq 0,008856 \quad [\text{A37}]$$

**Cromaticidad ( $a^*$ ,  $b^*$ ):**

$$a^* = 500 \left[ f\left(\frac{X}{X_n}\right) - f\left(\frac{Y}{Y_n}\right) \right] \quad [\text{A38}]$$

$$b^* = 200 \left[ f\left(\frac{Y}{Y_n}\right) - f\left(\frac{Z}{Z_n}\right) \right] \quad [\text{A39}]$$

siendo

$$f\left(\frac{X}{X_n}\right) = \sqrt[3]{\frac{X}{X_n}} \quad \text{para } X/X_n > 0.008856 \quad [\text{A40}]$$

$$f\left(\frac{X}{X_n}\right) = 7,787 \left( \frac{X}{X_n} \right) + \frac{16}{116} \quad \text{para } X/X_n \leq 0.008856 \quad [\text{A41}]$$

$$f\left(\frac{Y}{Y_n}\right) = \sqrt[3]{\frac{Y}{Y_n}} \quad \text{para } Y/Y_n > 0.008856 \quad [\text{A42}]$$

$$f\left(\frac{Y}{Y_n}\right) = 7,787 \left(\frac{Y}{Y_n}\right) + \frac{16}{116} \quad \text{para } Y/Y_n \leq 0.008856 \quad [\text{A43}]$$

$$f\left(\frac{Z}{Z_n}\right) = \sqrt[3]{\frac{Z}{Z_n}} \quad \text{para } Z/Z_n > 0.008856 \quad [\text{A44}]$$

$$f\left(\frac{Z}{Z_n}\right) = 7,787 \left(\frac{Z}{Z_n}\right) + \frac{16}{116} \quad \text{para } Z/Z_n \leq 0.008856 \quad [\text{A45}]$$

los valores  $X_n$ ,  $Y_n$ ,  $Z_n$  corresponden al estímulo considerado como blanco.

La diferencia de color queda definida por:

$$\Delta E_{ab}^* = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad [\text{A46}]$$

Al contrario de lo que sucede con los espacios coloreados CIE 1964 (U\*V\*W\*) y CIELUV, el espacio CIELAB no está relacionado directamente con el espacio CIE 1931 (x,y). Mientras que algunos autores (*Lozano, 1977; Lozano, 1979*) ponen de manifiesto las diferencias existentes entre los sistemas CIELUV y CIELAB, asegurando que se dan indicios de la superioridad de los sistemas tipo raíz cúbica (ANLAB, CIELAB), otros estudios (*McLaren, 1970*) parecen demostrar fehacientemente que, en la práctica, estas diferencias no son significativas en orden a la caracterización cromática de los objetos.

En algunos casos, parece obligado la consideración de los sistemas colorimétricos uniformes. En este sentido existen diversos trabajos que demuestran:

- desviaciones graduales de uniformidad en el espacio CIEUVW (*Wyszecki, 1975*)
- fallos en la predicción cromática que presenta el observador estándar de la CIE (*Hita y col., 1988*).

Por otro lado, aunque el espacio CIELAB se recomienda en numerosas aplicaciones prácticas (*Artigas y col., 1985*), en ocasiones puede presentar algunas limitaciones y anomalías que desaconsejen su uso, siendo conveniente en estos casos tomar como alternativa el sistema CIELUV (*Felipe y Artigas, 1986*). En este sentido, *Hita y col. (1985)* realizan un interesante estudio comparativo entre los cuatro sistemas de especificación del color, encontrando evoluciones similares entre CIEXYZ y CIELAB por un lado, y entre CIEUVW y CIELUV, por otro. Llegan a la conclusión de que todavía hay mucho por hacer en la consecución de un espacio verdaderamente uniforme.

Existen otros sistemas y espacios coloreados recomendados en la bibliografía, como es el caso del espacio LABHNU 1977 (*Richter, 1980*); el espacio "zeta" de *Saunderson-Milner (1946)*, producto de una modificación del Sistema Munsell de Colores; la escala RUCS ("Rectangular Uniform-Chromaticity-Scale"), aún muy usada en luces de señalización (*Breckenridge y Schaub, 1939*); y los sistemas de representación de color ATD y ATDN (*Hita y col., 1987*).

#### Parámetros psicométricos uniformes

A partir de los índices de claridad-cromaticidad ( $L^*$ ,  $u^*$ ,  $v^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ) definidos por los espacios CIELUV y CIELAB, se recomiendan otros componentes del color, importantes en su especificación psicofísica. Así,

- Croma ( $C^*_{uv}$ ,  $C^*_{ab}$ ), función dependiente de las coordenadas de cromaticidad,

$$C^*_{uv} = \sqrt{(u^*)^2 + (v^*)^2} \quad [\text{A47}]$$

$$C_{ab}^* = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2} \quad [A48]$$

- Saturación ( $s^*, u_v$ ), explicitada en el sistema CIELUV por la expresión:

$$s_{uv}^* = 13 \sqrt{(u' - u_{n'})^2 + (v' - v_{n'})^2} \quad [A49]$$

y que se puede calcular a partir del croma y la claridad,

$$s_{uv}^* = \frac{C_{uv}^*}{L^*} \quad [A50]$$

En el sistema CIELAB no se aplica una correlación similar para la saturación.

- Tono ( $h_{uv}, h_{ab}$ ), que es el ángulo, en grados sexagesimales, formado entre el vector que representa al punto en el diagrama y el eje de abscisas:

$$h_{uv} = \arctan \left( \frac{v^*}{u^*} \right) \quad [A51]$$

$$h_{ab} = \arctan \left( \frac{b^*}{a^*} \right) \quad [A52]$$

Según los valores que adopten las coordenadas cromáticas, este ángulo se sitúa en un determinado cuadrante,

$$\begin{aligned} \text{si } u^* > 0 \text{ y } v^* > 0 &\Rightarrow 0^\circ < h < 90^\circ \\ \text{si } u^* < 0 \text{ y } v^* > 0 &\Rightarrow 90^\circ < h < 180^\circ \\ \text{si } u^* < 0 \text{ y } v^* < 0 &\Rightarrow 180^\circ < h < 270^\circ \\ \text{si } u^* > 0 \text{ y } v^* < 0 &\Rightarrow 270^\circ < h < 360^\circ \end{aligned}$$

En todas estas correlaciones psicométricas, de los conceptos de luminosidad, croma y matiz, con la percepción visual, hemos de tener en cuenta la influencia que pueden ejercer las condiciones de observación.

Las diferencias de tono ( $\Delta H_{uv}^*$ ,  $\Delta H_{ab}^*$ ) entre dos estímulos coloreados aparecen como función de las diferencias de color, corregidas por la claridad y el croma,

$$\Delta H_{uv}^* = \sqrt{(\Delta E_{uv}^*)^2 - (\Delta L^*)^2 - (\Delta C_{uv}^*)^2} \quad [A53]$$

$$\Delta H_{ab}^* = \sqrt{(\Delta E_{ab}^*)^2 - (\Delta L^*)^2 - (\Delta C_{ab}^*)^2} \quad [A54]$$

Cuando se trata de pequeñas diferencias entre pares de estímulos suficientemente alejados del estímulo acromático, se puede emplear,

$$\Delta H_{uv}^* = \frac{C_{uv}^* h_{uv} \pi}{180} \quad [A55]$$

$$\Delta H_{ab}^* = \frac{C_{ab}^* h_{ab} \pi}{180} \quad [A56]$$

donde la diferencia de matiz es el tono, expresado en radianes, corregido por el valor del croma.

**Diferencia de color CIE94**

La denominada diferencia de color total,  $\Delta E^*_{94}$  entre dos muestras (CIE, 1995) es una distancia euclídea en el espacio CIE 1976 ( $L^*a^*b^*$ ) respecto a las diferencias de claridad ( $\Delta L^*$ ), croma ( $\Delta C^*_{ab}$ ) y tono ( $\Delta H^*_{ab}$ ):

$$\Delta E^*_{94} = \left[ \left( \frac{\Delta L^*}{k_L S_L} \right)^2 + \left( \frac{\Delta C^*_{ab}}{k_C S_C} \right)^2 + \left( \frac{\Delta H^*_{ab}}{k_H S_H} \right)^2 \right]^{1/2} \quad [\text{A57}]$$

donde  $k_L$ ,  $k_C$  y  $k_H$  son factores paramétricos (en condiciones de referencia:  $k_L = k_C = k_H = 1.0$ ); y  $S_L$ ,  $S_C$  y  $S_H$  son funciones de peso para ajustar con la diferencia de color percibida:

$$S_L = 1.0 \quad S_C = 1 + 0.045 C^*_{ab} \quad S_H = 1 + 0.015 C^*_{ab}$$

Tabla 1. Muestras analizadas.

<i>Muestra</i>	<i>Origen</i>	<i>Cosecha</i>	<i>Nombre</i>	<i>Bodega</i>
1	Ribera del Duero	1999	Condado de Haza	Alejandro Fdez
2	Penedés	1999	Jaume Serra	Jaume Serra
3	Cariñena	1999	Corona de Aragón	Grandes Vinos y Viñedos
4	Rioja	1999	Señorío de Peciña	Hnos Peciña
5	Ribera del Duero	1999	Vega Fina	Asunción
6	Castilla León**	1999	Finca San Martin	Fuentespina
7	Tierra de Castilla**	1999	Tierra del Sol	Berberana
8	Valdepeñas	1999	Bonal	Bodegas Real
9	Ribera del Duero	1999	Valdubón	Valdubón
10	La Mancha	1999	Tomillar	Coop. Virgen Viñas
11	Castilla y León**	1999	Finca San Martin	Fuentespina
12	Toro	1999	Camparron	Francisco Casa
13	Tarragona	1999	Adernats	Coop. A.S.I.
14	Ribera del Duero	1999	Condado de Haza	Alejandro Fdez
15	Rioja	1999	Señorío de Peciña	Hnos Peciña
16	Tarragona	1999	Adernats	Coop. A.S.I.
17	Valdepeñas	2000	Tempranillo*	Casa de la Viña
18	Penedés	2000	Masia Hill	Cavas Hill
19	Rioja	2000	Vizconde de Ayala	Rioja Santiago
20	Ribera del Duero	2000	Monte-Vannos	Monte-Vannos
21	Cigales	2000	Emina	Matarromera
22	Cigales	2000	Valdelosfrailes	Matarromera
23	Ribera del Duero	2000	Dominio de Nogara	Valtravieso
24	Penedés	2000	René Barbier	René Barbier
25	Cuenca**	2000	Ref.764*	Fontana
26	Rioja	2000	Contino Ref.5**	Viñedos Contino
27	Valdepeñas	2000	Los Marcos	Los Marcos
28	Ribera del Duero	2000	Martín Verdugo	Martín Verdugo
29	Valdepeñas	2000	Viña Albali	Viña Albali
30	Valdepeñas	2000	Arúspide*	Arúspide
31	Cariñena	2000	Corona de Aragón	Grandes Vinos y Viñedos
32	Valdepeñas	2000	Monteclaro	Canuto de Valdepeñas
33	Valencia	2000	Tempranillo*	Fernando Francés
34	Méntrida	2000	Torresteban	Coop.Santo Cristo de la Salud
35	Rioja	2000	Erre Punto	F.Remirez Gamuza

Tabla 1. Muestras analizadas (cont)

<i>Muestra</i>	<i>Origen</i>	<i>Cosecha</i>	<i>Nombre</i>	<i>Bodega</i>
36	Bierzo	2000	Montesoro	CRDO Bierzo
37	Rioja	2000	Señorio de Peciña	Hnos Peciña
38	Rioja	2000	Adernats	Coop.A.S.I.
39	Ciudad Real**	2000	Lazarillo	Jesús del Perdón
40	La Mancha	2000	Veronés	Santa Rita
41	Utiel Requena	2000	Miniña	Iranzo
42	Rioja	2000	Murmuron	Sierra Cantabria
43	Cariñena	2000	Monasterio de las Viñas	Grandes Vinos y Viñedos
44	La Mancha	2000	Mundo	Yuntero
45	Valdepeñas	2000	Los Molinos	Félix Solís
46	Zamora**	2000	Novo	Viñas Zamoranas
47	Rioja	2000	Marqués de Griñón	Marqués de Griñón
48	Rioja	2000	Señorio de Uñuela	El Patrocinio
49	Ribera Guadiana	2000	Castelar	Castelar
50	Ribera del Duero	2000	Arco Sol	Señorio Castilla
51	Rioja	2000	La Vendimia	Herencia Remondo
52	Ribera del Duero	2000	Mayor de Castilla	Viña Arraiz
53	Valladolid**	2000	Vacceos	Agríc. Castellana
54	La Mancha	2000	Ribera de los Molinos	Finca la Blanca
55	Ribera del Duero	2000	Vega Cubillas	Señorio de Nava
56	Valdepeñas	2000	Hipercor	Félix Solís
57	Toro	2000	Colegiata	Fariña
58	Ribera del Duero	2000	Palacio Grajal	Narosa
59	Ribera del Duero	2000	Don Opas	Los Llanos
60	Huelva	2000	Proyecto Calidad*	CRDO Condado de Huelva
61	Extremadura**	2000	Viñalange	Alvear
62	Rioja	2000	Contino Ref.5**	Viñedos Contino
63	Rioja	2000	Campo Viejo	Artesanas
64	Navarra	2000	León Marzot	Beamonte
65	Valdepeñas	2000	Torneo	Los Llanos
66	Valdepeñas	2000	Castillo Soldepeñas	Félix Solís
67	Valdepeñas	2000	Tempranillo*	Casa de la Viña
68	Penedés	2000	Masia Hill	Cavas Hill
69	Rioja	2000	Vizconde de Ayala	Rioja Santiago
70	Ribera del Duero	2000	Monte-Vannos	Monte-Vannos
71	Cigales	2000	Valdelosfrailes	Matarromera

Tabla 1. Muestras analizadas (cont).

<i>Muestra</i>	<i>Origen</i>	<i>Cosecha</i>	<i>Nombre</i>	<i>Bodega</i>
72	Ribera del Duero	2000	Dominio de Nogara	Valtravieso
73	Rioja	2000	Señorío Ufuela	El Patrocinio
74	Penedés	2000	René Barbier	René Barbier
75	Valdepeñas	2000	Viña Albali	Viña Albali
76	Rioja	2000	Señorío de Peciña	Hnos Peciña
77	Tierra de Castilla**	2000	Lazarillo	Jesús del Perdón
78	La Mancha	2000	Veronés	Santa Rita
79	Utiel Requena	2000	Miniña	Iranzo
80	Rioja	2000	Murmuron	Sierra Cantabria
81	Cariñena	2000	Monasterio de las Viñas	Grandes Vinos y Viñedos
82	La Mancha	2000	Mundo	Yuntero
83	Valdepeñas	2000	Los Molinos	Félix Solís
84	Zamora**	2000	Novo	Viñas Zamoranas
85	Rioja	2000	Marqués de Griñón	Marqués de Griñón
86	Ribera de Guadiana	2000	Castelar	Castelar
87	Bierzo	2000	Montesoro	CRDO Bierzo
88	Toro	2000	Camparrón	Francisco Casas
89	Ribera del Duero	2000	Valpincia	Valpincia
90	Ribera del Duero	2000	Cillar de Silos	Cillar de Silos
91	Valencia**	2000	Fernando Francés	Fernando Francés
92	Tierra de Castilla**	2000	Albor	Casa de la Viña
93	Utiel Requena	2000	Miniña	Iranzo
94	Rioja	2000	Murmuron	Sierra Cantabria
95	Rioja	2000	Contino HTML*	Viñedos Contino
96	La Mancha	2001	Tempranillo*	Vinícola de Castilla
97	Rioja	2001	Ostatu	Ostatu
98	La Mancha	2001	Tempranillo*	Vinícola de Castilla
99	Rioja	2001	Ostatu	Ostatu
100	Extremadura**	2001	Vegas del Bodión	Lopez Morenas
101	La Mancha	2001	Ribera de los Molinos	Finca Blanca
102	Catalunya	2001	Viña del Mar	Jaime Serra

Tabla 1. Muestras analizadas (cont).

<i>Muestra</i>	<i>Origen</i>	<i>Cosecha</i>	<i>Nombre</i>	<i>Bodega</i>
103	Ribera del Duero	2001	Señorío de Nava	Señorío de Nava
104	Alicante	2001	Porta Regia	Valle del Carche
105	Alicante	2001	Terra Natura	A & M.Navarro
106	Rioja	2001	Larchago	Larchago
107	Castilla y León**	2001	Novo	Viñas Zamoranas
108	Toro	2001	Colegiata	Fariñas
109	Alicante	2001	Miguel Navarro	A & M.Nava
110	La Mancha	2001	Castillo Alhambra	Vinícola de Castilla
111	Ribera del Duero	2001	Viña Pedrosa	Hnos Pérez- Pascuas
112	Extremadura**	2001	Viñalange	Alvear
113	Toro	2001	Cermeño	S.Coop.Vino de Toro
114	Tierra de Castilla**	2001	Viñapeña	J.García Carrión
115	Valdepeñas	2001	Tinto Corte Inglés	Félix Solís
116	Somontano	2001	Viñas del Vero	Viñas del Vero
117	Valdepeñas	2001	Viña Albali	Viña Albali
118	Rioja	2001	Erre Punto	F.Remirez Gamuza
119	Ribera del Duero	2001	Finca Resalso	Emilio Moro
120	Toro	2001	Bajoz	Viña Bajoz S.Coop.
121	Rioja	2001	Viña Tobia	Óscar Tobia López
122	Rioja	2001	Luberri	Monje Amestoy
123	Rioja	2001	Ostatu	Ostatu
124	Huelva	2001	Tempranillo*	Coop. Vinicola
125	Huelva	2002	Tempranillo*	CRDO Condado

\* Vino tinto no comercializado

\*\* No acogido a Denominación de Origen (D.O.)

Tabla 2. Valores de pH y acidez total (g/L).

Muestra	pH	Acidez total	Muestra	pH	Acidez total
1	3,52	4,81	37	3,54	3,73
2	3,56	4,53	38	3,44	3,85
3	3,55	5,13	39	3,24	4,62
4	3,67	3,73	40	3,20	4,64
5	3,63	5,15	41	3,55	3,52
6	3,39	5,03	42	3,70	3,55
7	3,40	5,03	43	3,40	4,31
8	3,94	4,37	44	3,45	4,18
9	3,70	4,55	45	3,25	4,21
10	3,60	4,67	46	3,70	3,72
11	3,34	5,27	47	3,50	4,18
12	3,54	4,30	48	3,50	3,95
13	3,41	4,91	49	3,50	3,92
14	3,74	4,99	50	3,42	5,43
15	3,73	4,55	51	3,58	4,75
16	3,47	4,46	52	3,60	5,03
17	3,40	5,41	53	3,55	4,75
18	3,41	4,49	54	3,19	5,63
19	3,50	5,01	55	3,53	4,38
20	3,70	4,41	56	3,19	5,19
21	3,61	4,17	57	3,50	4,75
22	3,57	4,41	58	3,40	4,95
23	3,87	3,77	59	3,60	4,63
24	3,39	4,97	60	3,46	4,34
25	3,29	5,49	61	3,83	4,18
26	3,58	5,17	62	3,62	5,07
27	4,09	4,41	63	3,56	4,99
28	3,75	4,17	64	3,77	4,83
29	3,48	4,85	65	3,70	4,83
30	3,44	5,41	66	3,40	4,83
31	3,54	4,85	67	3,29	4,72
32	3,61	4,77	68	3,47	4,46
33	3,56	4,77	69	3,46	4,61
34	3,64	4,57	70	3,74	4,12
35	3,82	4,01	71	3,47	4,68
36	3,55	4,53	72	4,02	5,25

Tabla 2. Valores de pH y acidez total (g/L) (cont).

Muestra	pH	Acidez total	Muestra	pH	Acidez total
73	3,99	4,31	100	3,83	4,06
74	3,47	5,14	101	3,31	5,65
75	3,64	5,01	102	3,39	5,16
76	3,65	4,93	103	3,60	5,31
77	3,43	5,61	104	3,30	5,73
78	3,38	5,76	105	3,45	5,16
79	3,69	4,29	106	3,33	5,20
80	3,89	3,98	107	3,33	4,89
81	3,56	5,27	108	3,56	4,97
82	3,61	5,01	109	3,41	4,78
83	3,49	5,16	110	3,51	4,85
84	3,75	4,51	111	3,78	4,44
85	3,55	4,93	112	3,58	5,31
86	3,68	4,70	113	3,75	4,97
87	3,60	4,55	114	3,52	5,12
88	3,57	5,16	115	3,38	5,16
89	3,71	4,78	116	3,57	5,54
90	3,73	5,16	117	3,42	4,93
91	3,48	4,93	118	3,69	4,63
92	3,35	5,69	119	3,65	5,08
93	3,70	4,48	120	3,25	5,54
94	3,93	4,32	121	3,96	4,17
95	3,63	4,91	122	3,68	4,85
96	3,45	4,97	123	3,69	4,48
97	3,65	3,79	124	3,88	5,11
98	3,47	4,99	125	3,90	5,69
99	3,69	4,50			

Tabla 3. Valores de SO<sub>2</sub> libre y total (mg/L).

Muestra	SO <sub>2</sub> libre	SO <sub>2</sub> total	Muestra	SO <sub>2</sub> libre	SO <sub>2</sub> total
1	28,8	34,4	37	12,8	17,6
2	17,6	28,8	38	14,4	37,8
3	16,0	24,8	39	14,4	19,2
4	14,4	24,0	40	22,4	23,2
5	27,2	35,2	41	11,2	17,6
6	28,8	52,6	42	17,6	22,4
7	27,2	48,0	43	25,6	30,4
8	17,6	36,8	44	11,2	19,2
9	19,2	20,0	45	16,0	34,4
10	20,8	30,4	46	14,4	20,8
11	22,4	100,8	47	20,8	43,2
12	32,0	44,8	48	43,2	43,2
13	14,4	49,6	49	22,4	29,6
14	24,0	28,8	50	38,4	57,6
15	22,4	32,0	51	27,2	41,6
16	17,6	35,2	52	51,2	54,4
17	17,6	23,2	53	24,0	31,2
18	24,0	35,2	54	19,2	68,8
19	25,6	54,4	55	27,2	48,0
20	27,2	30,4	56	24,0	57,6
21	20,8	24,0	57	24,0	44,8
22	19,2	20,0	58	35,2	36,8
23	25,6	27,2	59	17,6	62,4
24	20,8	22,4	60	20,8	72,0
25	28,8	28,8	61	17,6	28,8
26	16,0	21,6	62	32,0	33,6
27	40,0	56,0	63	14,4	62,4
28	24,0	24,0	64	16,0	48,0
29	16,0	20,0	65	22,4	96,0
30	25,6	28,8	66	19,2	77,8
31	12,8	28,8	67	19,2	25,6
32	28,8	46,4	68	22,4	35,2
33	33,6	68,0	69	22,4	51,2
34	17,6	35,2	70	25,6	28,8
35	38,4	38,4	71	16,0	20,0
36	19,2	35,1	72	25,6	32,0

Tabla 3. Valores de SO<sub>2</sub> libre y total (mg/L) (cont).

Muestra	SO <sub>2</sub> libre	SO <sub>2</sub> total	Muestra	SO <sub>2</sub> libre	SO <sub>2</sub> total
73	41,6	41,6	100	25,6	73,6
74	35,2	35,2	101	32,0	91,2
75	38,4	41,6	102	16,0	64,0
76	22,4	33,6	103	44,8	48,0
77	36,8	35,2	104	28,8	54,4
78	12,8	29,6	105	25,6	41,6
79	19,2	41,6	106	30,4	81,6
80	19,2	32,0	107	19,2	28,4
81	14,4	38,4	108	27,2	41,6
82	24,0	19,2	109	19,2	43,2
83	24,0	32,0	110	22,4	48,0
84	9,6	19,2	111	36,4	45,4
85	12,8	32,0	112	20,8	62,4
86	12,8	27,2	113	44,8	48,0
87	16,0	28,8	114	16,0	36,8
88	16,0	99,2	115	12,8	67,2
89	16,0	44,8	116	25,6	44,8
90	32,0	44,8	117	25,6	26,8
91	25,6	32,0	118	22,4	53,6
92	19,2	26,8	119	28,8	38,4
93	19,2	16,0	120	28,8	48,0
94	19,2	19,2	121	32,0	48,0
95	9,6	40,0	122	25,6	41,6
96	12,8	31,2	123	32,0	32,8
97	38,4	32,8	124	25,6	38,4
98	30,4	36,8	125	19,2	38,4
99	32,0	32,0			

Tabla 4. Valores de fenoles totales (mg/L).

Muestra	A <sub>280</sub>	Fenoles totales	Muestra	A <sub>280</sub>	Fenoles totales
1	0.2708	1205	37	0.4082	1758
2	0.3069	1350	38	0.4084	1759
3	0.3111	1367	39	0.4109	1769
4	0.3203	1404	40	0.4198	1805
5	0.3252	1424	41	0.4212	1811
6	0.3254	1425	42	0.4213	1811
7	0.3255	1425	43	0.4270	1834
8	0.3281	1435	44	0.4280	1838
9	0.3357	1466	45	0.4283	1839
10	0.3369	1471	46	0.4285	1840
11	0.3442	1500	47	0.4290	1842
12	0.3442	1500	48	0.4294	1844
13	0.3496	1522	49	0.4331	1859
14	0.3520	1532	50	0.4350	1866
15	0.3522	1533	51	0.4351	1867
16	0.3558	1547	52	0.4390	1882
17	0.3642	1581	53	0.4401	1887
18	0.3660	1588	54	0.4410	1891
19	0.3678	1596	55	0.4425	1897
20	0.3690	1600	56	0.4484	1920
21	0.3720	1612	57	0.4492	1924
22	0.3761	1629	58	0.4521	1935
23	0.3770	1632	59	0.4544	1944
24	0.3773	1634	60	0.4567	1954
25	0.3793	1642	61	0.4569	1955
26	0.3810	1649	62	0.4616	1974
27	0.3900	1685	63	0.4628	1978
28	0.3932	1698	64	0.4655	1989
29	0.3966	1712	65	0.4655	1989
30	0.3991	1722	66	0.4719	2015
31	0.3995	1723	67	0.4756	2030
32	0.4007	1728	68	0.4794	2045
33	0.4028	1737	69	0.4821	2056
34	0.4032	1738	70	0.4855	2070
35	0.4037	1740	71	0.4864	2074
36	0.4064	1751	72	0.4898	2087

Tabla 4. Valores de fenoles totales (mg/L) (cont).

<b>Muestra</b>	<b>A<sub>280</sub></b>	<b>Fenoles totales</b>	<b>Muestra</b>	<b>A<sub>280</sub></b>	<b>Fenoles totales</b>
73	0.4925	2098	100	0.5474	2320
74	0.4925	2098	101	0.5525	2340
75	0.4927	2099	102	0.5553	2351
76	0.4935	2102	103	0.5578	2361
77	0.4996	2127	104	0.5590	2366
78	0.5011	2133	105	0.5613	2376,
79	0.5064	2154	106	0.5636	2385
80	0.5071	2157	107	0.5638	2385
81	0.5074	2158	108	0.5665	2397
82	0.5076	2159	109	0.5668	2398
83	0.5121	2177	110	0.5738	2426
84	0.5143	2186	111	0.5768	2438
85	0.5198	2208	112	0.5773	2440
86	0.5210	2213	113	0.5791	2447
87	0.5220	2217	114	0.5802	2452
88	0.5264	2235	115	0.5857	2474
89	0.5275	2239	116	0.5857	2474
90	0.5285	2243	117	0.5864	2477
91	0.5301	2250	118	0.5932	2504
92	0.5308	2252	119	0.6055	2554
93	0.5317	2256	120	0.6060	2556
94	0.5367	2276	121	0.6142	2589,
95	0.5395	2288	122	0.6182	2605
96	0.5402	2291	123	0.6219	2620
97	0.5407	2293	124	0.6228	2624
98	0.5421	2298	125	0.7418	3103
99	0.5457	2313			

Tabla 5. Resultados del examen organoléptico.

Muestra	Intensidad Colorante (%)	desv	Matiz	desv
1	88.1	10.0	50.0	12.0
2	47.6	9.1	70.0	7.6
3	64.6	12.4	72.5	4.3
4	55.6	24.8	70.0	8.2
5	85.7	5.0	15.0	7.6
6	33.3	7.6	82.5	11.6
7	71.4	10.2	36.3	9.2
8	50.0	13.2	65.0	9.3
9	69.0	9.1	43.8	10.6
10	73.8	7.1	43.8	7.4
11	38.1	12.6	77.1	16.4
12	75.0	6.3	52.5	10.0
13	58.3	14.0	46.3	4.8
14	74.1	7.6	51.1	9.9
15	57.4	9.2	77.8	4.2
16	50.0	9.6	64.3	15.0
17	69.0	9.1	28.6	11.2
18	69.0	9.1	40.0	9.3
19	54.8	6.5	42.9	7.0
20	78.6	10.0	28.6	11.2
21	85.7	11.9	32.9	8.8
22	69.0	9.1	28.6	11.2
23	71.4	12.6	31.4	8.3
24	64.3	9.1	27.1	14.8
25	81.0	9.1	35.7	7.3
26	95.2	6.5	18.6	9.9
27	95.2	6.5	18.6	9.9
28	85.4	7.5	20.0	5.0
29	64.3	9.1	41.4	12.5
30	91.7	6.3	13.8	7.0
31	89.6	10.7	57.5	4.3
32	85.4	7.5	23.8	16.5
33	89.6	8.7	16.3	9.9
34	89.6	8.7	45.0	15.0
35	64.6	13.2	16.3	8.6

Tabla 5. Resultados del examen organoléptico (cont).

Muestra	Intensidad Colorante (%)	desv	Matiz	desv
36	83.3	8.8	56.3	8.6
37	66.7	19.2	48.6	9.4
38	58.3	16.0	55.7	5.3
39	66.7	16.7	61.4	9.0
40	88.9	12.4	28.6	17.7
41	77.8	24.8	64.3	14.7
42	83.3	9.1	34.4	8.3
43	64.8	8.2	47.8	10.3
44	70.4	12.6	45.6	9.6
45	31.5	6.3	63.3	10.5
46	94.4	5.2	22.2	6.3
47	66.7	10.5	46.7	9.4
48	63.0	13.6	22.2	9.2
49	76.2	7.1	42.9	4.5
50	68.5	9.7	58.8	15.2
51	81.5	8.2	28.8	3.1
52	81.5	8.2	22.5	9.1
53	74.1	7.6	32.5	6.2
54	59.3	10.6	58.8	16.6
55	55.6	7.4	50.0	15.6
56	50.0	11.7	45.0	9.4
57	64.6	9.8	27.5	6.6
58	70.8	10.4	36.3	7.0
59	25.0	8.8	80.0	7.1
60	72.9	8.7	72.5	9.7
61	61.1	11.4	0.0	0.0
62	90.7	10.4	65.6	9.0
63	31.5	6.3	23.3	6.7
64	38.9	7.4	66.7	8.2
65	37.0	7.0	78.9	13.8
66	37.0	8.7	60.0	9.4
67	77.8	7.9	30.0	0.0
68	58.3	16.0	48.3	12.1
69	69.4	17.8	41.7	10.7
70	50.0	9.6	60.0	12.9

Tabla 5. Resultados del examen organoléptico (cont).

Muestra	Intensidad Colorante (%)	desv	Matiz	desv
71	63.9	11.5	43.3	4.7
72	69.0	11.9	32.9	8.8
73	52.4	14.1	37.1	7.0
74	71.4	10.0	31.4	12.5
75	71.4	12.6	38.6	11.2
76	45.2	14.7	74.3	7.3
77	42.9	10.4	74.3	9.0
78	90.5	7.1	32.9	11.6
79	57.1	7.1	55.7	7.3
80	76.2	10.4	51.4	6.4
81	50.0	7.6	71.4	6.4
82	66.7	14.0	58.8	10.5
83	25.0	8.8	83.8	8.6
84	91.7	6.3	32.5	12.0
85	45.8	8.3	61.3	10.5
86	77.1	12.4	57.5	9.7
87	41.7	6.3	73.8	7.0
88	33.3	6.3	75.0	8.7
89	56.3	8.7	31.3	10.5
90	89.6	6.1	28.8	10.5
91	58.3	10.8	45.0	10.0
92	43.8	8.7	48.8	9.3
93	47.9	4.1	65.0	8.7
94	58.3	8.8	63.8	11.1
95	88.9	5.2	22.2	9.2
96	90.5	10.4	18.6	9.9
97	86.1	15.0	24.3	7.9
98	77.8	12.4	21.7	3.7
99	50.0	9.6	25.0	9.6
100	77.1	8.7	33.8	12.2
101	58.3	10.8	35.0	8.7
102	68.8	11.6	43.8	7.0

Tabla 5. Resultados del examen organoléptico (cont).

Muestra	Intensidad Colorante (%)	desv	Matiz	desv
103	59.5	15.0	41.4	8.3
104	54.8	18.3	28.6	8.3
105	81.0	9.1	21.4	6.4
106	45.2	12.6	62.9	10.3
107	76.2	12.9	30.0	14.1
108	81.0	9.1	50.0	13.1
109	95.2	6.5	18.6	8.3
110	78.6	14.7	32.9	8.8
111	78.6	14.7	22.9	8.8
112	81.0	5.0	31.4	11.2
113	92.9	7.1	30.0	12.0
114	57.1	15.0	65.7	4.9
115	35.7	9.1	74.3	4.9
116	88.1	10.0	18.6	6.4
117	71.4	10.0	37.1	11.6
118	100.0	15.3	24.3	9.0
119	77.1	10.7	22.5	9.7
120	97.6	16.3	42.9	12.8
121	62.5	8.3	48.8	15.4
122	77.1	8.7	23.8	9.9
123	66.7	8.8	37.5	6.6
124	90.5	7.1	18.6	6.4
125	57.1	12.9	35.7	18.4

Tabla 6. Parámetros cromáticos CIELAB de los vinos analizados para cubeta de 2 mm.

Muestra	Claridad	Coordenadas		Croma	Tono
	L*	a*	b*	C* <sub>ab</sub>	h <sub>ab</sub>
1	56.95	38.64	12.04	40.47	17.30
2	71.26	26.55	13.55	29.81	27.05
3	74.00	23.11	18.13	29.38	38.12
4	68.64	28.34	14.08	31.65	26.41
5	60.14	37.19	8.85	38.23	13.39
6	72.48	24.88	19.29	31.48	37.78
7	60.23	37.15	14.65	39.93	21.53
8	70.84	28.62	15.12	32.37	27.84
9	63.39	31.99	14.48	35.11	24.35
10	70.27	26.99	11.66	29.40	23.36
11	72.92	27.55	15.39	31.56	29.20
12	66.86	29.13	18.16	34.33	31.94
13	71.48	26.29	12.68	29.19	25.75
14	56.94	36.70	19.70	41.66	28.22
15	71.48	25.75	18.06	31.46	35.04
16	70.89	26.61	12.17	29.26	24.59
17	60.58	42.13	3.25	42.26	4.42
18	65.29	35.20	6.70	35.83	10.78
19	68.29	32.23	5.34	32.66	9.40
20	58.95	38.48	5.51	38.87	8.14
21	54.68	42.16	7.77	42.87	10.44
22	64.88	36.32	2.70	36.42	4.25
23	68.05	30.14	4.44	30.47	8.39
24	60.09	42.51	3.97	42.69	5.34
25	56.88	41.85	9.76	42.97	13.13
26	36.47	57.16	8.93	57.85	8.88
27	48.90	40.67	7.06	41.28	9.85
28	55.88	41.31	3.95	41.50	5.46
29	64.81	35.43	6.74	36.07	10.77
30	61.09	39.37	6.23	39.86	8.99
31	63.53	33.52	13.75	36.23	22.31
32	65.41	33.62	7.68	34.49	12.86

Tabla 6. Parámetros cromáticos CIELAB de los vinos analizados para cubeta de 2 mm.  
(cont)

Muestra	Claridad	Coordenadas		Croma	Tono
	L*	a*	b*	C* <sub>ab</sub>	h <sub>ab</sub>
33	63.87	35.34	7.17	36.06	11.47
34	69.89	28.03	6.93	28.88	13.89
35	64.53	35.98	6.16	36.51	9.71
36	73.65	25.10	9.75	26.93	21.23
37	69.63	28.53	9.64	30.11	18.67
38	71.60	27.27	8.57	28.59	17.45
39	71.66	28.18	9.21	29.64	18.10
40	52.95	46.53	9.67	47.52	11.74
41	64.79	31.51	8.71	32.69	15.46
42	62.58	35.36	9.08	36.51	14.41
43	64.28	33.15	11.66	35.14	19.38
44	67.70	31.70	7.96	32.69	14.10
45	81.62	18.17	9.12	20.33	26.66
46	56.84	37.43	5.53	37.83	8.41
47	72.24	28.08	8.33	29.29	16.52
48	68.72	30.71	3.52	30.91	6.54
49	61.60	35.89	8.80	36.96	13.78
50	69.28	28.02	13.10	30.93	25.05
51	64.27	32.89	10.74	34.60	18.09
52	64.98	33.78	8.60	34.85	14.28
53	69.40	29.31	9.36	30.77	17.72
54	69.63	30.87	13.49	33.69	23.60
55	71.24	27.82	13.19	30.79	25.37
56	79.06	21.93	7.52	23.19	18.93
57	69.06	30.85	8.94	32.12	16.16
58	69.98	29.12	12.35	31.63	22.98
59	84.22	14.27	10.64	17.80	36.71
60	71.62	24.82	17.86	30.58	35.73
61	64.41	25.19	13.76	28.70	28.65
62	41.67	50.09	10.91	51.26	12.28
63	76.58	23.09	11.38	25.74	26.24
64	75.93	24.12	12.88	27.34	28.10

Tabla 6. Parámetros cromáticos CIELAB de los vinos analizados para cubeta de 2 mm.  
(cont)

Muestra	Claridad	Coordenadas		Croma	Tono
	L*	A*	b*	C* <sub>ab</sub>	h <sub>ab</sub>
65	75.42	23.79	14.74	27.99	31.79
66	80.58	19.46	10.03	21.90	27.26
67	59.52	37.30	9.99	38.61	15.00
68	65.70	32.51	11.99	34.65	20.25
69	71.27	27.82	11.05	29.94	21.66
70	64.32	32.78	11.65	34.79	19.57
71	67.96	30.26	8.44	31.42	15.59
72	68.31	28.73	10.55	30.60	20.17
73	71.88	25.78	9.68	27.54	20.59
74	66.15	34.31	10.30	35.82	16.70
75	70.75	29.96	10.70	31.81	19.65
76	73.80	25.94	15.00	29.96	30.05
77	72.17	23.93	14.43	27.94	31.10
78	58.06	41.61	15.86	44.53	20.86
79	70.17	27.16	11.22	29.38	22.44
80	64.85	31.68	13.58	34.47	23.21
81	67.04	29.63	17.77	34.55	30.95
82	68.80	27.27	13.83	30.58	26.88
83	80.61	17.71	14.74	23.04	39.77
84	62.48	31.35	11.49	33.39	20.13
85	70.99	26.63	12.69	29.50	25.48
86	64.51	32.17	16.10	35.98	26.59
87	74.23	24.97	16.96	30.18	34.18
88	72.85	23.66	14.59	27.80	31.66
89	66.06	30.99	8.03	32.02	14.52
90	54.07	40.49	13.10	42.55	17.93
91	63.96	33.16	9.58	34.52	16.11
92	68.36	31.02	10.37	32.71	18.48
93	69.86	27.92	11.81	30.31	22.92
94	65.82	32.18	14.41	35.26	24.13
95	45.35	49.66	10.94	50.85	12.42

Tabla 6. Parámetros cromáticos CIELAB de los vinos analizados para cubeta de 2 mm.  
(cont)

Muestra	Claridad	Coordenadas		Croma	Tono
	L*	a*	b*	C* <sub>ab</sub>	h <sub>ab</sub>
96	53.81	52.10	3.39	52.21	3.72
97	54.05	46.40	1.12	46.41	1.38
98	61.42	38.94	8.35	39.83	12.11
99	58.20	38.55	10.09	39.85	14.66
100	71.68	25.87	11.63	28.37	24.20
101	70.96	31.43	10.78	33.23	18.93
102	73.11	28.92	11.20	31.01	21.18
103	60.05	40.79	8.52	41.67	11.80
104	58.13	44.94	6.57	45.42	8.32
105	48.45	46.96	10.05	48.03	12.08
106	68.75	29.71	9.43	31.17	17.62
107	55.67	39.99	7.67	40.72	10.85
108	62.61	35.48	9.43	36.71	14.88
109	46.16	46.83	9.98	47.89	12.03
110	59.01	41.58	7.10	42.18	9.68
111	53.74	42.25	9.11	43.22	12.17
112	59.22	38.57	8.46	39.49	12.37
113	56.53	40.74	9.19	41.76	12.72
114	60.45	36.34	13.36	38.72	20.19
115	80.31	20.30	9.21	22.29	24.40
116	53.14	45.12	7.49	45.73	9.42
117	64.85	36.83	5.86	37.30	9.04
118	61.05	37.25	5.22	37.61	7.98
119	58.86	38.99	8.86	39.98	12.81
120	66.23	34.99	6.45	35.58	10.45
121	65.89	28.42	11.39	30.62	21.83
122	58.81	40.26	6.75	40.83	9.51
123	59.87	35.86	11.55	37.67	17.86
124	47.15	43.67	8.43	44.48	10.93
125	55.79	31.37	8.60	32.52	15.33

Tabla 7. Parámetros cromáticos CIELUV de los vinos analizados para cubeta de 2 mm.

Muestra	Claridad	Coordenadas		Croma	Tono	Saturación
	L*	u*	v*	C* <sub>uv</sub>	h <sub>uv</sub>	S <sub>uv</sub>
1	56.95	65.83	8.25	66.35	7.15	1.17
2	71.26	48.61	13.54	50.47	15.57	0.71
3	74.00	46.23	20.24	50.47	23.64	0.68
4	68.64	51.64	13.68	53.42	14.84	0.78
5	60.14	61.57	4.81	61.75	4.47	1.03
6	72.48	49.70	21.17	54.02	23.07	0.75
7	60.23	65.63	11.92	66.70	10.29	1.11
8	70.84	52.99	15.07	55.09	15.87	0.78
9	63.39	57.33	13.06	58.80	12.83	0.93
10	70.27	47.99	10.95	49.22	12.86	0.70
11	72.92	51.60	15.78	53.96	17.00	0.74
12	66.86	55.41	18.40	58.39	18.37	0.87
13	71.48	47.64	12.48	49.25	14.68	0.69
14	56.94	67.75	17.44	69.96	14.44	1.23
15	71.48	50.27	19.39	53.88	21.10	0.75
16	70.89	47.76	11.73	49.18	13.80	0.69
17	60.58	65.54	-3.42	65.63	357.01	1.08
18	65.29	57.33	2.61	57.39	2.60	0.88
19	68.29	51.80	1.45	51.82	1.60	0.76
20	58.95	61.05	0.25	61.05	0.24	1.04
21	54.68	68.23	2.22	68.26	1.86	1.25
22	64.88	56.09	-2.98	56.16	356.96	0.87
23	68.05	47.77	0.66	47.78	0.79	0.70
24	60.09	66.67	-2.56	66.72	357.80	1.11
25	56.88	69.55	4.81	69.71	3.95	1.23
26	36.47	90.10	-0.62	90.11	359.61	2.47
27	48.90	64.17	1.49	64.19	1.33	1.31
28	55.88	64.05	-2.37	64.09	357.88	1.15
29	64.81	57.69	2.60	57.74	2.58	0.89
30	61.09	63.34	1.04	63.35	0.94	1.04
31	63.53	59.38	11.85	60.55	11.29	0.95
32	65.41	55.49	4.22	55.65	4.35	0.85

Tabla 7. Parámetros cromáticos CIELUV de los vinos analizados para cubeta de 2 mm (cont).

Muestra	Claridad	Coordenadas		Croma	Tono	Saturación
	L*	u*	v*	C* <sub>uv</sub>	h <sub>uv</sub>	S <sub>uv</sub>
33	63.87	57.75	3.16	57.84	3.13	0.91
34	69.89	46.35	4.48	46.57	5.52	0.67
35	64.53	58.12	1.71	58.15	1.69	0.90
36	73.65	43.92	8.96	44.83	11.53	0.61
37	69.63	49.02	7.98	49.67	9.24	0.71
38	71.60	46.43	6.88	46.94	8.43	0.66
39	71.66	48.33	7.55	48.92	8.87	0.68
40	52.95	76.78	3.49	76.86	2.60	1.45
41	64.79	52.73	5.98	53.07	6.47	0.82
42	62.58	59.03	5.58	59.30	5.40	0.95
43	64.28	57.41	9.38	58.17	9.28	0.91
44	67.70	52.80	5.05	53.04	5.47	0.78
45	81.62	33.05	9.74	34.45	16.42	0.42
46	56.84	59.04	0.47	59.04	0.46	1.04
47	72.24	47.62	6.40	48.04	7.66	0.67
48	68.72	48.06	-0.71	48.07	359.15	0.70
49	61.60	59.58	5.08	59.80	4.87	0.97
50	69.28	50.52	12.54	52.05	13.94	0.75
51	64.27	56.34	8.28	56.95	8.36	0.89
52	64.98	56.35	5.37	56.61	5.45	0.87
53	69.40	50.07	7.44	50.62	8.46	0.73
54	69.63	55.48	12.46	56.87	12.65	0.82
55	71.24	50.44	12.81	52.05	14.25	0.73
56	79.06	37.74	6.71	38.33	10.08	0.48
57	69.06	52.24	6.56	52.65	7.15	0.76
58	69.98	51.87	11.39	53.10	12.38	0.76
59	84.22	28.08	12.69	30.82	24.32	0.37
60	71.62	48.64	19.35	52.35	21.70	0.73
61	64.41	45.93	13.68	47.92	16.59	0.74
62	41.67	81.19	3.37	81.26	2.38	1.95
63	76.58	42.02	11.66	43.61	15.51	0.57
64	75.93	44.62	13.40	46.59	16.72	0.61

Tabla 7. Parámetros cromáticos CIELUV de los vinos analizados para cubeta de 2 mm (cont).

Muestra	Claridad	Coordenadas		Croma	Tono	Saturación
	L*	u*	v*	C* <sub>uv</sub>	h <sub>uv</sub>	S <sub>uv</sub>
65	75.42	45.27	15.88	47.98	19.33	0.64
66	80.58	35.62	10.70	37.19	16.72	0.46
67	59.52	62.49	6.19	62.80	5.66	1.06
68	65.70	56.75	10.01	57.63	10.00	0.88
69	71.27	49.00	10.03	50.01	11.57	0.70
70	64.32	56.81	9.45	57.59	9.45	0.90
71	67.96	50.83	5.99	51.18	6.72	0.75
72	68.31	49.85	9.07	50.67	10.32	0.74
73	71.88	44.83	8.68	45.66	10.95	0.64
74	66.15	58.57	7.49	59.05	7.29	0.89
75	70.75	52.18	9.11	52.97	9.90	0.75
76	73.80	48.80	15.67	51.25	17.81	0.69
77	72.17	45.04	15.27	47.56	18.73	0.66
78	58.06	73.73	12.15	74.72	9.36	1.29
79	70.17	47.94	10.34	49.05	12.17	0.70
80	64.85	56.39	12.12	57.68	12.13	0.89
81	67.04	56.01	17.83	58.78	17.66	0.88
82	68.80	49.76	13.60	51.58	15.29	0.75
83	80.61	35.90	17.41	39.90	25.87	0.49
84	62.48	54.15	9.46	54.97	9.91	0.88
85	70.99	48.16	12.40	49.73	14.44	0.70
86	64.51	58.85	15.07	60.75	14.37	0.94
87	74.23	48.52	18.39	51.89	20.75	0.70
88	72.85	44.78	15.57	47.41	19.17	0.65
89	66.06	51.53	5.24	51.80	5.80	0.78
90	54.07	69.23	8.89	69.80	7.32	1.29
91	63.96	55.93	6.72	56.34	6.85	0.88
92	68.36	53.45	8.36	54.10	8.89	0.79
93	69.86	49.54	10.94	50.73	12.45	0.73
94	65.82	57.88	13.10	59.35	12.76	0.90
95	45.35	81.50	3.78	81.59	2.65	1.80

Tabla 7. Parámetros cromáticos CIELUV de los vinos analizados para cubeta de 2 mm (cont).

Muestra	Claridad	Coordenadas		Croma	Tono	Saturación
	L*	u*	v*	C* <sub>uv</sub>	h <sub>uv</sub>	S <sub>uv</sub>
96	53.81	81.41	-5.37	81.58	356.23	1.52
97	54.05	69.87	-7.05	70.23	354.23	1.30
98	61.42	64.28	3.86	64.40	3.43	1.05
99	58.20	64.47	5.98	64.74	5.30	1.11
100	71.68	46.28	11.21	47.62	13.62	0.66
101	70.96	54.65	8.92	55.38	9.27	0.78
102	73.11	51.03	10.08	52.02	11.18	0.71
103	60.05	67.31	3.63	67.40	3.09	1.12
104	58.13	72.52	0.23	72.52	0.19	1.25
105	48.45	76.91	3.60	76.99	2.68	1.59
106	68.75	50.71	7.43	51.25	8.34	0.75
107	55.67	64.69	2.59	64.74	2.29	1.16
108	62.61	59.48	6.00	59.78	5.76	0.95
109	46.16	76.11	3.41	76.18	2.57	1.65
110	59.01	67.40	1.63	67.42	1.39	1.14
111	53.74	69.23	3.80	69.34	3.14	1.29
112	59.22	63.44	4.00	63.57	3.61	1.07
113	56.53	67.21	4.34	67.35	3.69	1.19
114	60.45	63.41	10.57	64.29	9.46	1.06
115	80.31	36.38	9.39	37.57	14.48	0.47
116	53.14	72.71	1.19	72.72	0.94	1.37
117	64.85	59.33	1.16	59.35	1.12	0.92
118	61.05	59.08	0.17	59.08	0.16	0.97
119	58.86	64.39	4.40	64.54	3.91	1.10
120	66.23	56.91	2.34	56.96	2.36	0.86
121	65.89	49.69	10.10	50.71	11.49	0.77
122	58.81	64.91	1.46	64.93	1.29	1.10
123	59.87	61.27	8.44	61.85	7.84	1.03
124	47.15	69.81	2.39	69.85	1.96	1.48
125	55.79	51.33	5.54	51.63	6.16	0.93

Tabla 8. Parámetros cromáticos CIELAB de los vinos analizados para cubeta de 10 mm.

Muestra	Claridad	Coordenadas		Croma	Tono
	L*	a*	b*	C* <sub>ab</sub>	h <sub>ab</sub>
1	14.46	45.57	24.59	51.78	28.35
2	26.50	52.73	40.35	66.40	37.43
3	29.63	51.69	45.65	68.96	41.45
4	23.28	51.03	37.11	63.10	36.03
5	16.92	48.20	28.11	55.80	30.25
6	28.20	52.53	45.07	69.22	40.63
7	17.10	47.86	28.98	55.95	31.20
8	26.83	52.80	42.11	67.53	38.58
9	18.33	48.28	30.61	57.17	32.38
10	24.69	51.36	37.12	63.37	35.86
11	30.40	55.88	46.44	72.66	39.73
12	21.41	49.47	35.60	60.95	35.74
13	26.45	52.26	39.47	65.49	37.06
14	13.50	43.76	23.16	49.51	27.90
15	27.07	53.00	43.31	68.45	39.26
16	25.49	51.59	38.15	64.17	36.48
17	20.27	52.90	32.60	62.14	31.64
18	22.37	53.19	34.81	63.57	33.20
19	23.93	52.76	33.59	62.55	32.48
20	16.31	47.85	26.88	54.89	29.33
21	13.64	44.88	23.13	50.49	27.27
22	21.58	52.43	31.69	61.26	31.15
23	22.52	51.44	30.87	59.99	30.97
24	19.67	51.82	31.97	60.89	31.67
25	16.10	47.68	27.30	54.94	29.80
26	6.22	35.09	10.72	36.69	16.98
27	8.63	39.04	14.77	41.74	20.72
28	13.96	45.10	23.27	50.75	27.29
29	21.63	52.43	33.85	62.40	32.85
30	18.66	49.70	30.40	58.26	31.45
31	18.86	48.64	31.38	57.88	32.83
32	20.75	50.26	32.33	59.76	32.75

Tabla 8. Parámetros cromáticos CIELAB de los vinos analizados para cubeta de 10 mm (cont).

Muestra	Claridad	Coordenadas		Croma	Tono
	L*	a*	b*	C* <sub>ab</sub>	h <sub>ab</sub>
33	20.15	50.75	32.03	60.01	32.26
34	24.43	52.32	33.59	62.17	32.70
35	20.85	51.29	32.44	60.69	32.31
36	28.57	51.58	36.76	63.34	35.48
37	24.27	51.61	35.80	62.82	34.75
38	27.02	53.81	36.82	65.20	34.39
39	27.65	54.36	38.43	66.58	35.26
40	13.79	45.05	23.56	50.83	27.61
41	18.76	47.94	29.66	56.37	31.75
42	18.24	48.52	29.77	56.92	31.53
43	19.70	49.70	32.25	59.25	32.97
44	23.67	53.37	35.70	64.21	33.78
45	41.71	51.60	35.50	62.64	34.53
46	12.26	41.93	20.35	46.61	25.89
47	28.48	54.60	37.89	66.46	34.76
48	23.54	51.92	30.60	60.27	30.52
49	18.24	49.43	30.05	57.84	31.30
50	23.55	50.03	36.76	62.09	36.31
51	20.24	51.13	33.00	60.85	32.84
52	21.05	51.44	33.45	61.36	33.04
53	24.17	51.61	35.65	62.73	34.64
54	26.21	53.84	41.19	67.78	37.42
55	27.12	53.60	41.22	67.62	37.56
56	38.22	56.56	34.89	66.45	31.67
57	24.95	53.51	37.10	65.12	34.74
58	26.03	53.93	40.08	67.19	36.62
59	46.27	44.64	37.22	58.13	39.82
60	26.07	50.12	41.40	65.01	39.56
61	13.77	39.03	22.40	45.00	29.85
62	6.89	36.31	11.87	38.20	18.10
63	33.64	53.54	40.77	67.29	37.29
64	34.05	57.18	45.23	72.91	38.35

Tabla 8. Parámetros cromáticos CIELAB de los vinos analizados para cubeta de 10 mm (cont).

Muestra	Claridad	Coordenadas		Croma	Tono
	L*	A*	b*	C* <sub>ab</sub>	h <sub>ab</sub>
65	32.52	54.40	45.94	71.20	40.18
66	40.29	53.45	38.22	65.70	35.57
67	16.10	47.01	26.95	54.19	29.83
68	21.88	52.25	35.55	63.19	34.23
69	27.12	54.23	39.72	67.22	36.22
70	20.64	51.92	33.87	61.99	33.12
71	22.81	51.59	34.26	61.93	33.59
72	22.86	51.37	35.16	62.25	34.38
73	26.59	52.49	36.74	64.07	34.99
74	23.82	55.02	38.13	66.94	34.72
75	28.44	57.81	42.37	71.67	36.24
76	31.64	57.78	47.27	74.65	39.28
77	25.76	48.79	38.68	62.26	38.41
78	17.69	49.64	30.22	58.11	31.33
79	24.59	51.57	36.76	63.33	35.48
80	19.34	48.35	31.83	57.89	33.35
81	22.00	50.41	36.50	62.23	35.91
82	22.36	48.81	35.31	60.25	35.89
83	39.91	50.36	45.82	68.09	42.30
84	15.44	43.89	25.42	50.72	30.08
85	25.77	51.87	38.88	64.83	36.85
86	19.97	49.63	33.40	59.82	33.94
87	31.21	54.40	47.42	72.17	41.08
88	27.37	50.83	40.78	65.16	38.74
89	20.82	50.53	32.22	59.93	32.52
90	12.91	44.18	22.10	49.40	26.58
91	18.66	48.07	30.10	56.72	32.06
92	24.26	53.10	37.40	64.95	35.16
93	24.82	52.49	37.82	64.69	35.77
94	21.55	51.23	35.48	62.31	34.70
95	9.75	40.72	16.79	44.04	22.41

Tabla 8. Parámetros cromáticos CIELAB de los vinos analizados para cubeta de 10 mm (cont).

Muestra	Claridad	Coordenadas		Croma	Tono
	L*	a*	b*	C* <sub>ab</sub>	h <sub>ab</sub>
96	16.82	48.86	28.38	56.50	30.15
97	14.45	46.26	24.10	52.16	27.52
98	19.66	51.39	32.43	60.77	32.26
99	15.50	46.72	26.13	53.54	29.22
100	26.81	53.26	39.11	66.08	36.29
101	29.25	57.87	43.51	72.40	36.94
102	31.58	58.43	44.72	73.58	37.43
103	18.85	50.54	31.41	59.51	31.86
104	19.14	51.74	32.03	60.85	31.75
105	10.70	41.95	18.37	45.80	23.65
106	23.06	50.09	34.47	60.80	34.53
107	13.65	44.81	23.07	50.40	27.24
108	18.54	48.81	30.37	57.49	31.89
109	9.04	39.89	15.54	42.81	21.29
110	17.98	49.84	29.93	58.13	30.98
111	13.21	44.69	22.52	50.04	26.74
112	16.38	47.47	27.33	54.78	29.93
113	14.97	46.45	25.34	52.91	28.62
114	17.04	47.79	28.75	55.77	31.03
115	40.23	54.86	37.51	66.46	34.36
116	14.08	46.09	23.99	51.95	27.50
117	22.87	54.29	35.59	64.91	33.25
118	17.56	48.65	28.32	56.29	30.20
119	16.60	48.05	27.83	55.53	30.07
120	23.61	54.70	36.02	65.49	33.36
121	18.73	46.95	29.89	55.66	32.48
122	16.97	48.59	28.23	56.20	30.15
123	15.19	45.09	25.48	51.80	29.47
124	7.71	37.64	13.23	39.90	19.37
125	7.88	35.47	13.18	37.84	20.38

Tabla 9. Parámetros cromáticos CIELUV de los vinos analizados para cubeta de 10 mm.

Muestra	Claridad	Coordenadas		Croma	Tono	Saturación
	L*	u*	v*	C* <sub>uv</sub>	h <sub>uv</sub>	S <sub>uv</sub>
1	14.46	63.22	9.21	63.88	8.29	4.42
2	26.50	93.61	17.98	95.32	10.87	3.60
3	29.63	95.88	21.94	98.36	12.89	3.32
4	23.28	86.76	15.79	88.19	10.31	3.79
5	16.92	71.92	10.65	72.70	8.42	4.30
6	28.20	96.27	20.80	98.49	12.19	3.49
7	17.10	72.06	11.25	72.93	8.87	4.26
8	26.83	94.67	18.88	96.54	11.28	3.60
9	18.33	74.78	12.14	75.76	9.22	4.13
10	24.69	88.45	16.17	89.91	10.36	3.64
11	30.40	104.52	21.49	106.70	11.62	3.51
12	21.41	81.91	14.98	83.27	10.36	3.89
13	26.45	92.37	17.70	94.05	10.85	3.56
14	13.50	58.62	8.81	59.28	8.55	4.39
15	27.07	95.69	19.44	97.64	11.48	3.61
16	25.49	89.92	16.90	91.50	10.64	3.59
17	20.27	85.31	12.32	86.19	8.22	4.25
18	22.37	88.75	13.84	89.83	8.86	4.01
19	23.93	88.79	13.89	89.87	8.89	3.75
20	16.31	70.02	10.00	70.73	8.13	4.34
21	13.64	60.35	8.53	60.94	8.04	4.47
22	21.58	85.21	12.27	86.09	8.19	3.99
23	22.52	83.98	12.41	84.90	8.41	3.77
24	19.67	82.58	12.16	83.47	8.38	4.24
25	16.10	69.81	10.30	70.57	8.39	4.38
26	6.22	29.70	3.69	29.93	7.08	4.81
27	8.63	40.18	5.19	40.52	7.35	4.70
28	13.96	61.10	8.52	61.69	7.94	4.42
29	21.63	86.32	13.37	87.34	8.80	4.04
30	18.66	77.28	11.70	78.16	8.61	4.19
31	18.86	76.25	12.53	77.27	9.33	4.10
32	20.75	81.09	12.94	82.12	9.06	3.96

Tabla 9. Parámetros cromáticos CIELUV de los vinos analizados para cubeta de 10 mm (cont).

Muestra	Claridad	Coordenadas		Croma	Tono	Saturación
	L*	u*	v*	C* <sub>uv</sub>	h <sub>uv</sub>	S <sub>uv</sub>
33	20.15	81.23	12.54	82.19	8.77	4.08
34	24.43	88.45	14.21	89.58	9.12	3.67
35	20.85	82.99	12.76	83.96	8.74	4.03
36	28.57	91.83	17.82	93.54	10.98	3.27
37	24.27	88.01	15.34	89.33	9.89	3.68
38	27.02	94.62	16.42	96.03	9.85	3.55
39	27.65	96.76	17.26	98.29	10.12	3.55
40	13.79	61.04	8.74	61.66	8.15	4.47
41	18.76	74.08	11.73	75.00	9.00	4.00
42	18.24	74.61	11.60	75.50	8.83	4.14
43	19.70	79.20	12.84	80.23	9.21	4.07
44	23.67	90.58	14.62	91.75	9.17	3.88
45	41.71	99.27	23.85	102.09	13.51	2.45
46	12.26	52.76	7.53	53.30	8.12	4.35
47	28.48	97.66	17.42	99.20	10.11	3.48
48	23.54	85.66	12.56	86.58	8.34	3.68
49	18.24	76.25	11.54	77.12	8.60	4.23
50	23.55	85.07	15.96	86.56	10.62	3.67
51	20.24	82.46	12.97	83.48	8.94	4.12
52	21.05	83.92	13.28	84.96	9.00	4.04
53	24.17	87.84	15.23	89.15	9.84	3.69
54	26.21	95.75	17.94	97.42	10.61	3.72
55	27.12	96.00	18.40	97.75	10.85	3.60
56	38.22	106.70	20.64	108.68	10.95	2.84
57	24.95	92.49	15.70	93.82	9.63	3.76
58	26.03	95.33	17.35	96.89	10.32	3.72
59	46.27	88.97	28.66	93.47	17.85	2.02
60	26.07	89.01	18.98	91.01	12.04	3.49
61	13.77	51.80	9.25	52.62	10.12	3.82
62	6.89	32.48	4.14	32.74	7.27	4.75
63	33.64	100.64	21.97	103.01	12.31	3.06
64	34.05	109.25	22.88	111.62	11.83	3.28

Tabla 9. Parámetros cromáticos CIELUV de los vinos analizados para cubeta de 10 mm (cont).

Muestra	Claridad	Coordenadas		Croma	Tono	Saturación
	L*	u*	v*	C* <sub>uv</sub>	h <sub>uv</sub>	S <sub>uv</sub>
65	32.52	103.05	22.92	105.57	12.54	3.25
66	40.29	103.33	24.36	106.16	13.26	2.64
67	16.10	68.56	10.24	69.32	8.49	4.31
68	21.88	87.05	14.33	88.22	9.35	4.03
69	27.12	96.58	17.58	98.17	10.32	3.62
70	20.64	84.61	13.31	85.64	8.94	4.15
71	22.81	86.06	14.11	87.21	9.31	3.82
72	22.86	86.14	14.62	87.37	9.63	3.82
73	26.59	91.85	16.52	93.33	10.20	3.51
74	23.82	94.75	15.38	95.99	9.22	4.03
75	28.44	105.27	18.33	106.85	9.88	3.76
76	31.64	109.30	21.94	111.48	11.35	3.52
77	25.76	85.35	17.98	87.22	11.89	3.39
78	17.69	76.19	11.56	77.06	8.62	4.36
79	24.59	88.59	15.91	90.00	10.18	3.66
80	19.34	76.44	12.90	77.52	9.58	4.01
81	22.00	84.41	15.32	85.79	10.29	3.90
82	22.36	81.38	15.21	82.79	10.59	3.70
83	39.91	100.20	28.81	104.26	16.04	2.61
84	15.44	62.23	10.02	63.03	9.15	4.08
85	25.77	90.93	17.26	92.56	10.75	3.59
86	19.97	79.92	13.53	81.06	9.61	4.06
87	31.21	102.61	22.71	105.09	12.48	3.37
88	27.37	90.97	19.06	92.95	11.83	3.40
89	20.82	81.56	12.83	82.56	8.94	3.96
90	12.91	57.83	8.12	58.39	7.99	4.52
91	18.66	74.44	11.93	75.39	9.11	4.04
92	24.26	91.33	15.69	92.67	9.75	3.82
93	24.82	90.85	16.25	92.30	10.14	3.72
94	21.55	84.98	14.49	86.21	9.68	4.00
95	9.75	45.37	5.95	45.76	7.47	4.69

Tabla 9. Parámetros cromáticos CIELUV de los vinos analizados para cubeta de 10 mm (cont).

Muestra	Claridad	Coordenadas		Croma	Tono	Saturación
	L*	u*	v*	C* <sub>uv</sub>	h <sub>uv</sub>	S <sub>uv</sub>
96	16.82	73.01	10.65	73.79	8.30	4.39
97	14.45	63.89	8.75	64.49	7.80	4.46
98	19.66	82.10	12.52	83.05	8.67	4.22
99	15.50	67.01	9.83	67.72	8.34	4.37
100	26.81	94.33	17.44	95.93	10.47	3.58
101	29.25	106.43	19.18	108.14	10.22	3.70
102	31.58	109.66	20.77	111.61	10.73	3.53
103	18.85	79.40	12.08	80.32	8.65	4.26
104	19.14	82.02	12.15	82.91	8.43	4.33
105	10.70	49.40	6.55	49.84	7.55	4.66
106	23.06	83.76	14.67	85.04	9.94	3.69
107	13.65	60.21	8.50	60.81	8.03	4.45
108	18.54	75.70	11.89	76.63	8.93	4.13
109	9.04	42.38	5.45	42.73	7.33	4.73
110	17.98	76.61	11.35	77.45	8.43	4.31
111	13.21	59.17	8.23	59.74	7.92	4.52
112	16.38	69.78	10.35	70.54	8.44	4.31
113	14.97	65.54	9.44	66.22	8.19	4.42
114	17.04	71.74	11.13	72.60	8.82	4.26
115	40.23	105.67	23.54	108.26	12.56	2.69
116	14.08	63.16	8.75	63.76	7.89	4.53
117	22.87	91.47	14.07	92.55	8.75	4.05
118	17.56	73.37	10.68	74.14	8.29	4.22
119	16.60	71.20	10.51	71.97	8.40	4.34
120	23.61	93.04	14.40	94.15	8.80	3.99
121	18.73	72.59	12.09	73.59	9.46	3.93
122	16.97	72.65	10.63	73.43	8.32	4.33
123	15.19	63.82	9.81	64.57	8.74	4.25
124	7.71	36.02	4.65	36.32	7.35	4.71
125	7.88	34.01	4.88	34.36	8.17	4.36

Tabla 10. Parámetros cromáticos CIELAB obtenidos a partir de la medida con cubeta de 2 mm en el espectrorradiómetro.

Muestra	Claridad	Coordenadas		Croma	Tono
	L*	a*	b*	C* <sub>ab</sub>	h <sub>ab</sub>
1	39.29	43.88	32.18	54.41	36.25
2	65.38	26.20	14.23	29.81	28.50
3	69.04	19.80	18.11	26.84	42.44
4	73.73	21.38	8.62	23.06	21.96
17	49.08	40.03	8.93	41.02	12.58
18	46.54	46.56	16.36	49.35	19.36
19	50.72	42.70	13.65	44.83	17.72
20	43.18	41.95	12.88	43.89	17.07
21	37.55	43.04	15.93	45.89	20.31
22	46.43	45.59	11.87	47.11	14.59
23	48.12	40.30	12.28	42.13	16.95
24	42.13	47.42	21.23	51.96	24.11
25	40.89	44.78	18.02	48.27	21.92
26	45.85	29.52	13.06	32.28	23.87
72	53.41	35.56	16.35	39.14	24.70
73	57.96	34.63	15.65	38.00	24.32
74	48.73	39.36	16.85	42.81	23.17
75	54.38	36.72	17.46	40.65	25.43
76	55.69	33.92	21.50	40.16	32.37
77	61.44	32.08	20.34	37.99	32.37
78	46.23	41.71	19.83	46.18	25.43
79	57.49	33.83	17.12	37.91	26.84
80	51.96	37.31	19.75	42.22	27.89
81	53.94	33.57	21.80	40.03	32.99
82	56.88	33.80	19.03	38.79	29.37
83	69.10	26.96	21.75	34.64	38.90
84	50.07	37.39	16.98	41.06	24.43
85	59.86	33.54	18.93	38.51	29.45
86	53.42	39.23	20.79	44.40	27.92
87	62.18	33.93	23.78	41.43	35.03
88	56.42	34.23	23.28	41.40	34.22
89	49.41	38.76	15.95	41.91	22.37

Tabla 10. Parámetros cromáticos CIELAB obtenidos a partir de la medida con cubeta de 2 mm en el espectrorradiómetro (cont).

Muestra	Claridad	Coordenadas		Croma	Tono
	L*	a*	b*	C* <sub>ab</sub>	h <sub>ab</sub>
90	41.29	39.23	19.11	43.63	25.97
91	50.62	40.06	18.44	44.10	24.72
92	54.39	40.23	25.58	47.67	32.45
93	54.20	36.61	20.39	41.90	29.11
94	49.52	39.23	23.31	45.63	30.72
96	39.13	50.41	18.19	53.59	19.85
97	75.63	11.31	1.36	11.40	6.84
100	55.68	31.58	16.00	35.40	26.86
101	56.24	38.78	17.30	42.46	24.04
102	59.48	37.33	11.41	39.03	17.00
106	54.98	38.80	17.63	42.62	24.44
107	42.58	41.72	15.65	44.55	20.56
108	48.36	40.74	17.11	44.19	22.78
109	34.85	39.15	16.48	42.47	22.83
110	43.48	44.85	16.95	47.95	20.70
111	39.94	42.47	17.88	46.07	22.83
112	43.45	41.80	16.76	45.04	21.85
113	41.55	42.55	18.21	46.28	23.17
114	46.99	40.43	20.67	45.41	27.08
115	67.82	31.00	16.42	35.08	27.92
116	40.27	42.05	13.85	44.28	18.23
117	48.46	43.13	15.61	45.87	19.89
118	46.94	41.66	13.97	43.94	18.54
119	44.63	42.46	17.90	46.08	22.86
120	51.92	41.64	15.90	44.57	20.90
121	49.88	37.15	18.64	41.57	26.65
122	43.77	42.62	16.14	45.57	20.74
123	47.33	41.00	19.74	45.51	25.71

Tabla 11. Parámetros cromáticos CIELAB obtenidos a partir de la medida con copa de vidrio en el espectrorradiómetro.

Muestra	Claridad	Coordenadas		Croma	Tono
	L*	a*	b*	C* <sub>ab</sub>	h <sub>ab</sub>
1	13.46	-38.83	149.11	154.08	104.60
2	23.70	-0.11	7.88	7.88	90.83
3	24.79	-32.65	217.43	219.87	98.54
4	29.33	-1.67	19.93	20.00	94.79
17	18.78	-1.15	7.72	7.80	98.49
18	21.60	1.17	3.73	3.91	72.62
19	18.48	0.13	5.85	5.85	88.77
20	19.23	0.61	4.12	4.16	81.63
21	23.10	1.07	4.20	4.33	75.69
22	33.10	2.40	3.97	4.64	58.88
23	29.35	0.97	7.68	7.74	82.82
24	18.84	-17.01	101.56	102.97	99.51
25	25.34	0.83	4.12	4.20	78.60
26	25.72	-8.63	71.09	71.62	96.92
72	27.32	3.40	5.74	6.67	59.39
73	29.97	6.56	5.87	8.81	41.84
74	26.37	0.37	12.57	12.57	88.30
75	25.89	1.34	13.02	13.09	84.12
76	24.06	0.86	13.92	13.95	86.45
77	36.95	4.16	3.49	5.43	40.03
78	36.23	1.67	2.60	3.09	57.31
79	29.61	-2.14	28.88	28.96	94.24
80	32.52	-1.18	20.81	20.85	93.24
81	30.40	-2.67	28.03	28.16	95.44
82	33.80	3.20	2.48	4.04	37.79
83	46.12	6.87	2.41	7.28	19.30
84	39.14	1.49	5.48	5.68	74.82
85	29.28	3.98	5.04	6.42	51.74
86	32.54	2.62	3.80	4.62	55.41
87	33.43	3.98	2.68	4.80	33.99
88	31.99	3.75	14.29	14.78	75.30
89	32.32	2.90	12.94	13.27	77.36

Tabla 11. Parámetros cromáticos CIELAB obtenidos a partir de la medida con copa de vidrio en el espectrorradiómetro (cont).

Muestra	Claridad	Coordenadas		Croma	Tono
	L*	a*	b*	C* <sub>ab</sub>	h <sub>ab</sub>
90	38.27	0.23	9.19	9.19	88.54
91	26.90	-24.88	219.48	220.89	96.47
92	12.82	-70.60	287.35	295.89	103.80
93	27.61	1.46	21.05	21.10	86.04
94	25.58	0.34	22.06	22.06	89.11
96	23.36	-0.91	14.43	14.46	93.59
97	40.30	2.62	-2.20	3.43	320.00
100	31.02	1.32	7.38	7.49	79.85
101	32.20	2.84	8.92	9.36	72.36
102	30.19	2.99	11.12	11.52	74.94
106	34.71	3.62	5.27	6.39	55.52
107	35.14	2.63	4.91	5.58	61.80
108	35.46	2.54	4.02	4.76	57.71
109	33.74	1.56	9.30	9.43	80.49
110	32.79	1.39	9.30	9.40	81.50
111	33.73	1.55	8.70	8.83	79.90
112	28.01	1.87	10.85	11.01	80.23
113	27.65	0.74	11.88	11.90	86.44
114	26.64	0.18	11.92	11.92	89.13
115	30.15	9.16	1.05	9.22	6.55
116	29.21	3.65	0.80	3.74	12.30
117	29.37	4.72	-0.89	4.81	349.32
118	27.47	-2.46	39.52	39.59	93.57
119	26.03	-3.02	37.07	37.19	94.65
120	28.40	2.17	36.05	36.12	86.56
121	31.79	1.23	10.08	10.16	83.02
122	28.95	1.22	9.48	9.56	82.68
123	28.15	-3.86	46.91	47.07	94.70

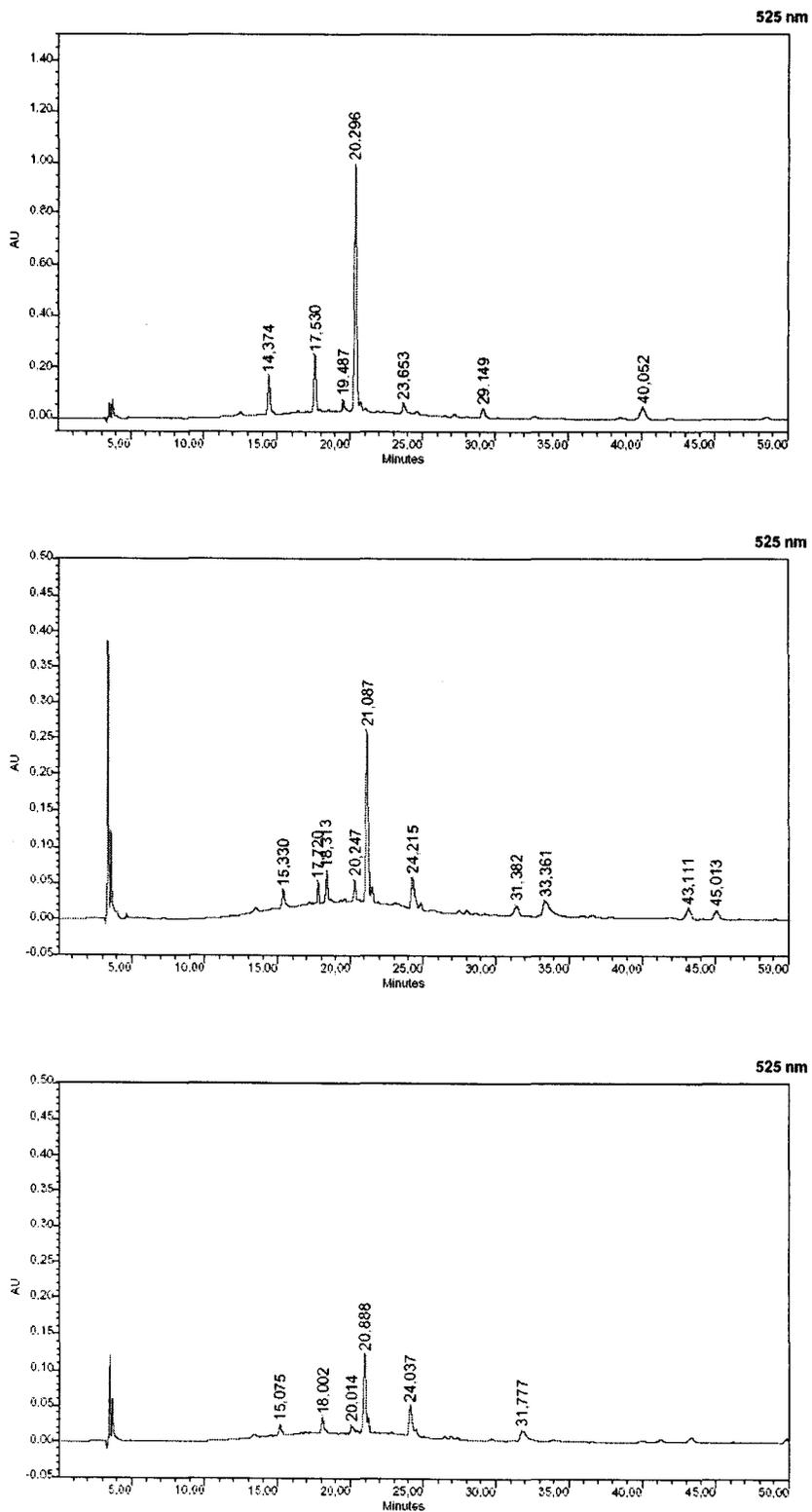


Figura 1. Cromatogramas de las muestras de vino tinto 1 a 3.

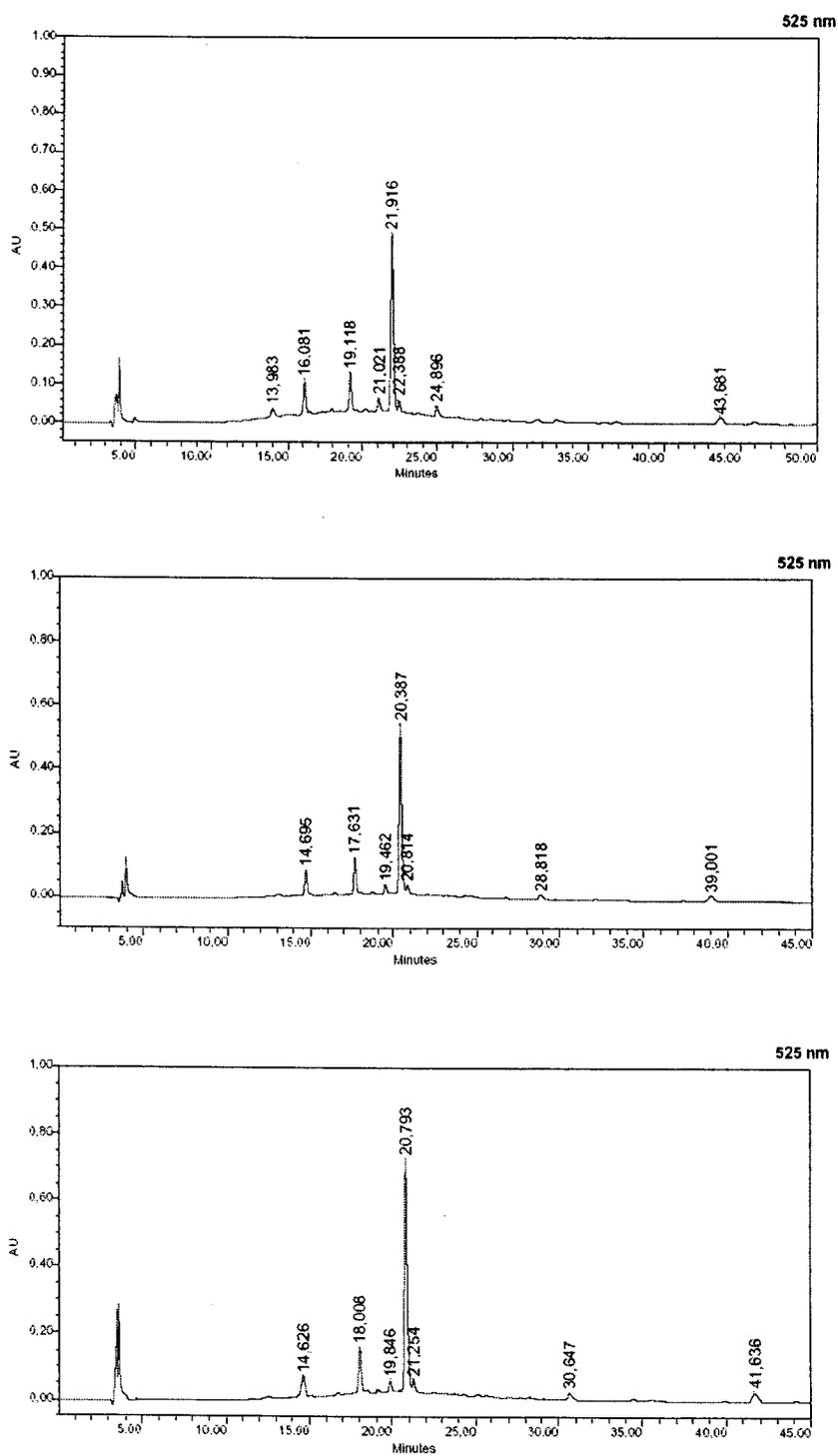


Figura 2. Cromatogramas de las muestras de vino tinto 4 a 6.

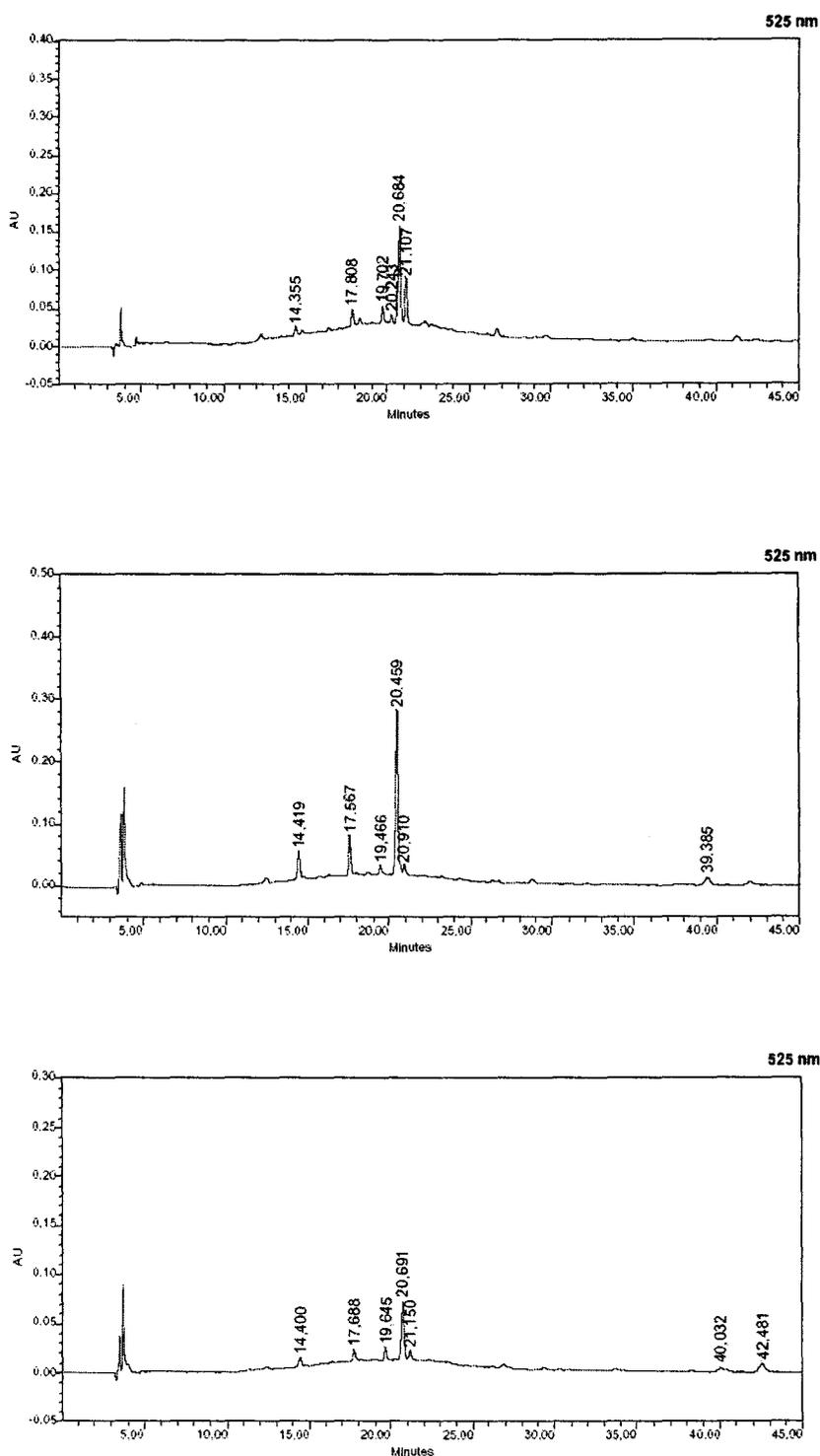


Figura 3. Cromatogramas de las muestras de vino tinto 7 a 9.

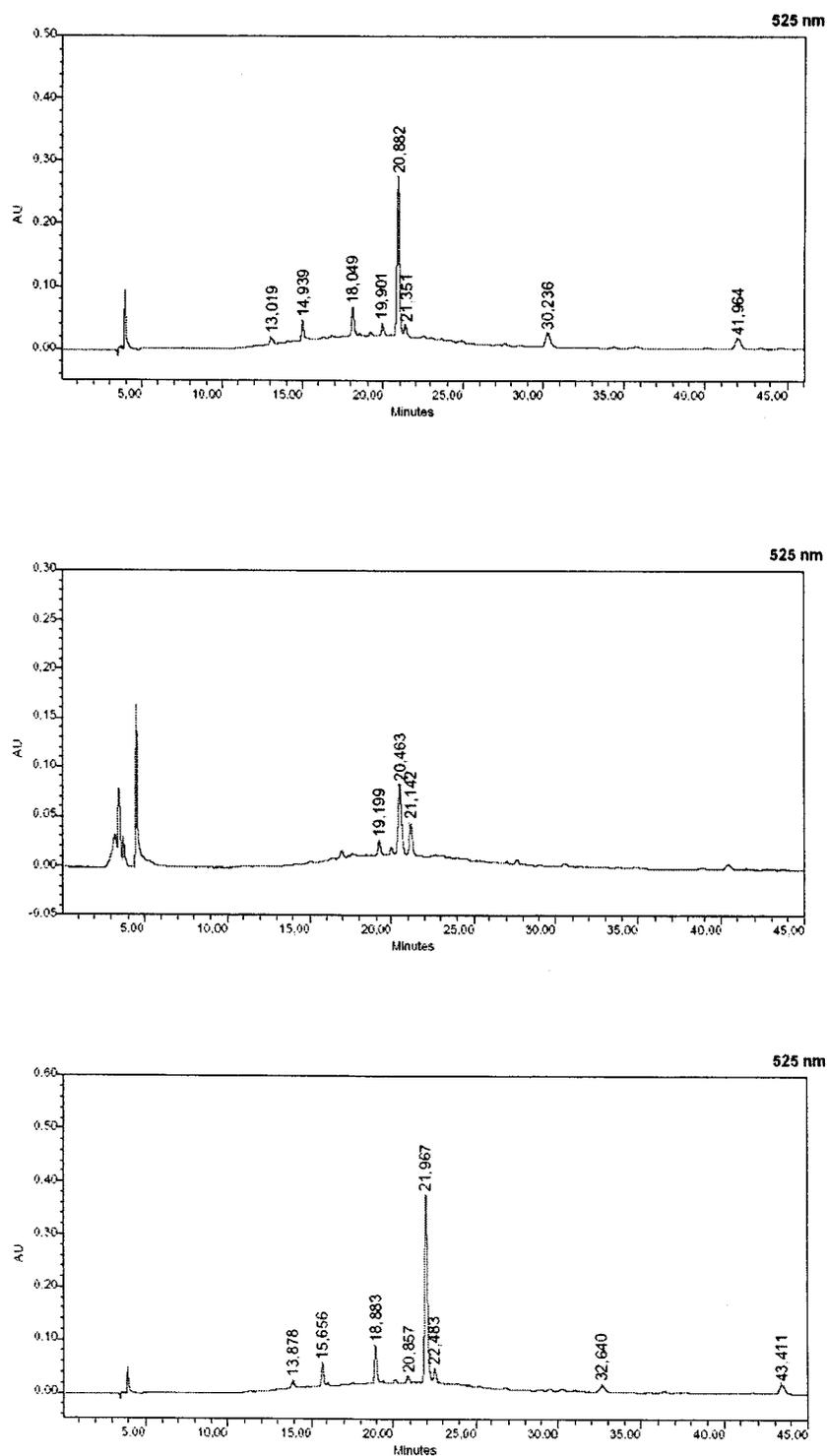


Figura 4. Cromatogramas de las muestras de vino tinto 10 a 12.

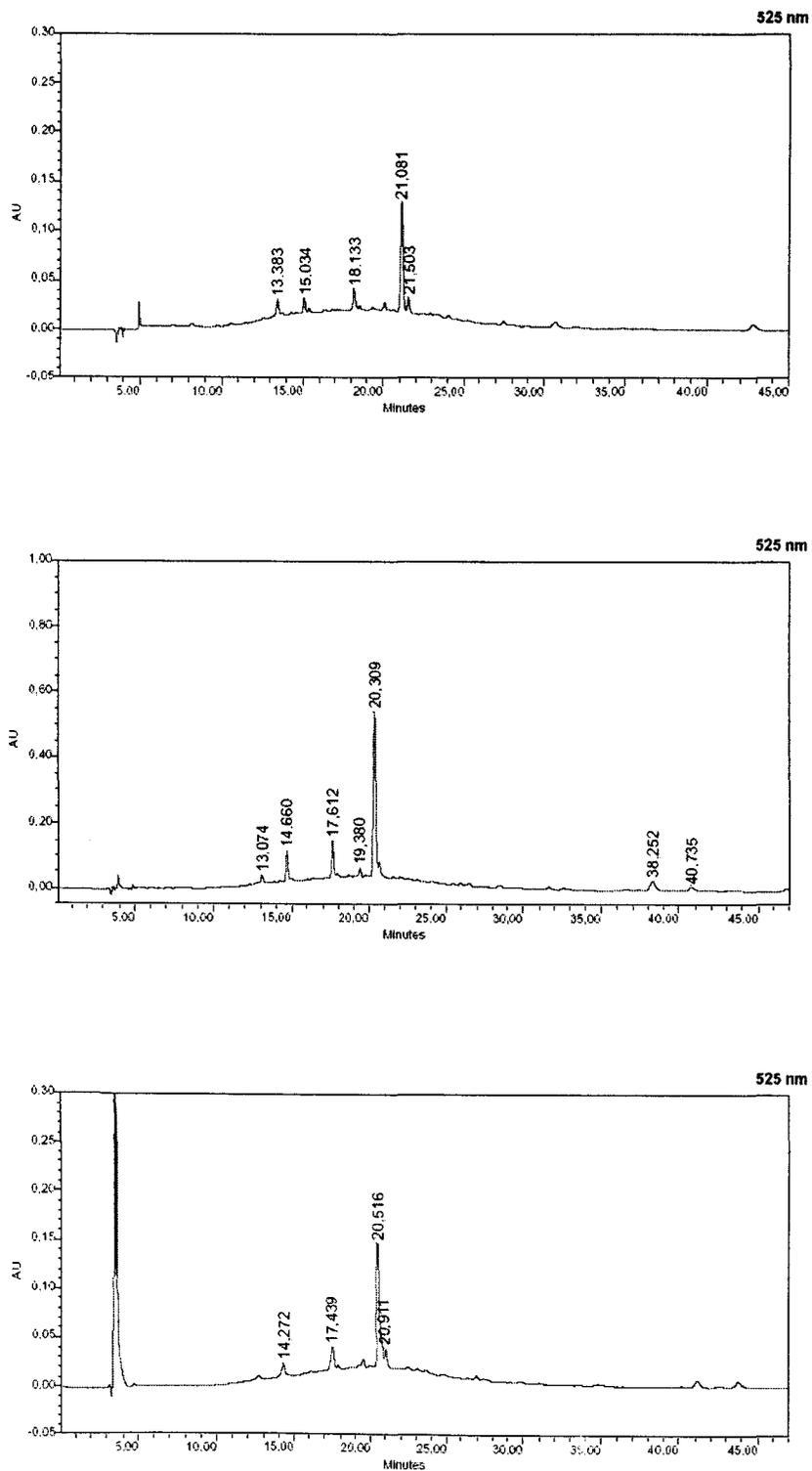


Figura 5. Cromatogramas de las muestras de vino tinto 13 a 15.

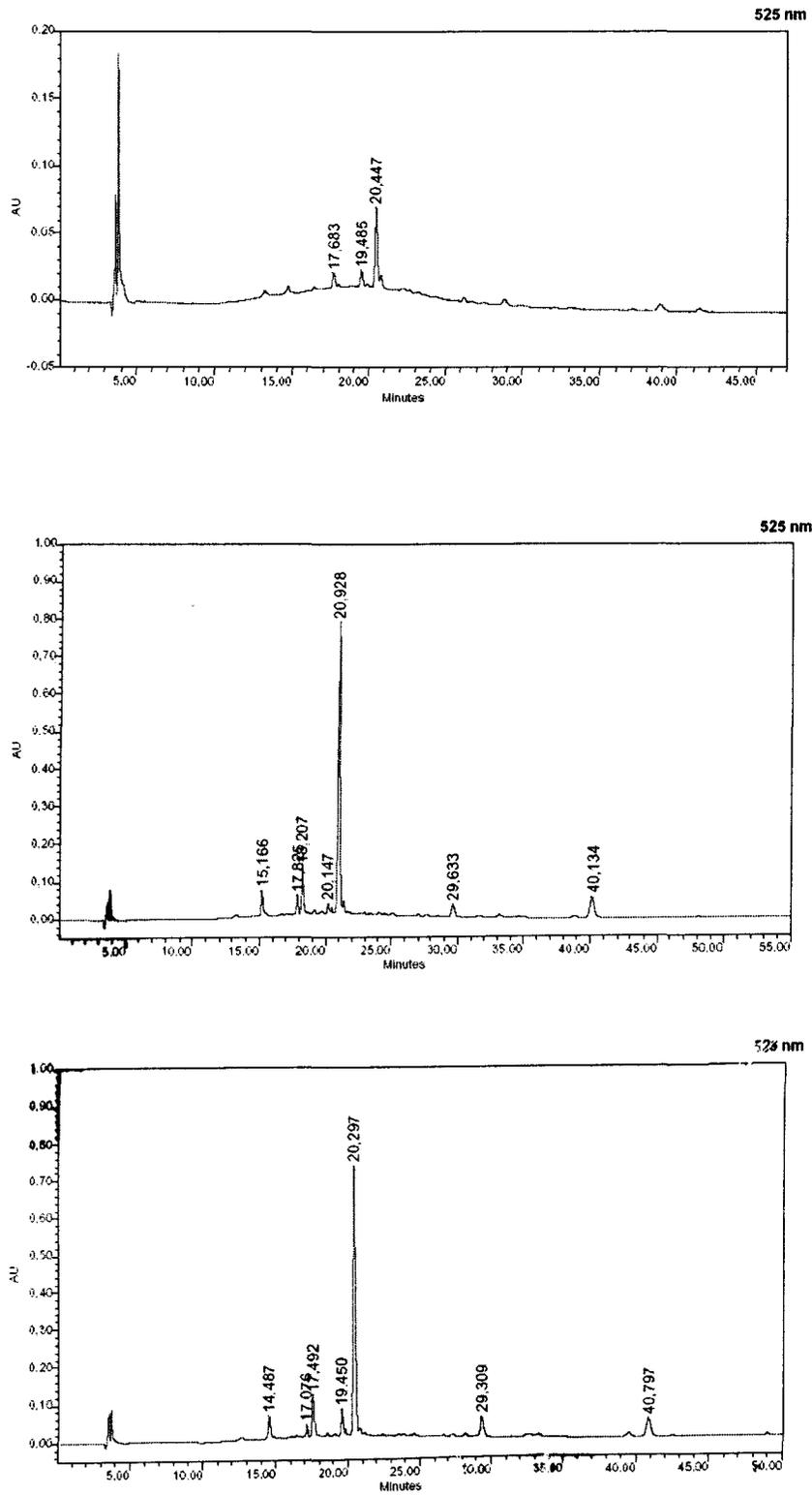


Figura 6. Cromatogramas de las muestras de vino tinto 16 a 18.

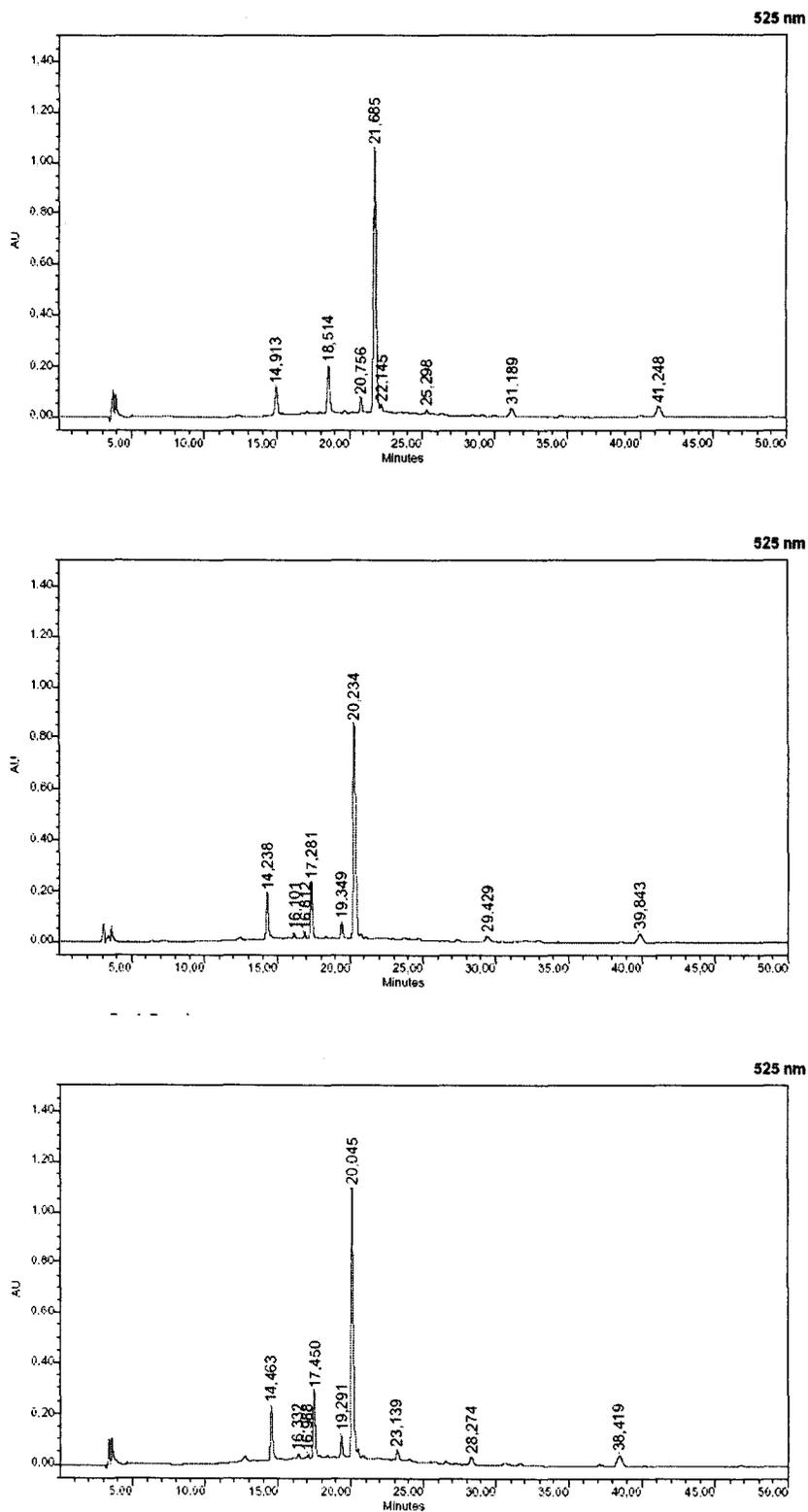


Figura 7. Cromatogramas de las muestras de vino tinto 19 a 21.

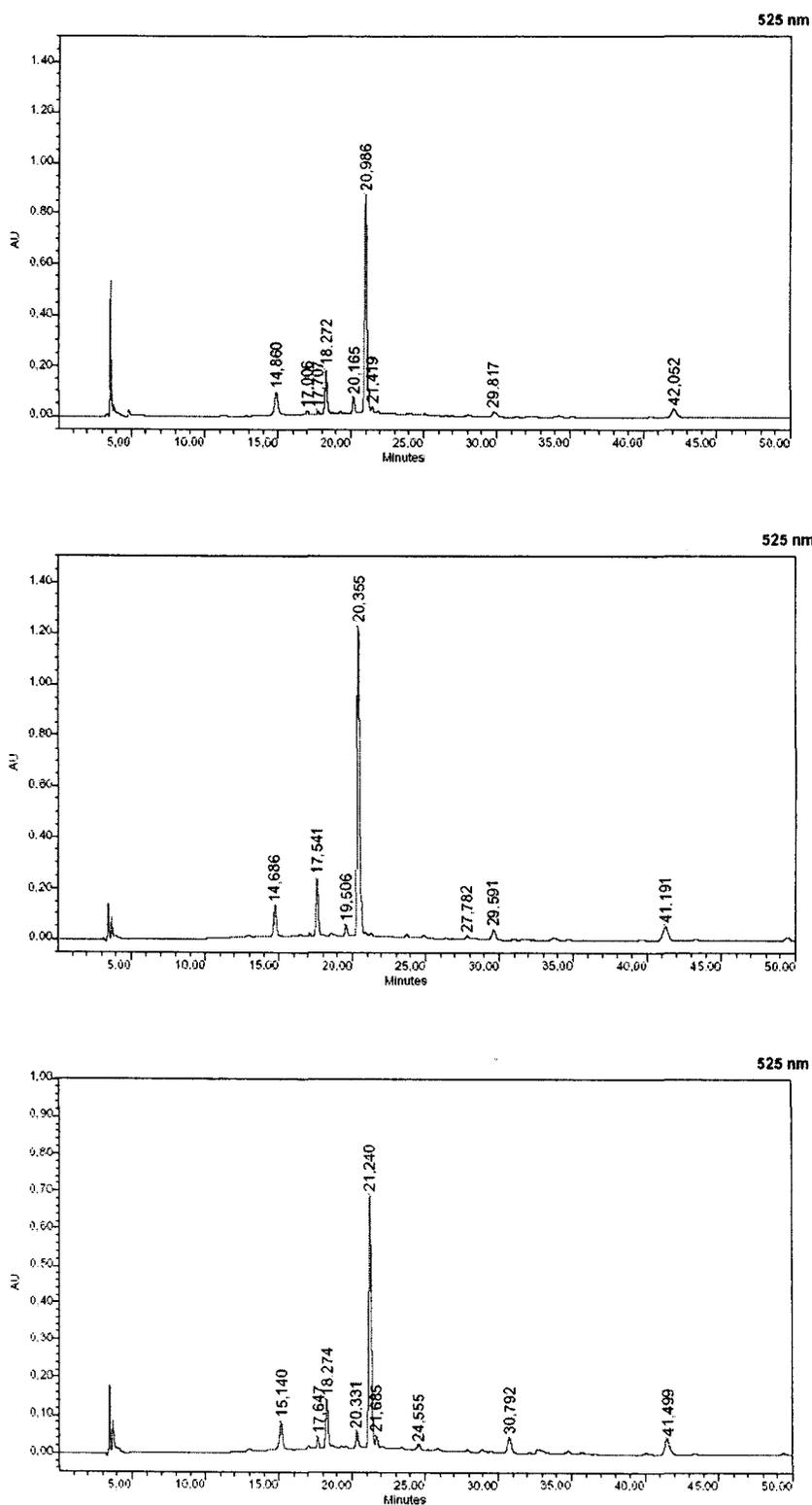


Figura 8. Cromatogramas de las muestras de vino tinto 22 a 24.

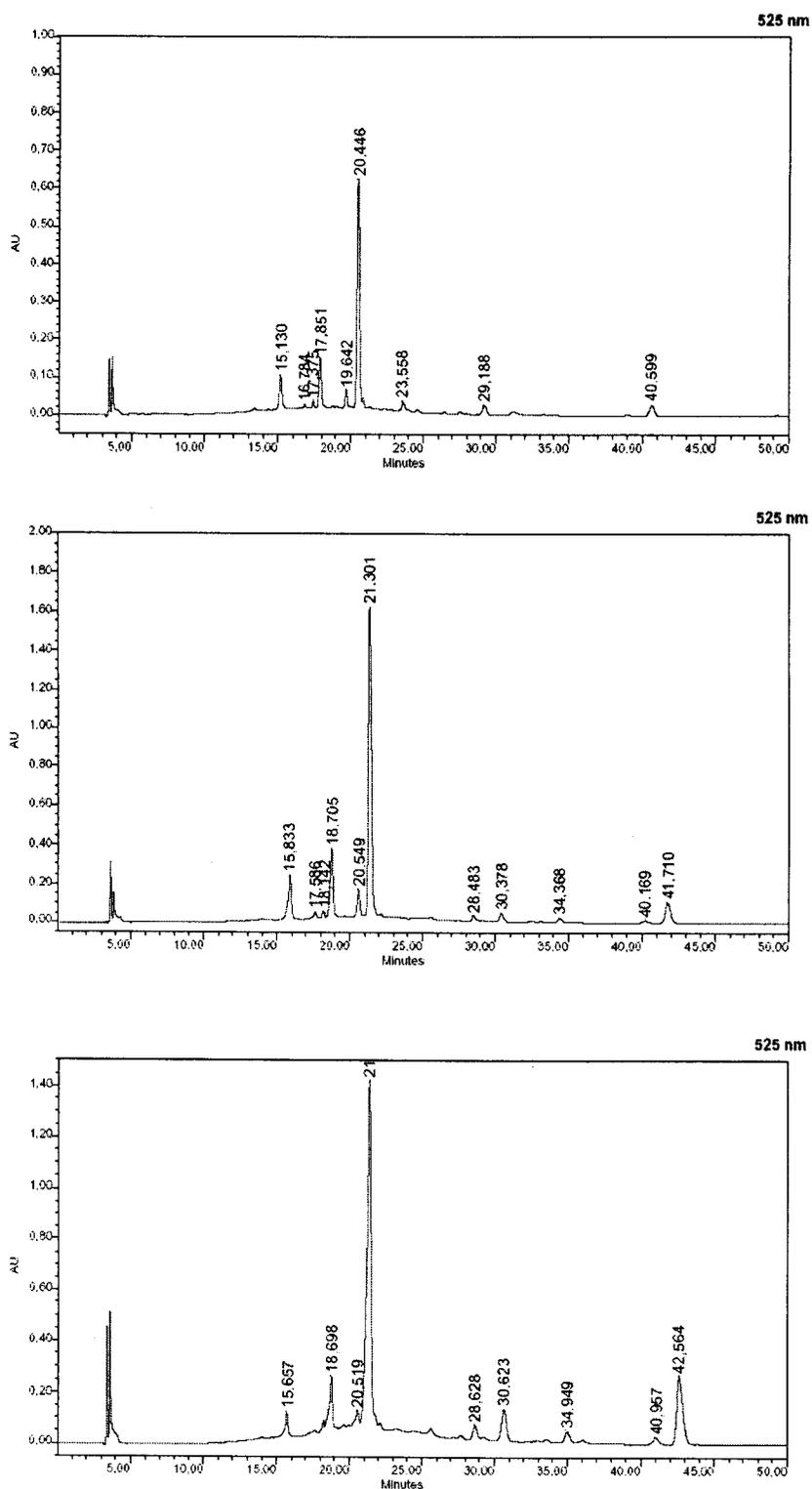


Figura 9. Cromatogramas de las muestras de vino tinto 25 a 27.

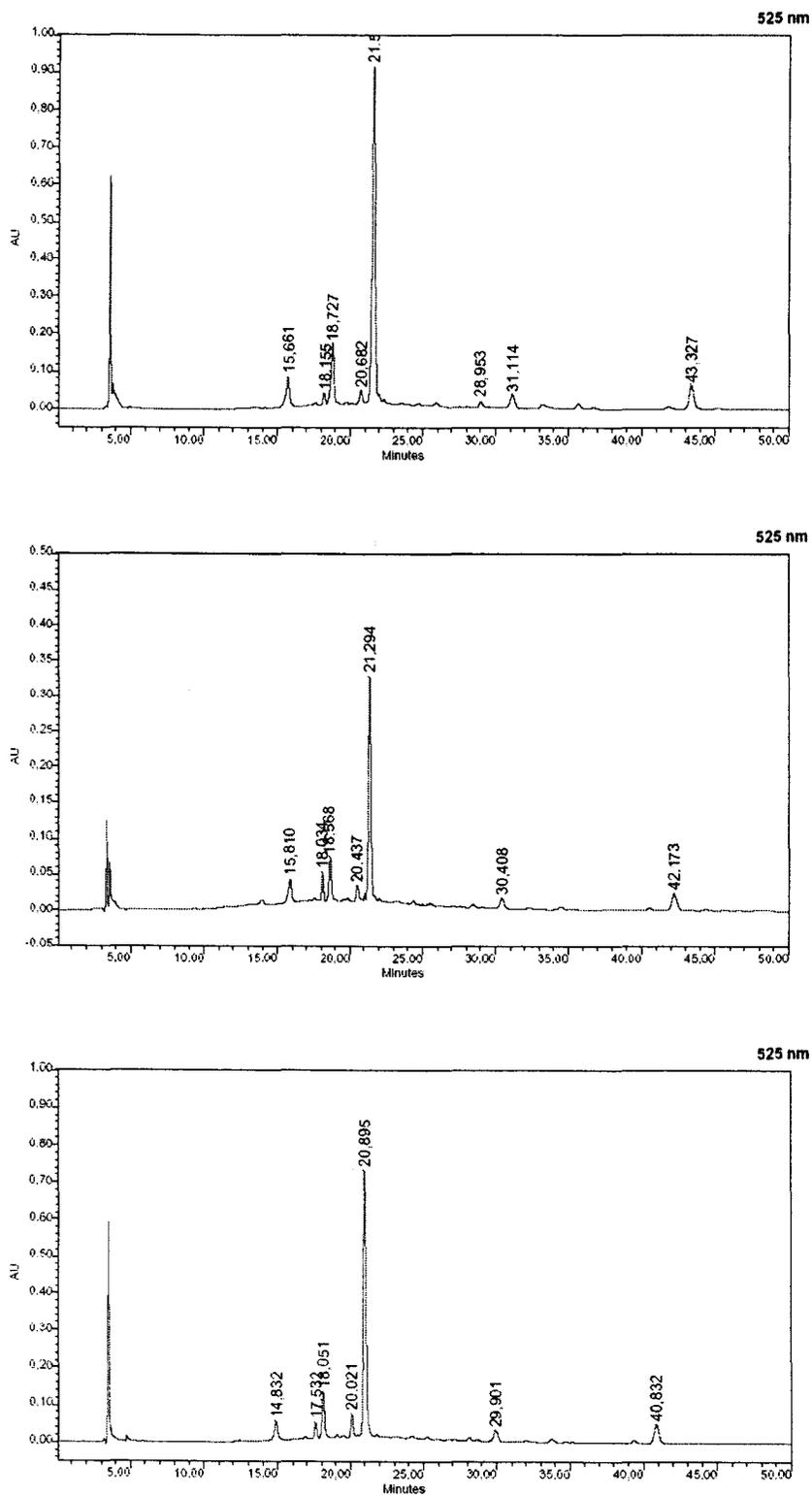


Figura 10. Cromatogramas de las muestras de vino tinto 28 a 30.

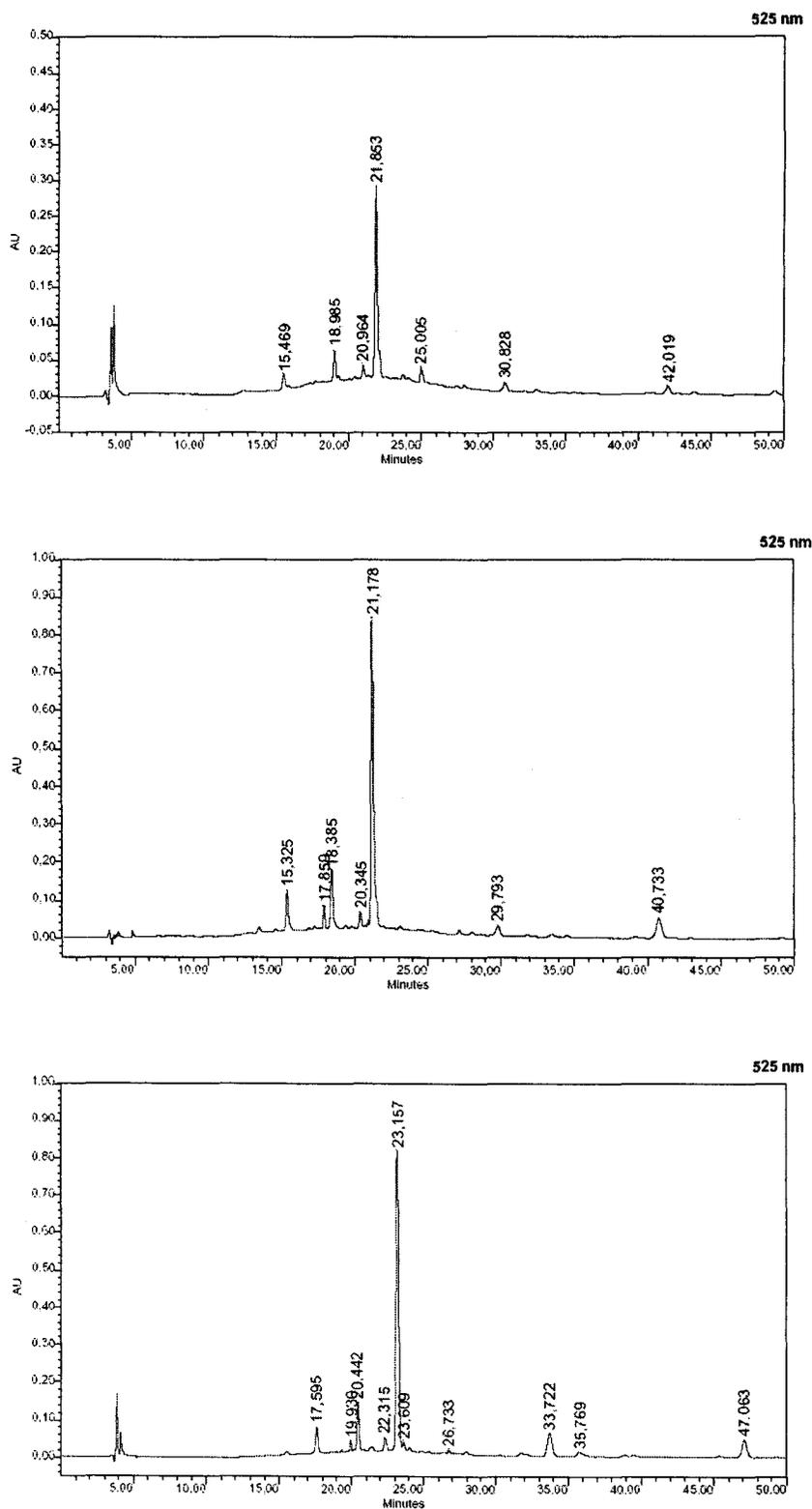


Figura 11. Cromatogramas de las muestras de vino tinto 31 a 33.

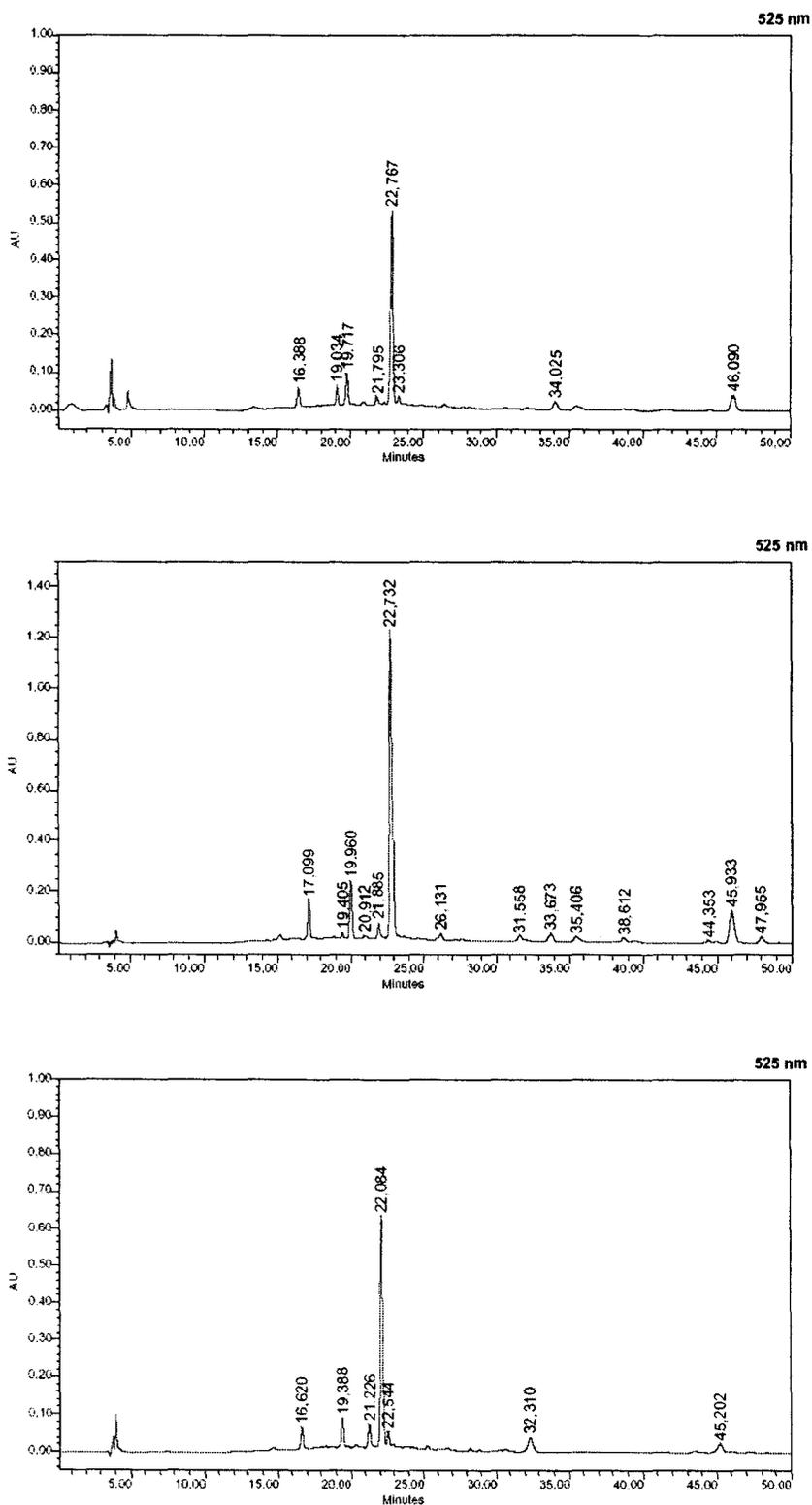


Figura 12. Cromatogramas de las muestras de vino tinto 34 a 36.

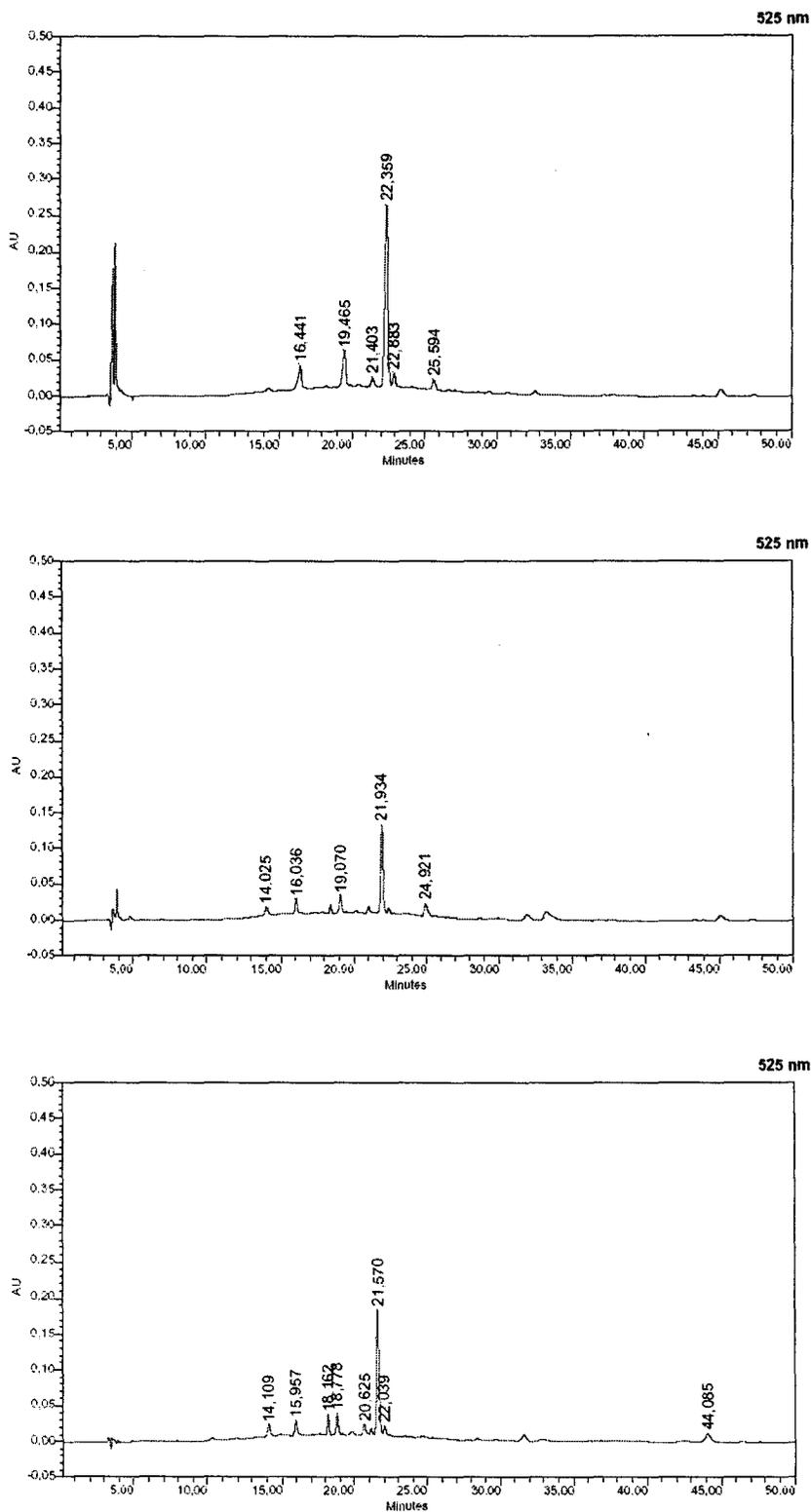


Figura 13. Cromatogramas de las muestras de vino tinto 37 a 39.

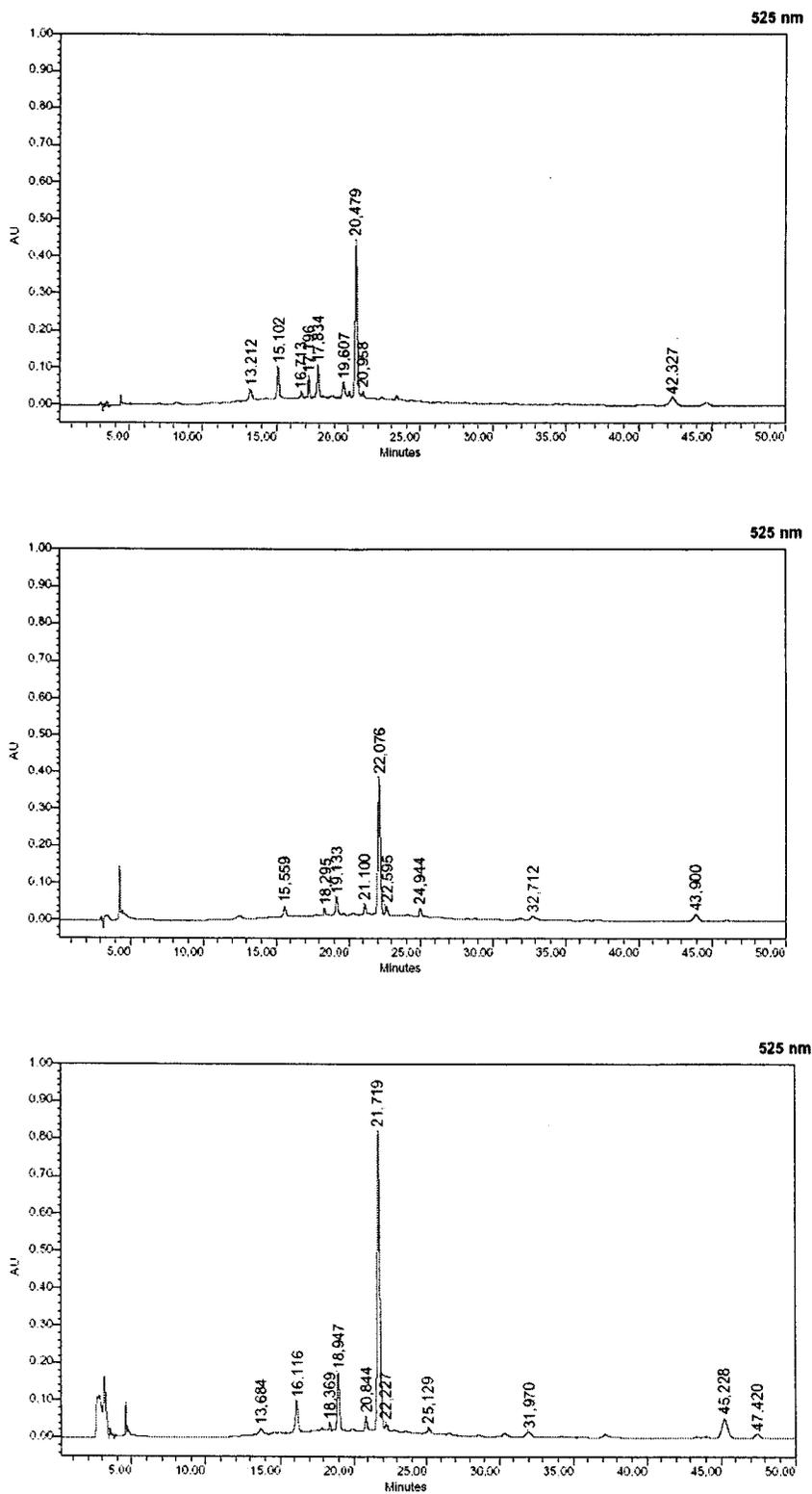


Figura 14. Cromatogramas de las muestras de vino tinto 40 a 42.

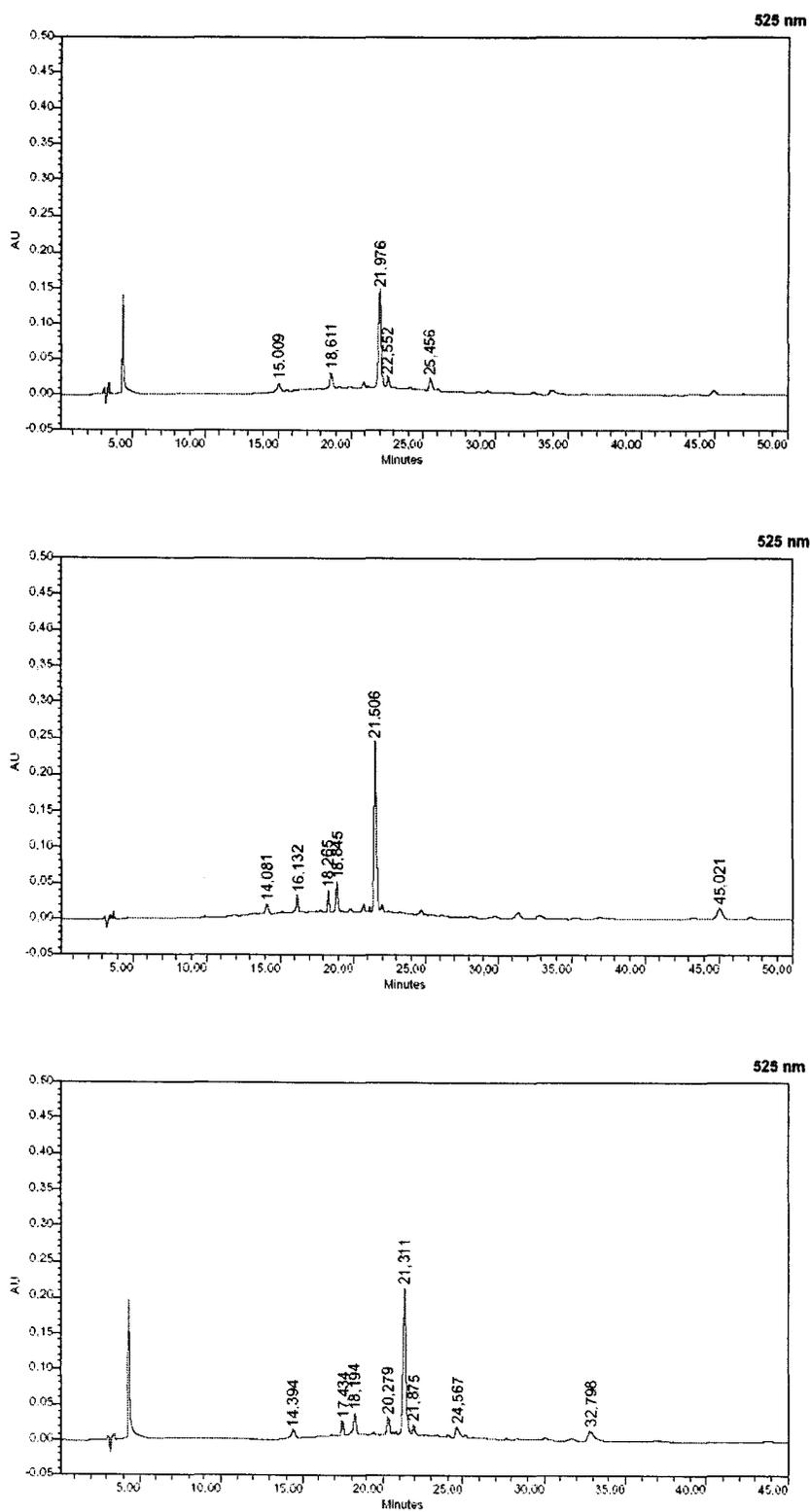


Figura 15. Cromatogramas de las muestras de vino tinto 43 a 45.

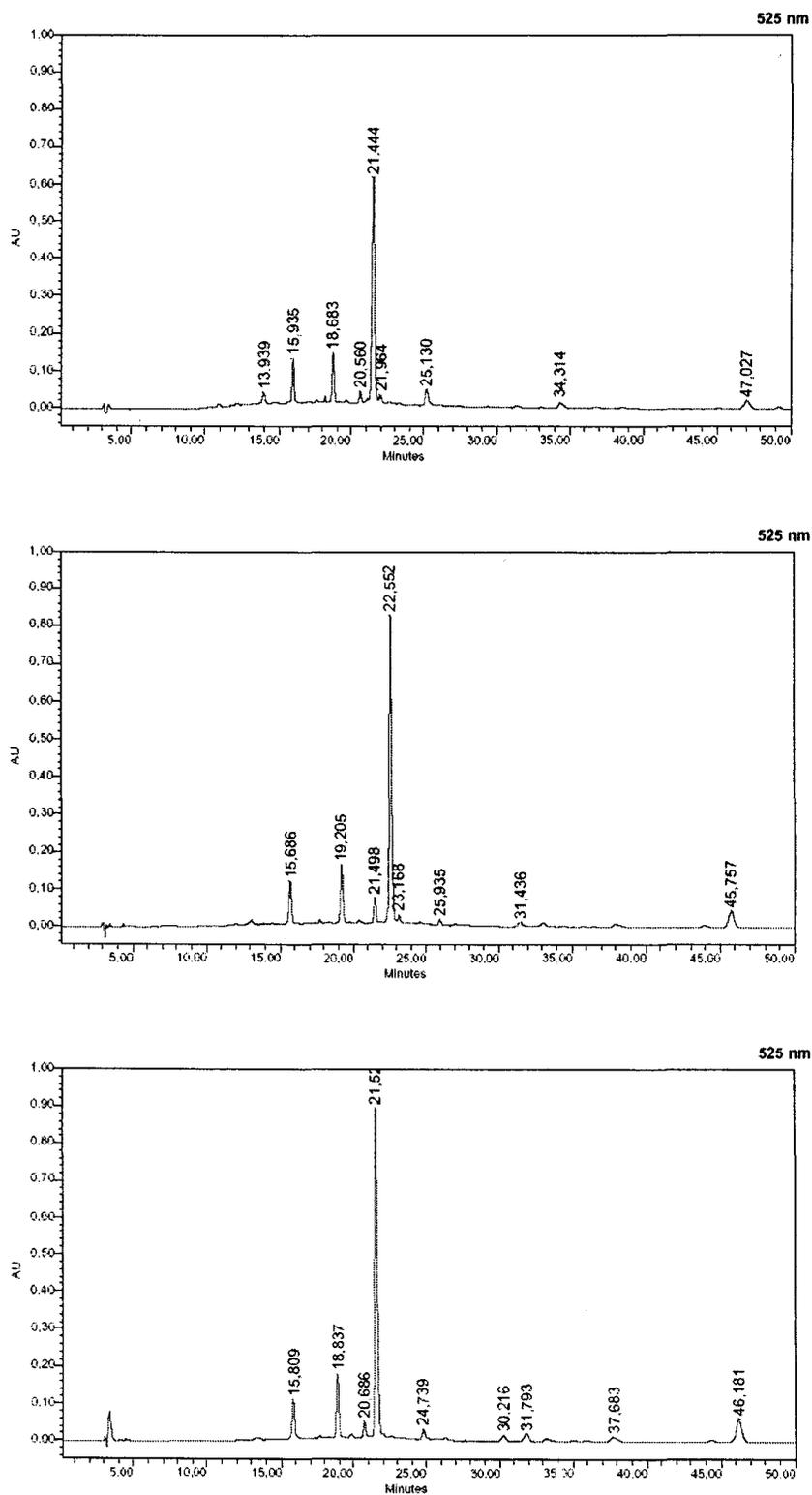


Figura 16. Cromatogramas de las muestras de vino tinto 46 a 48.

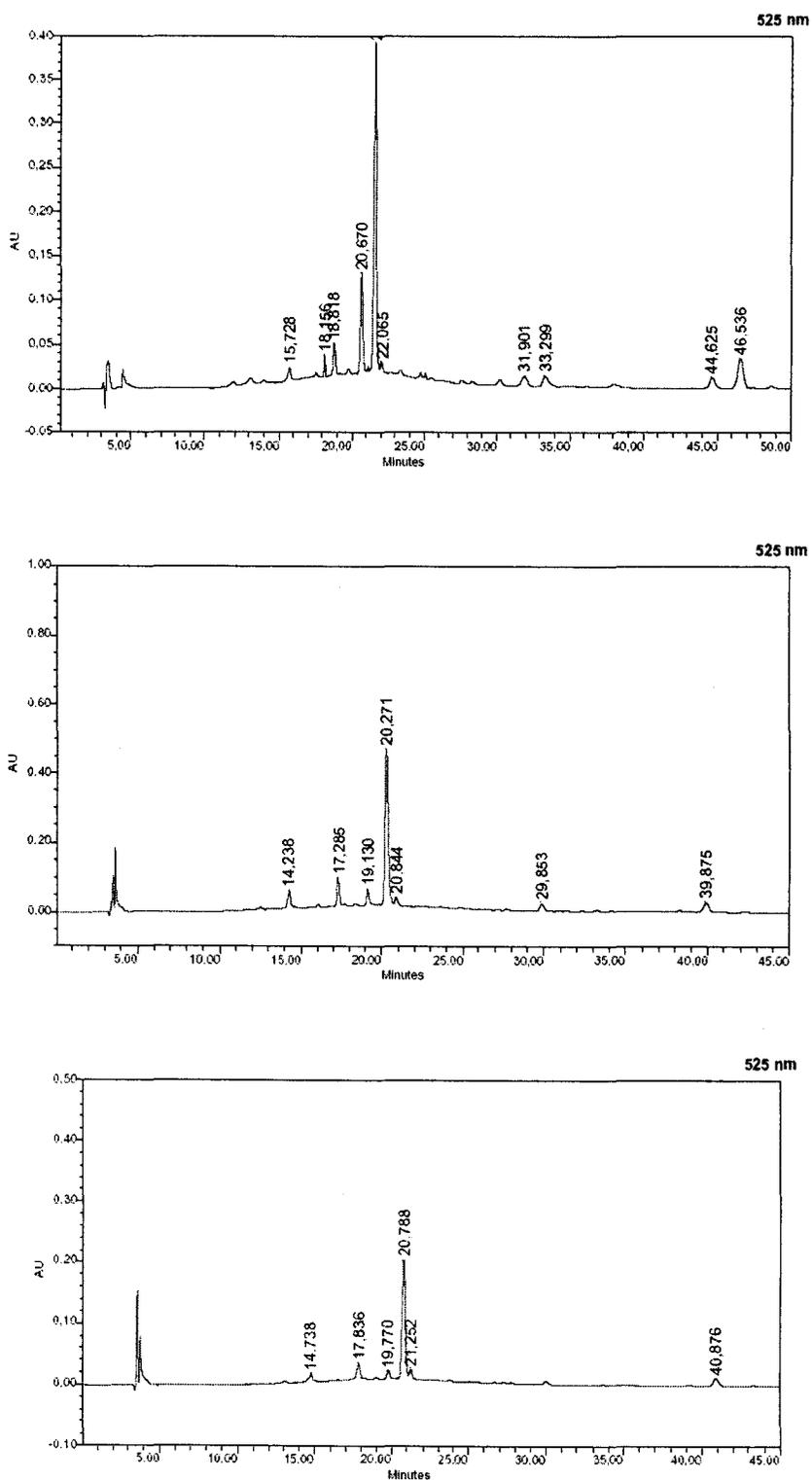


Figura 17. Cromatogramas de las muestras de vino tinto 49 a 51.

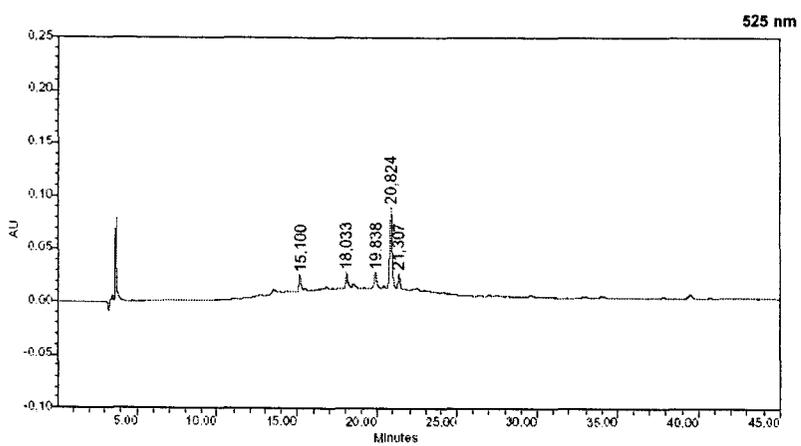
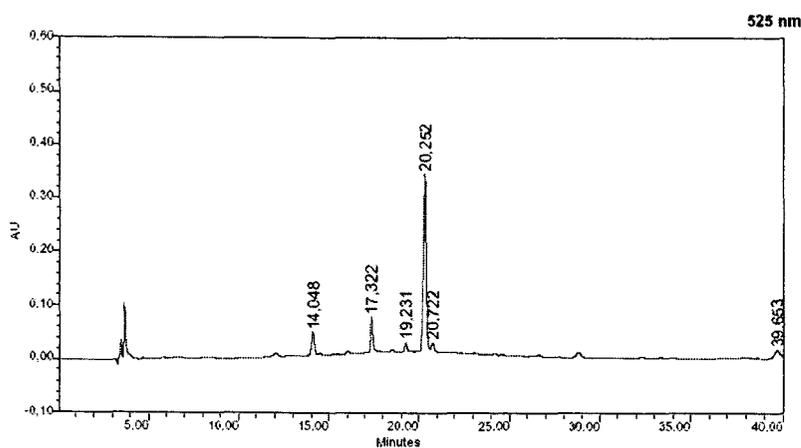
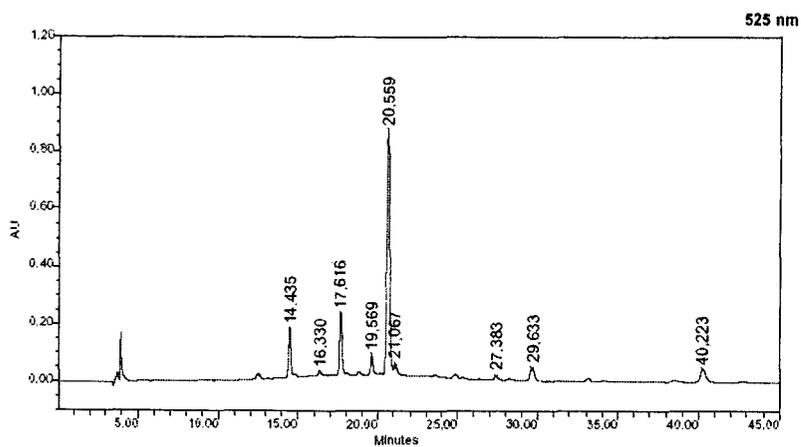


Figura 18. Cromatogramas de las muestras de vino tinto 52 a 54.

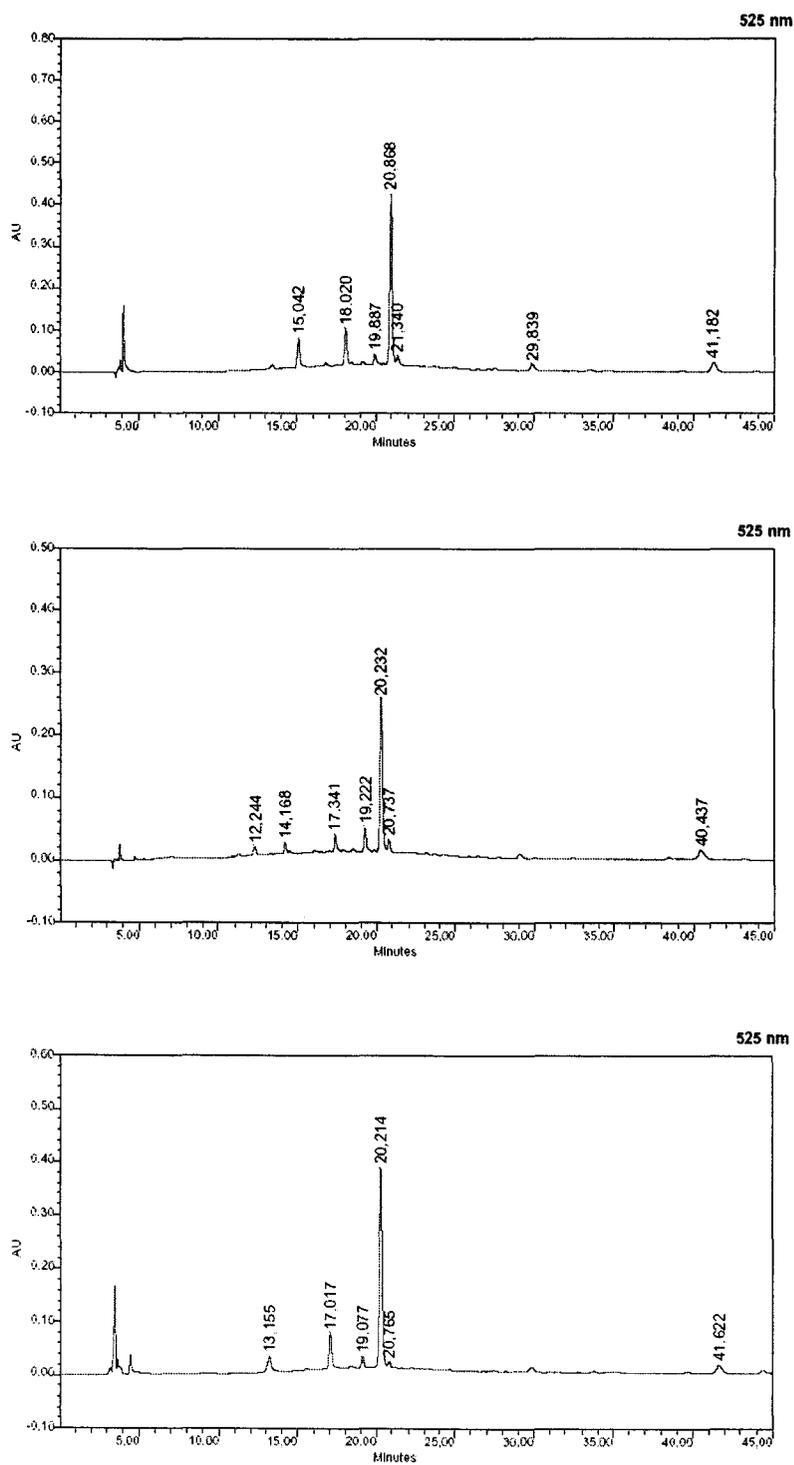


Figura 19. Cromatogramas de las muestras de vino tinto 55 a 57.

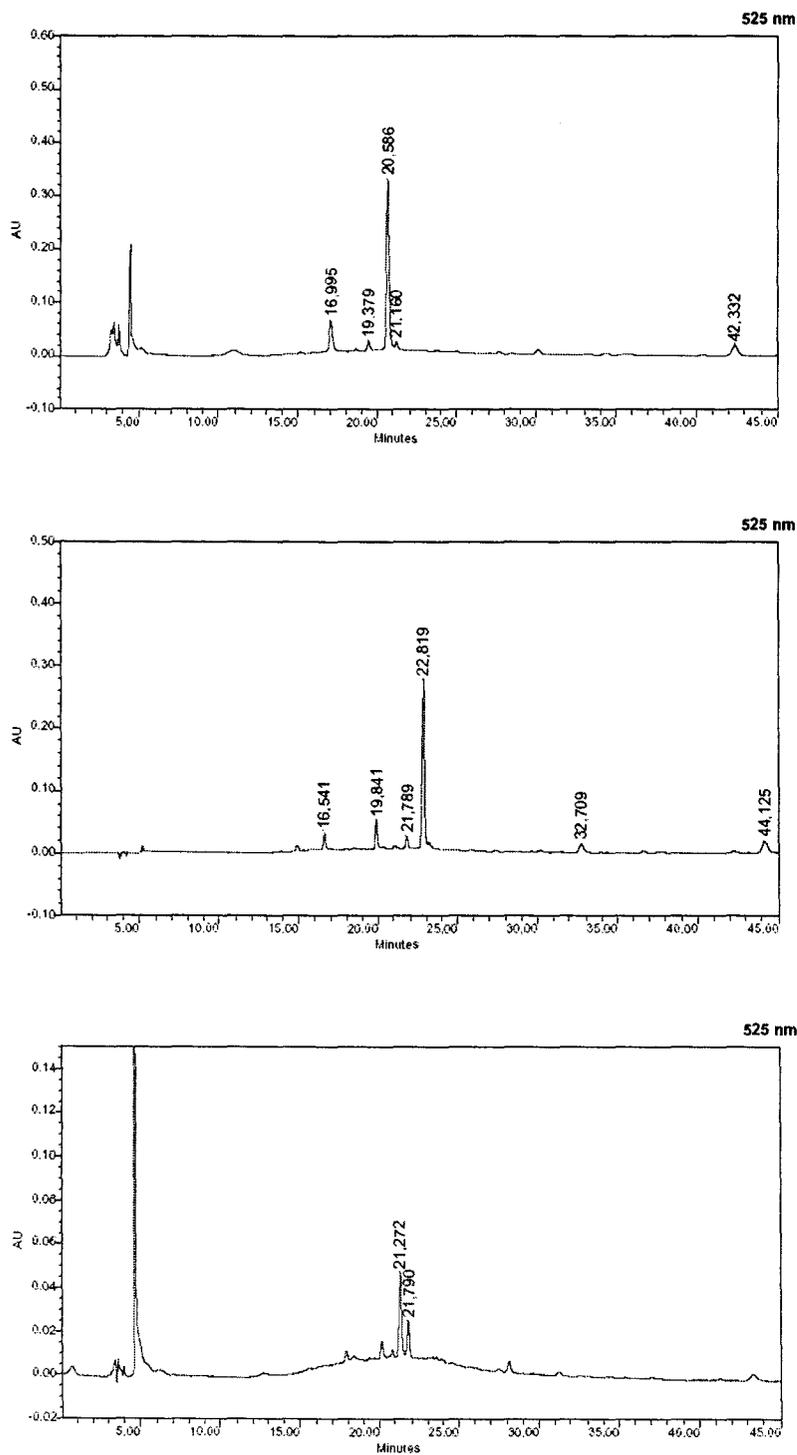


Figura 20. Cromatogramas de las muestras de vino tinto 58 a 60.

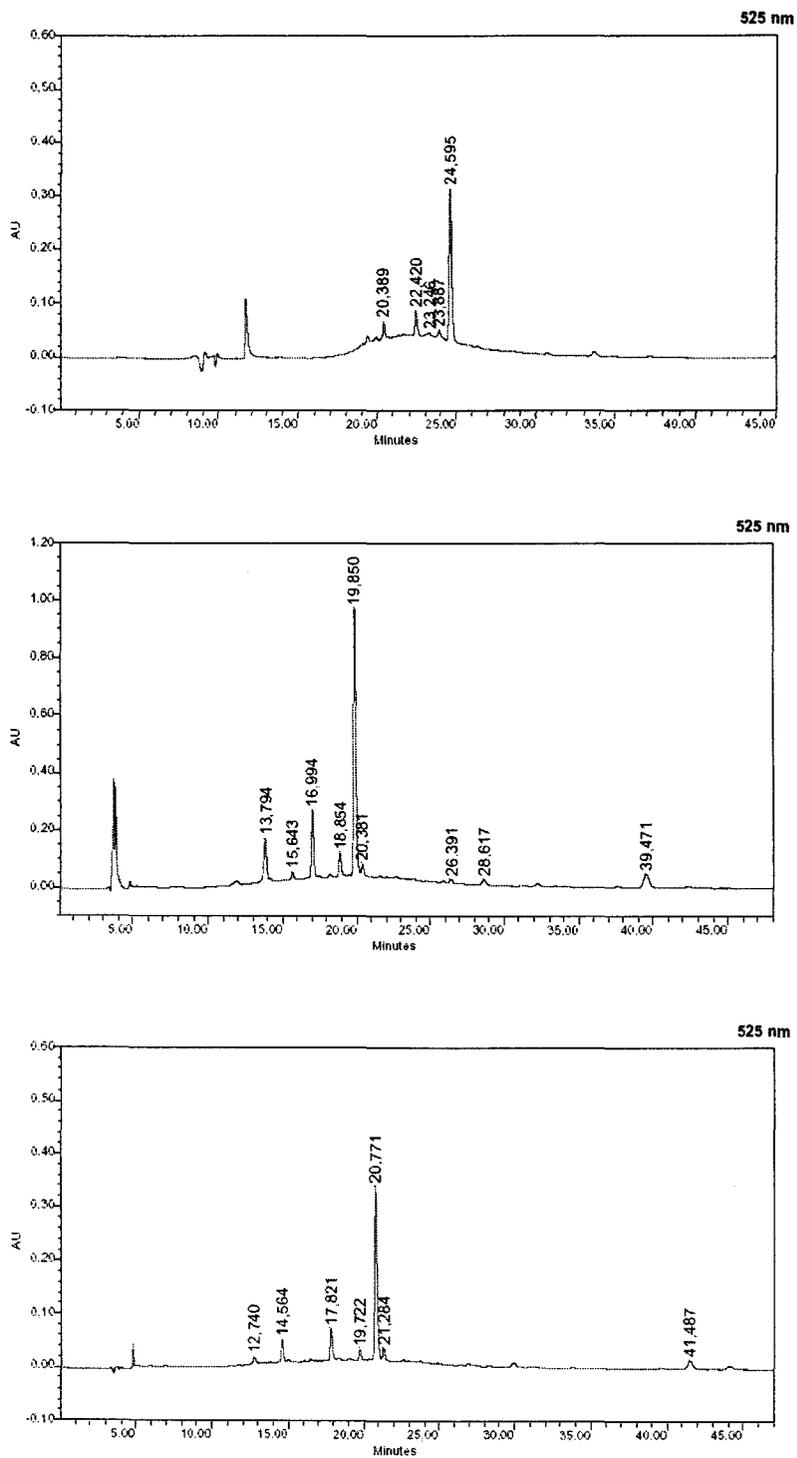


Figura 21. Cromatogramas de las muestras de vino tinto 61 a 63.

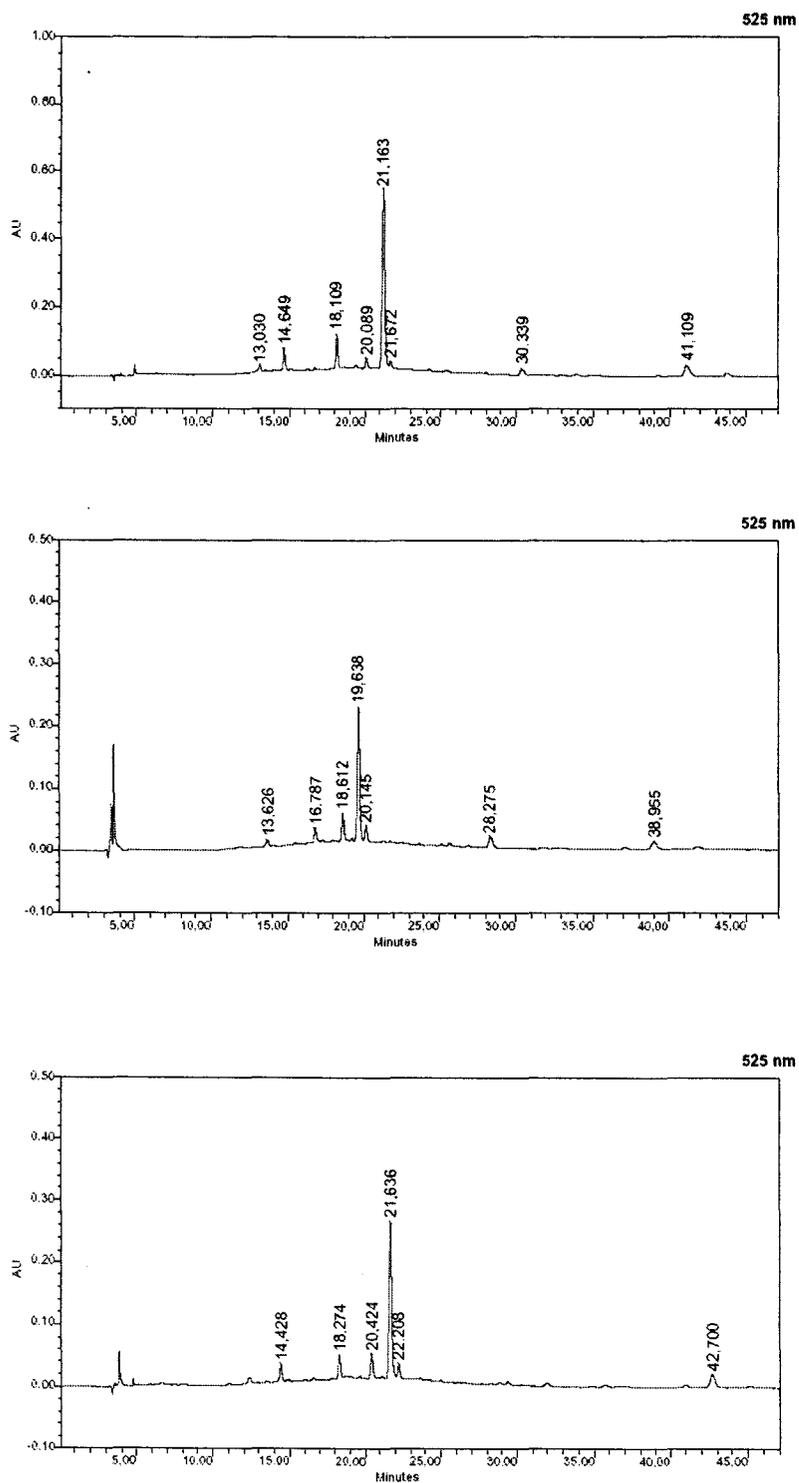


Figura 22. Cromatogramas de las muestras de vino tinto 64 a 66.

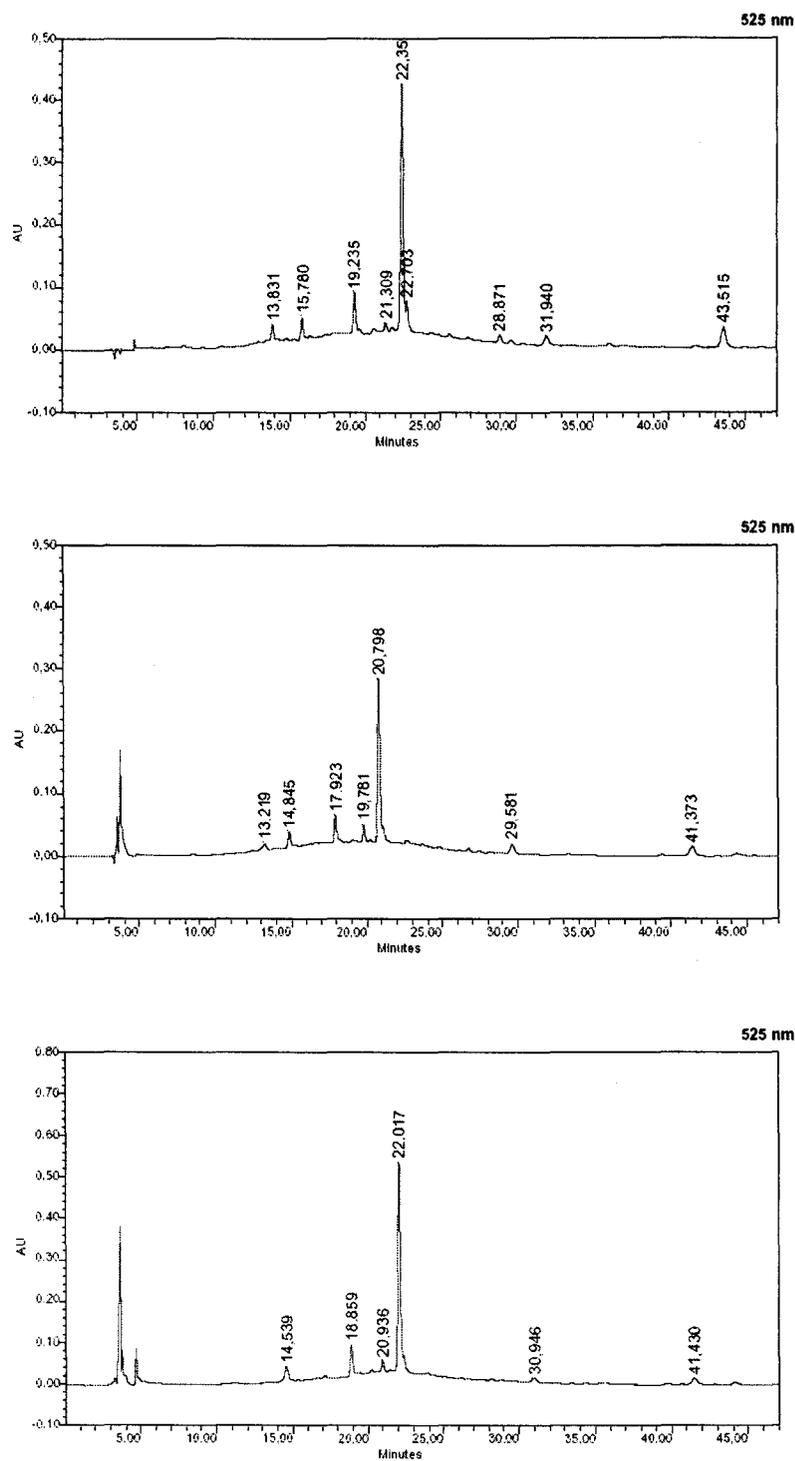


Figura 23. Cromatogramas de las muestras de vino tinto 67 a 69.

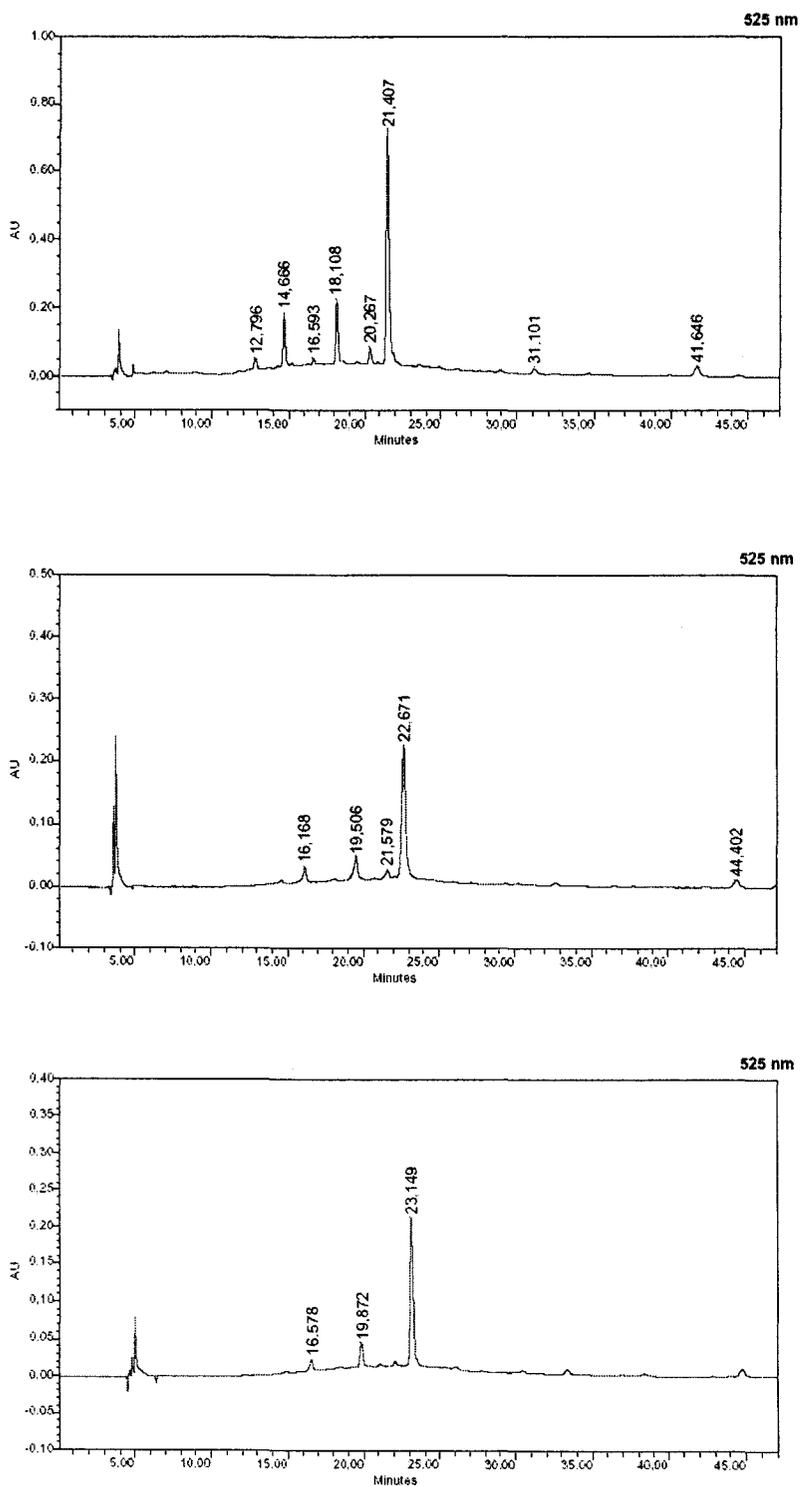


Figura 24. Cromatogramas de las muestras de vino tinto 70 a 72.

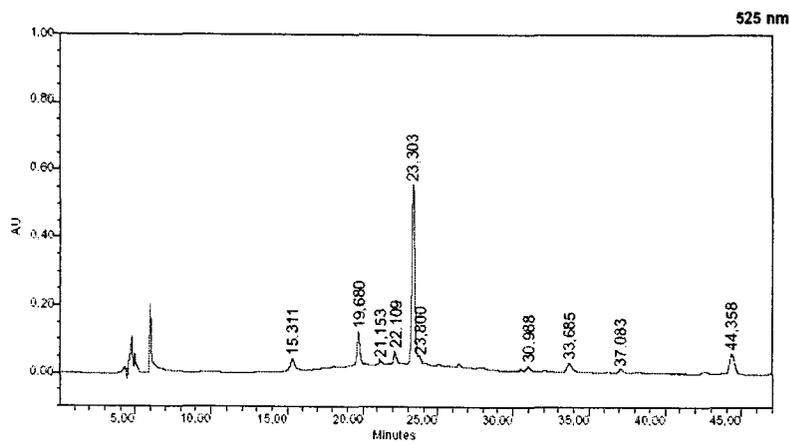
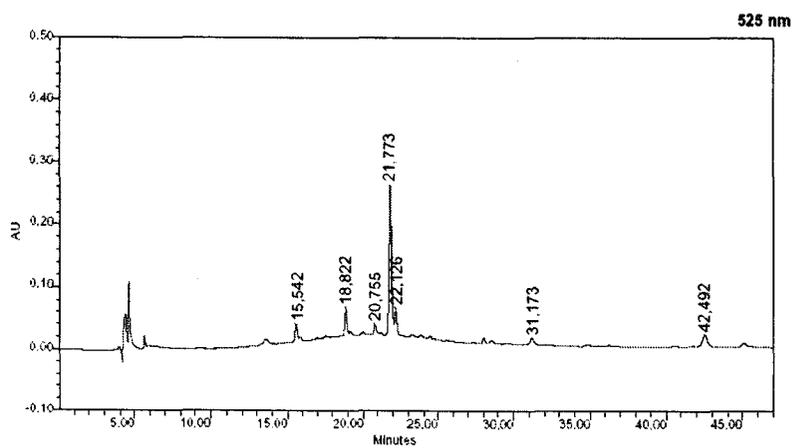
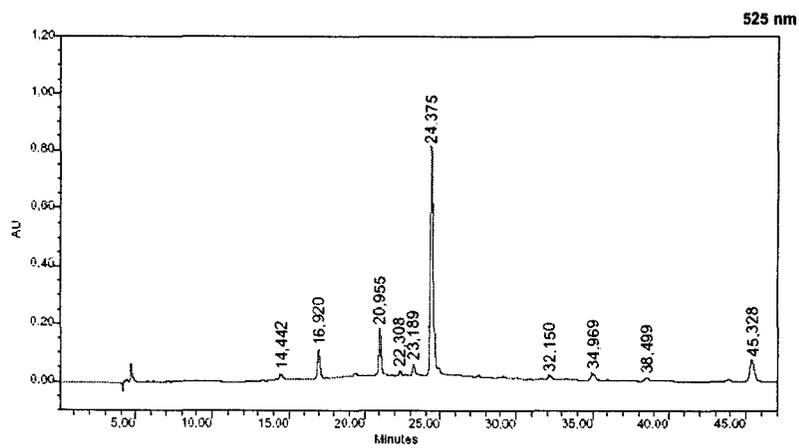


Figura 25. Cromatogramas de las muestras de vino tinto 73 a 75.

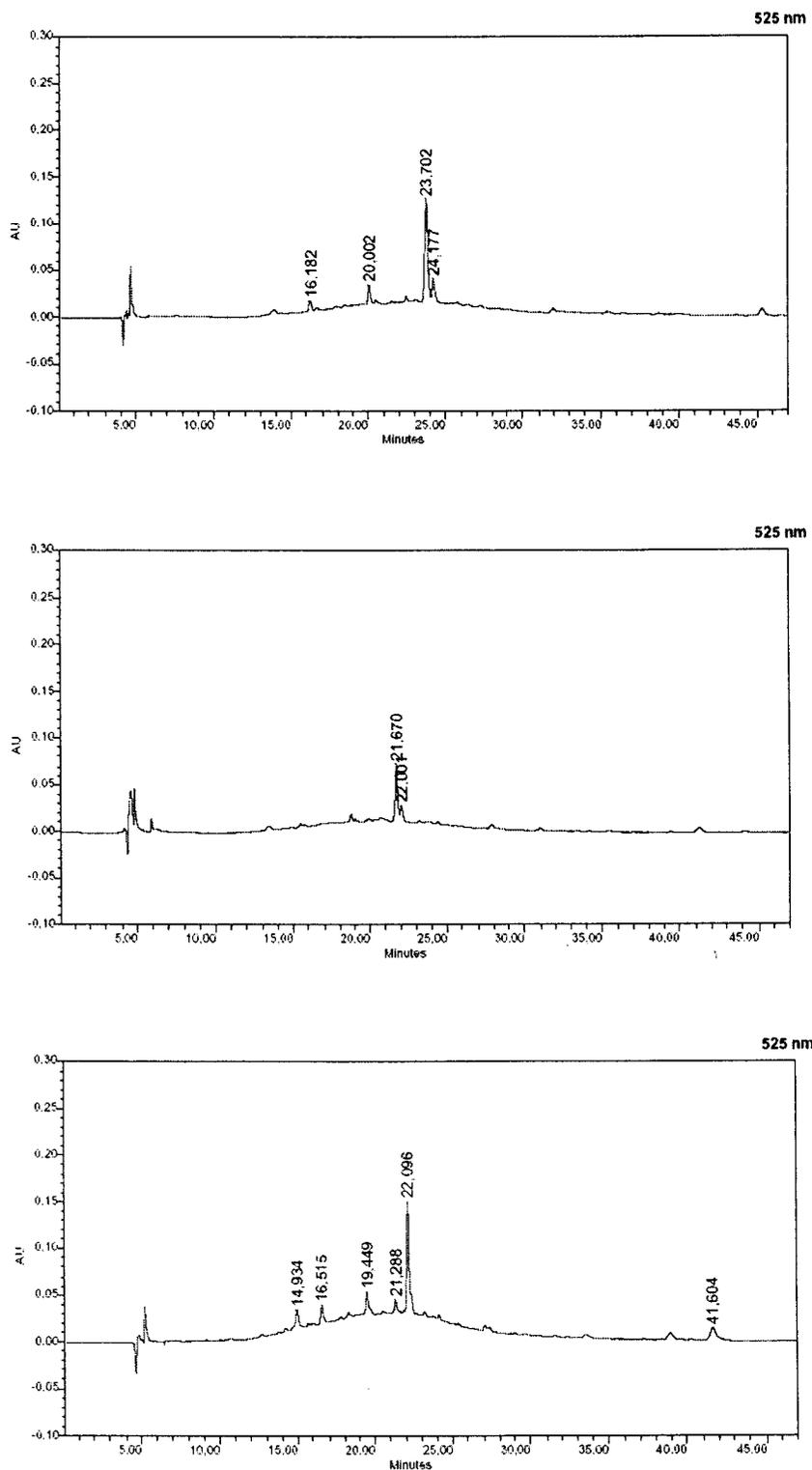


Figura 26. Cromatogramas de las muestras de vino tinto 76 a 78.

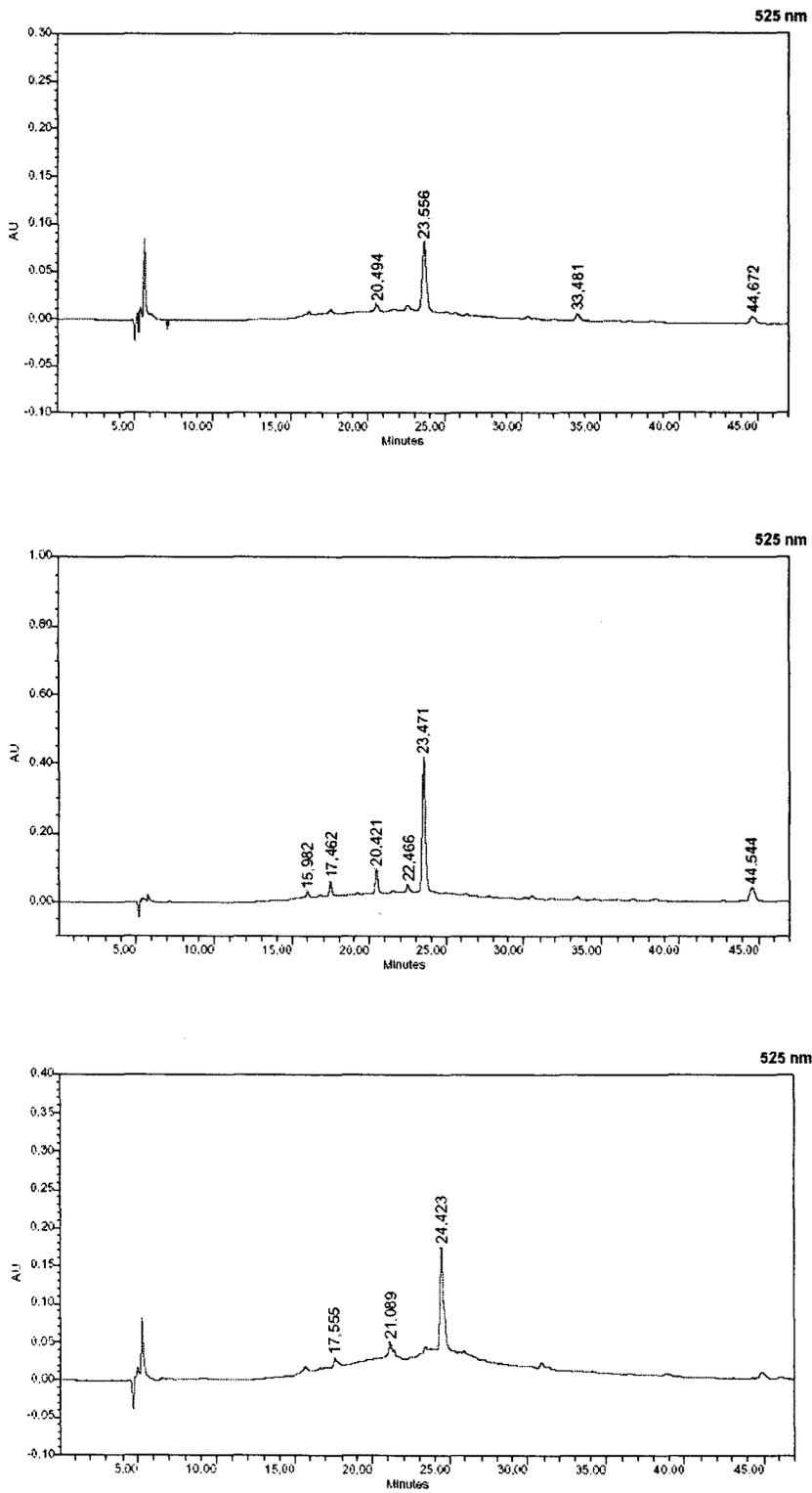


Figura 27. Cromatogramas de las muestras de vino tinto 79 a 81.

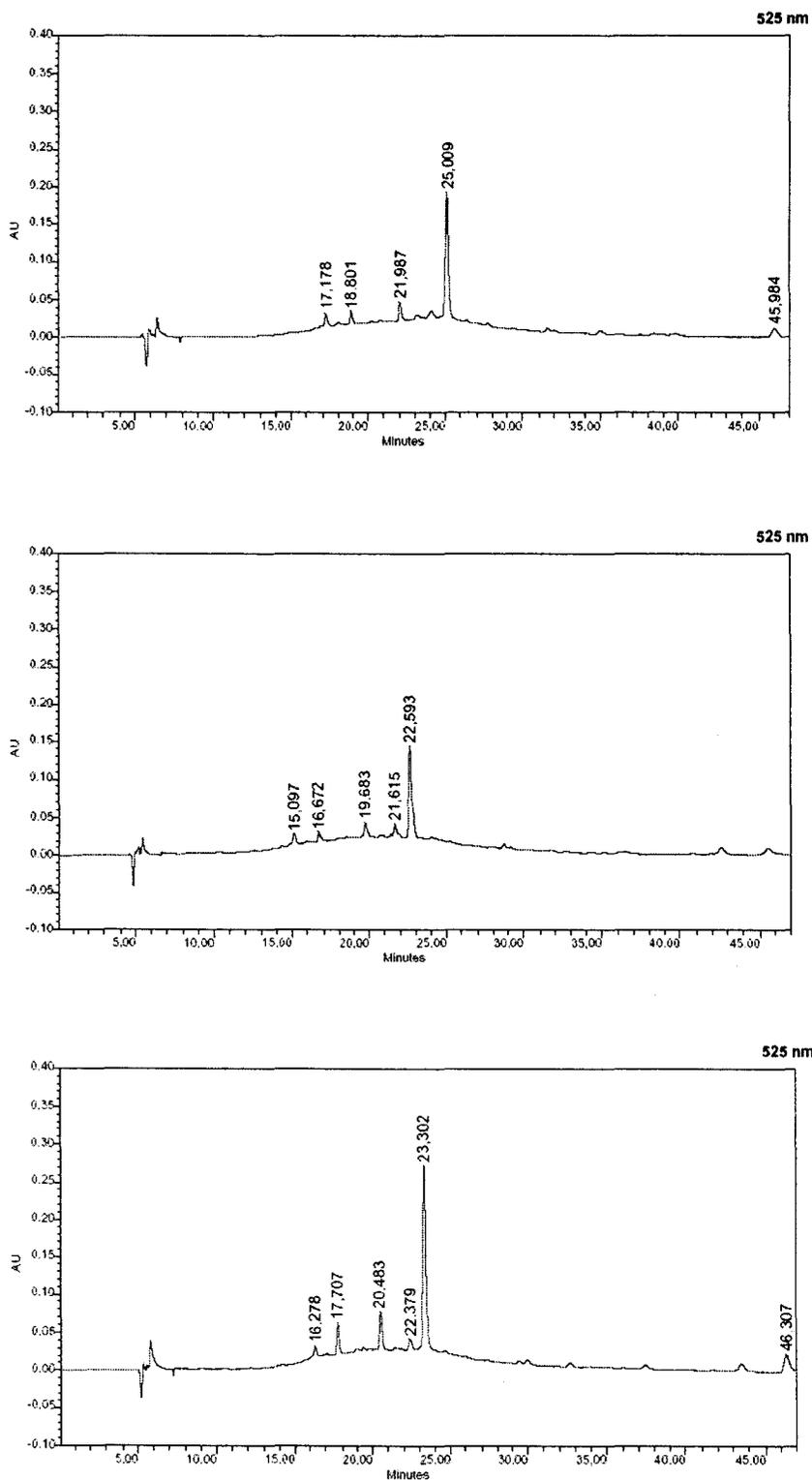


Figura 28. Cromatogramas de las muestras de vino tinto 82 a 85.

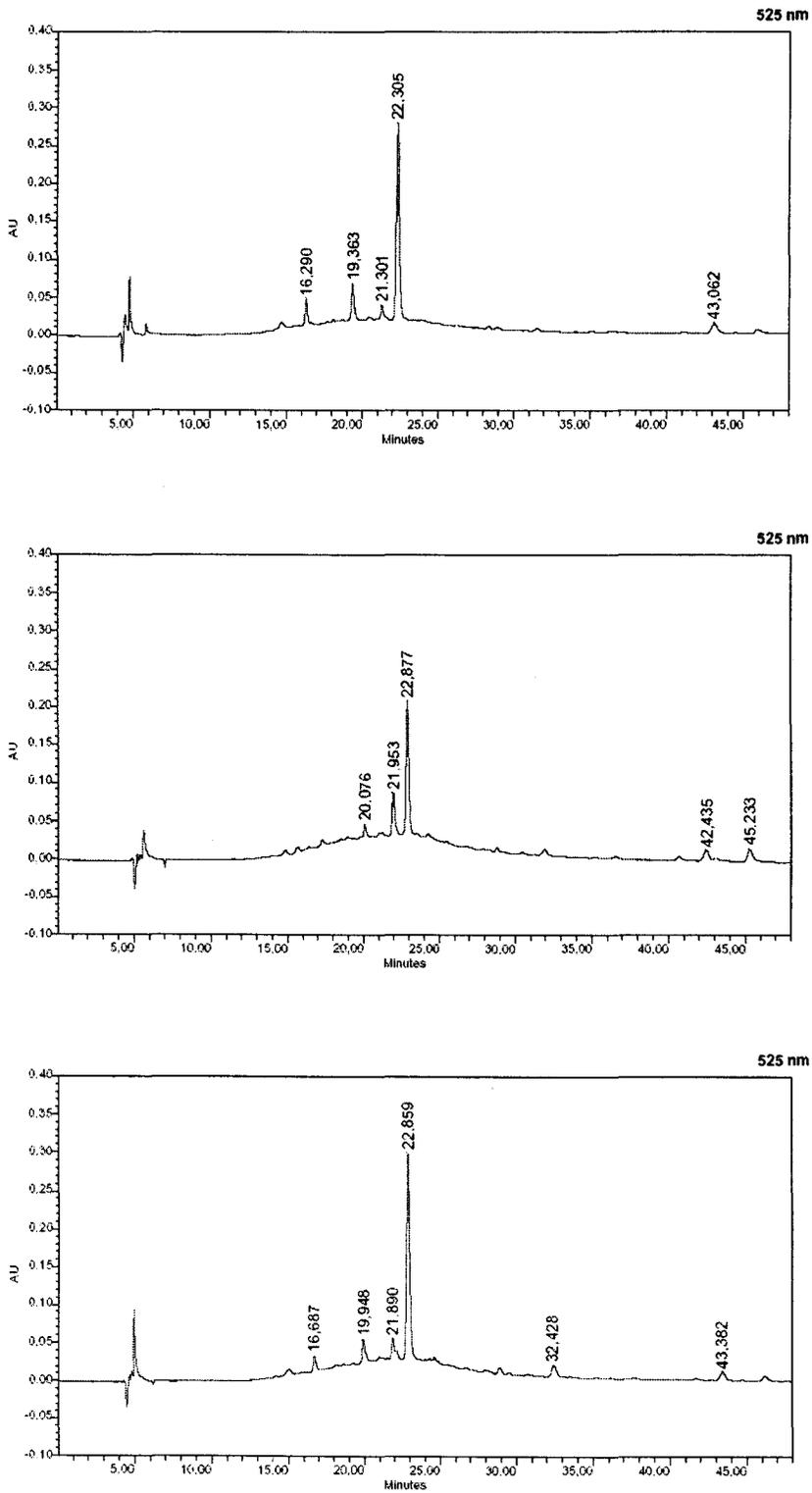


Figura 29. Cromatogramas de las muestras de vino tinto 86 a 88.

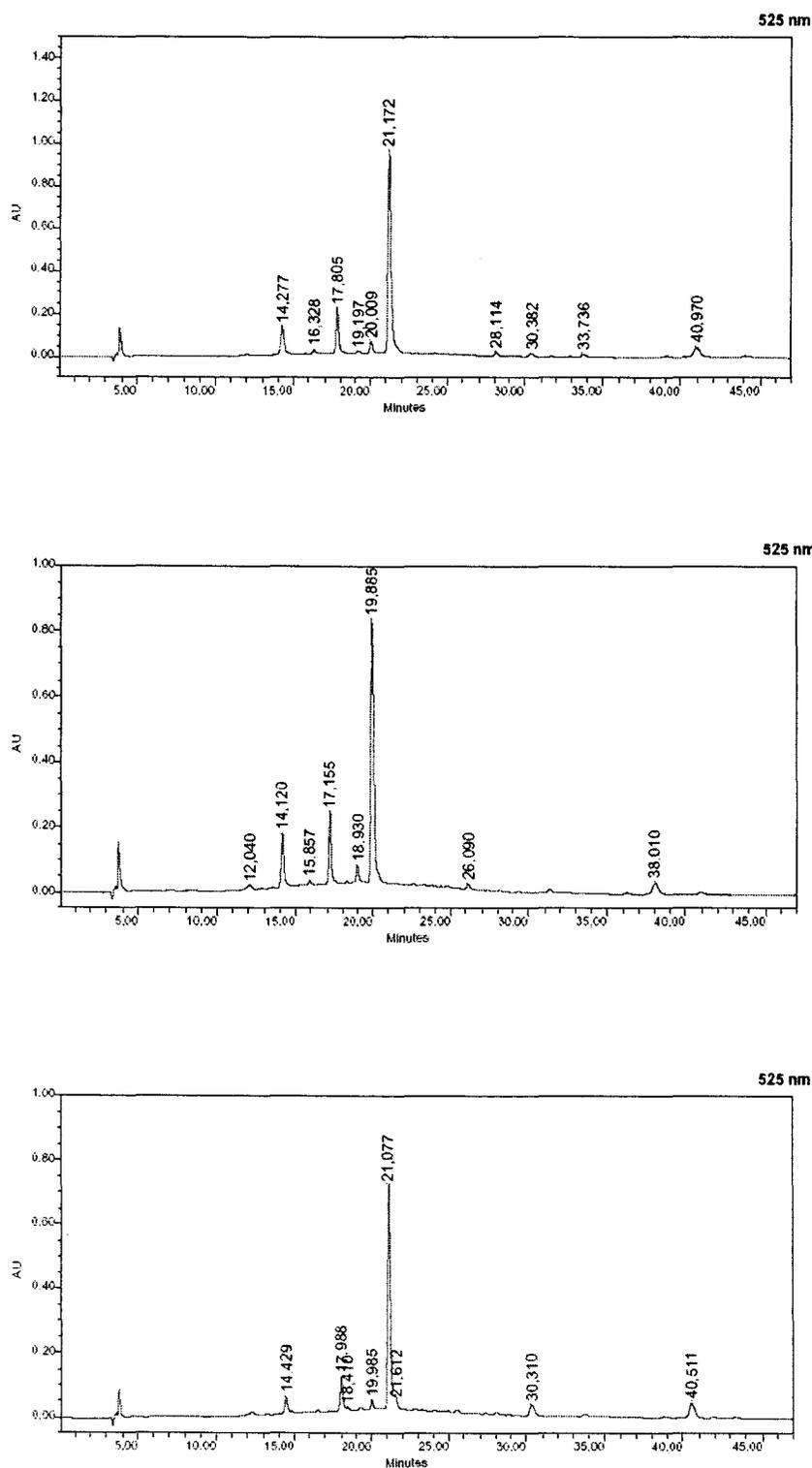


Figura 30. Cromatogramas de las muestras de vino tinto 89 a 91.

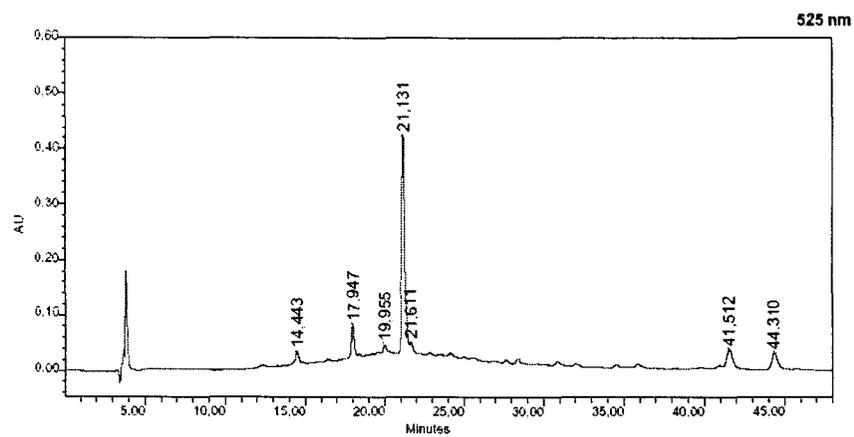
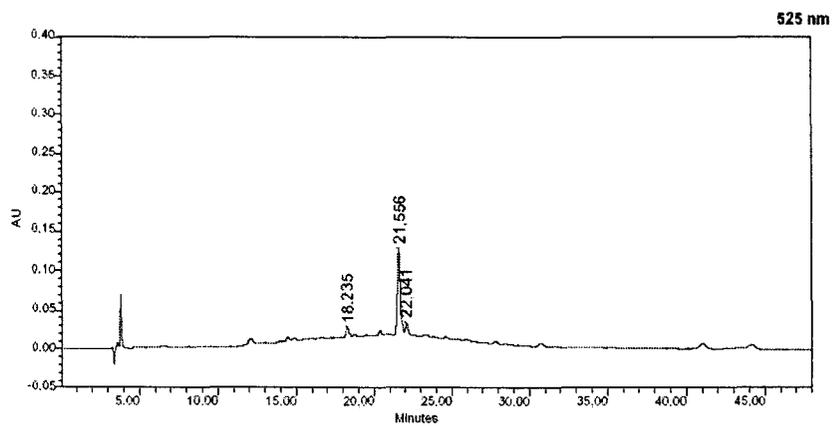
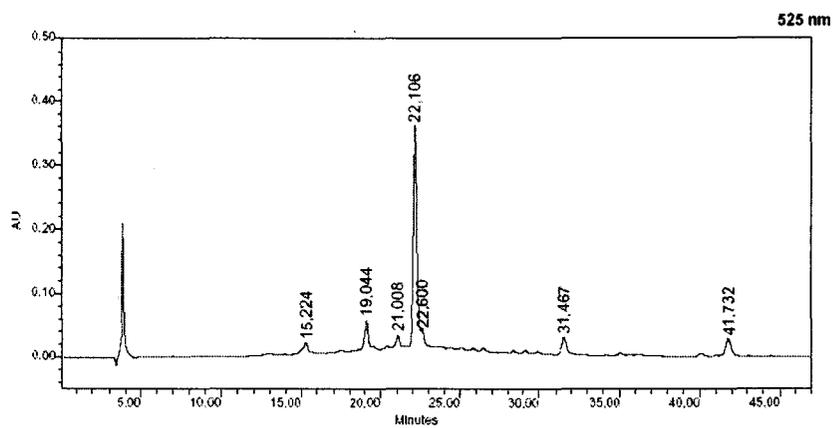


Figura 31. Cromatogramas de las muestras de vino tinto 92 a 94.

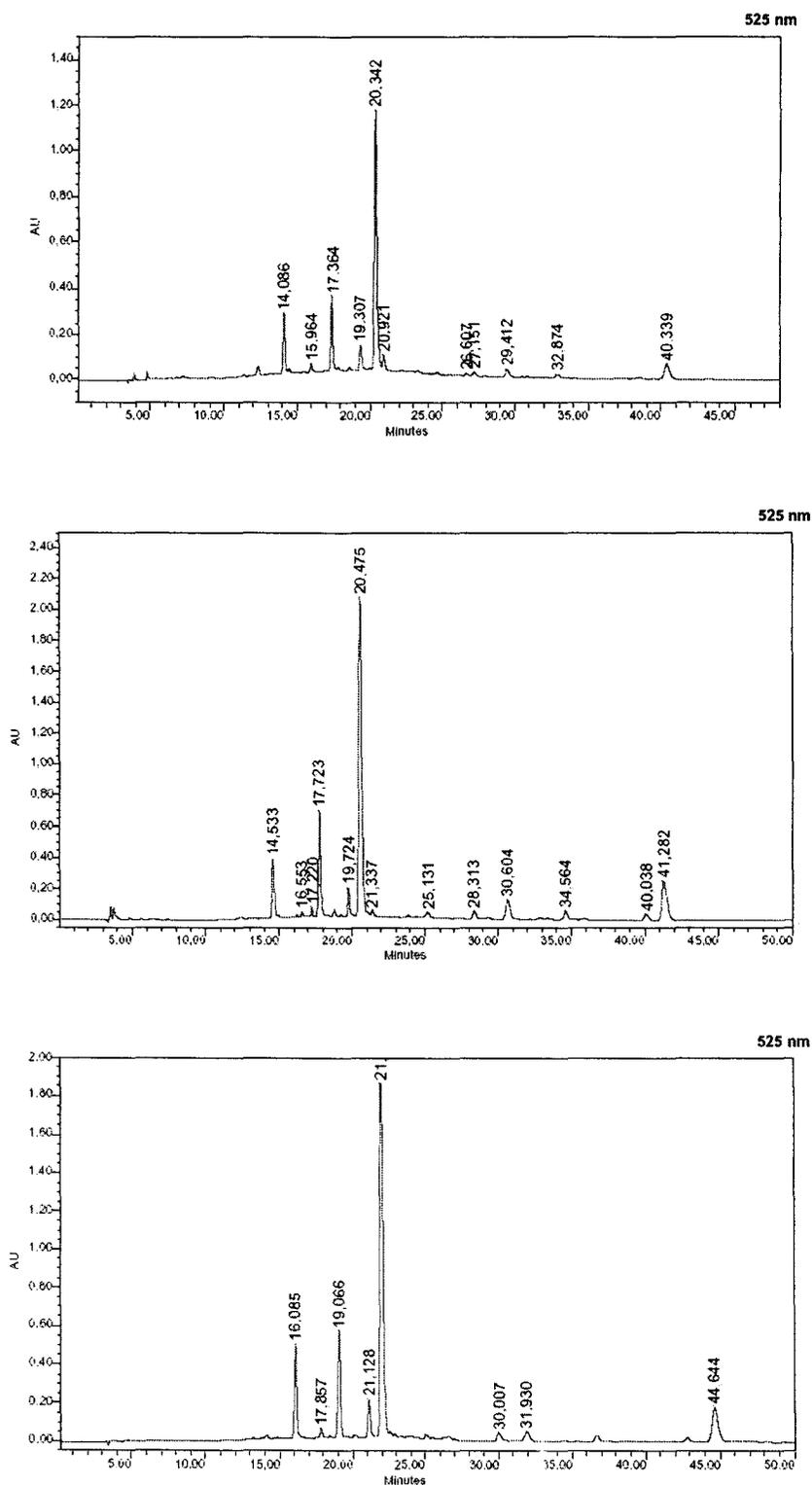


Figura 32. Cromatogramas de las muestras de vino tinto 95 a 97.

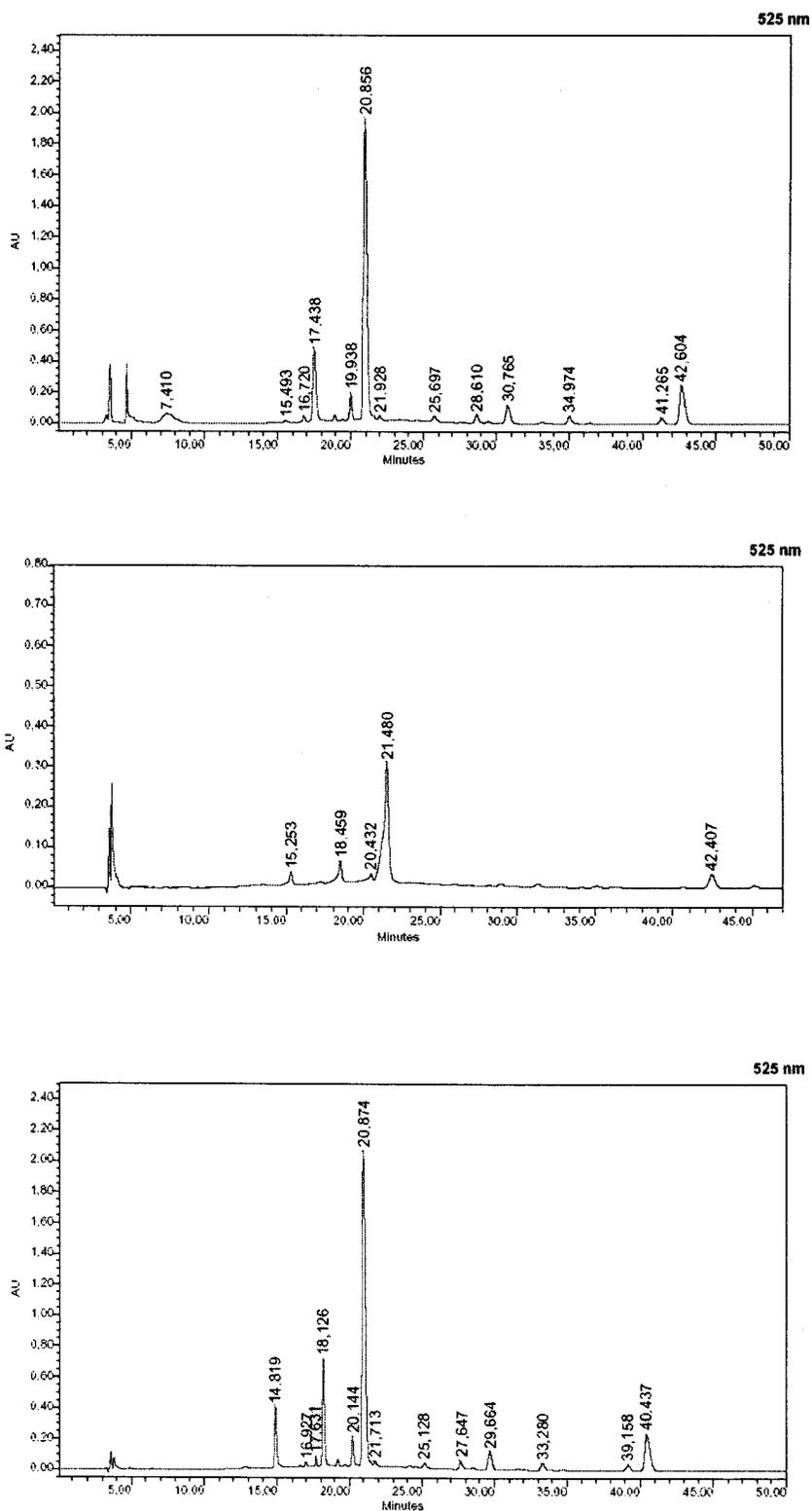


Figura 33. Cromatogramas de las muestras de vino tinto 98 a 100.

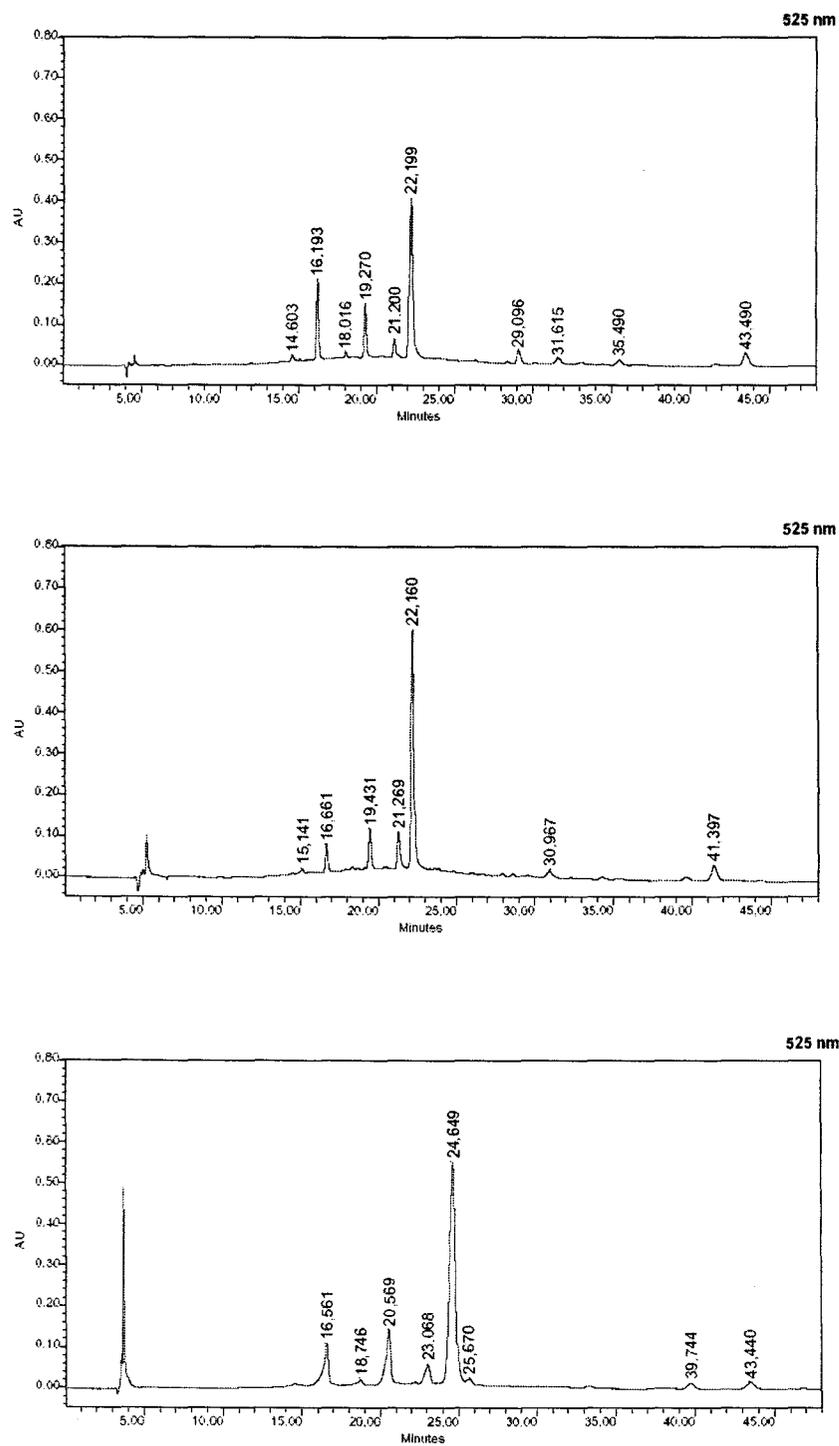


Figura 34. Cromatogramas de las muestras de vino tinto 101 a 103.

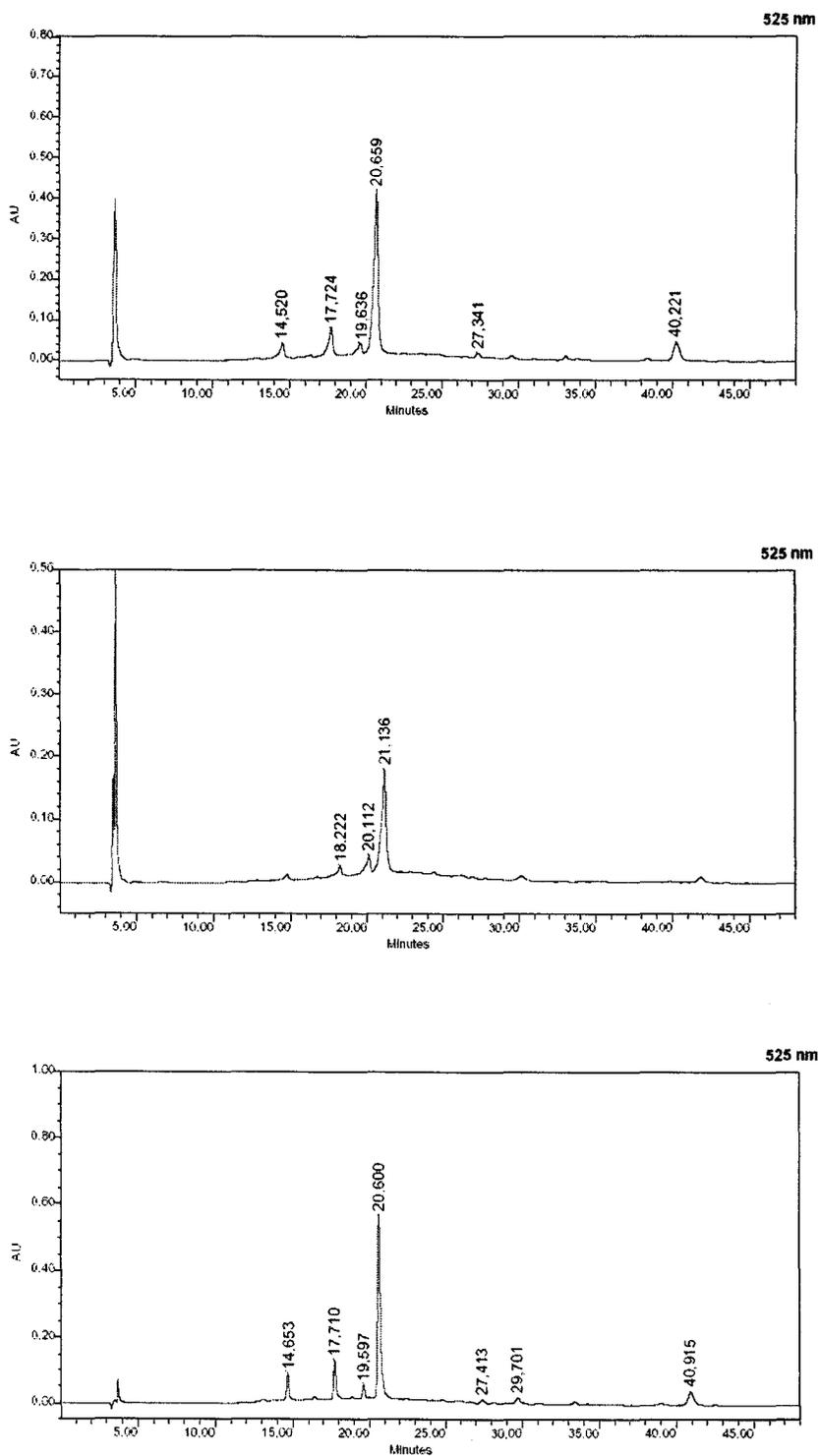


Figura 35. Cromatogramas de las muestras de vino tinto 104 a 106.

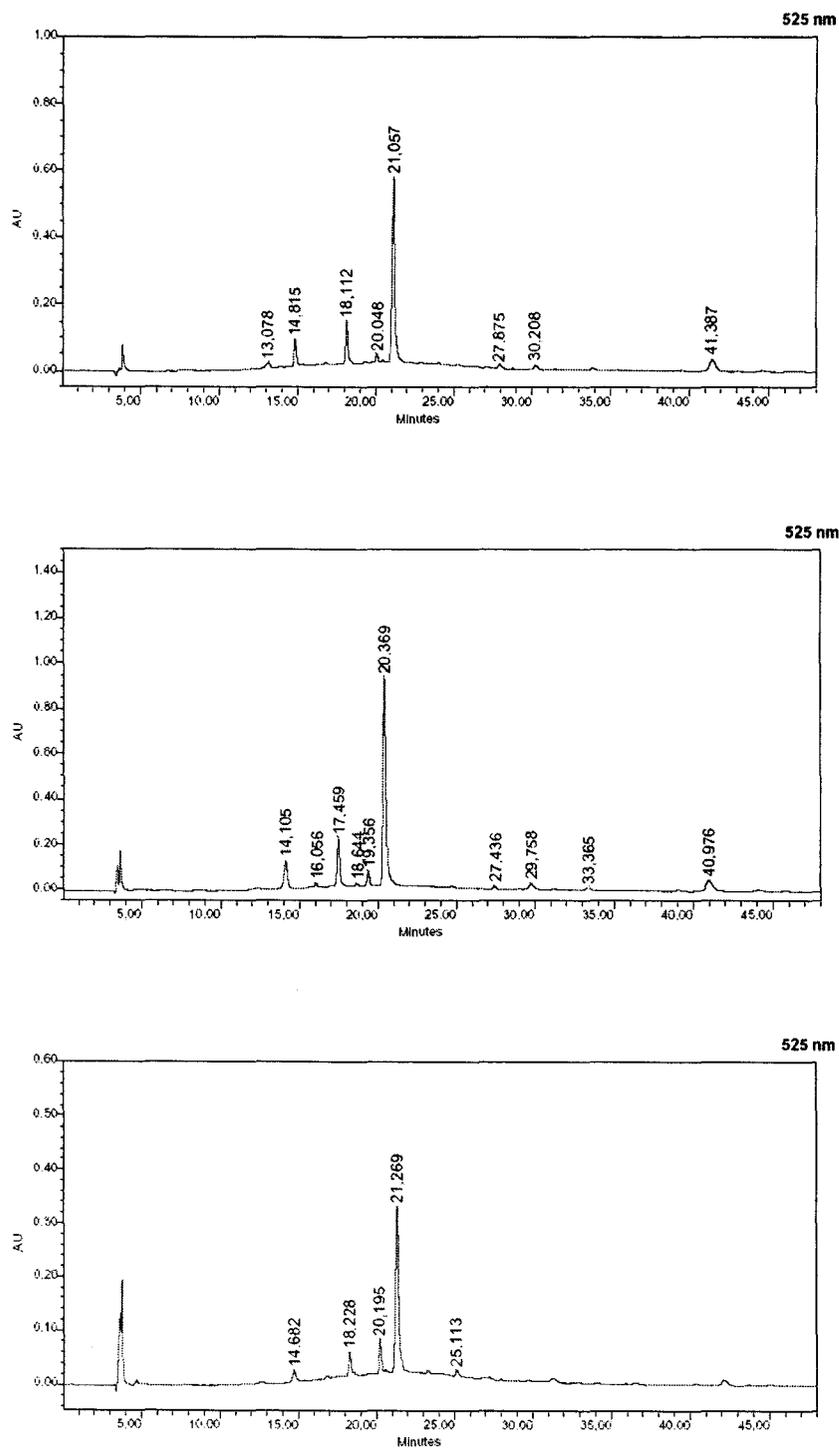


Figura 36. Cromatogramas de las muestras de vino tinto 107 a 109.

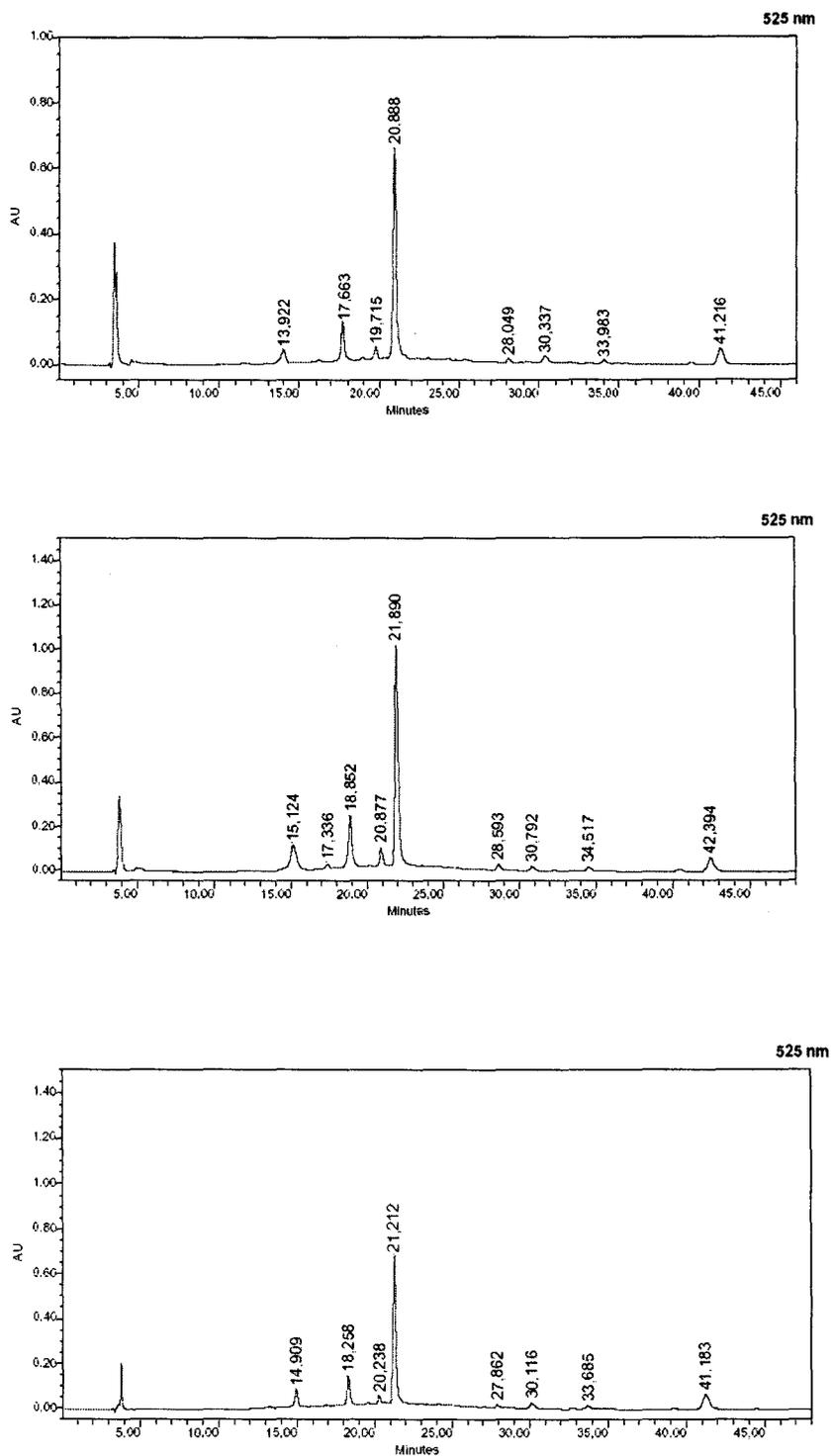


Figura 37. Cromatogramas de las muestras de vino tinto 110 a 112.

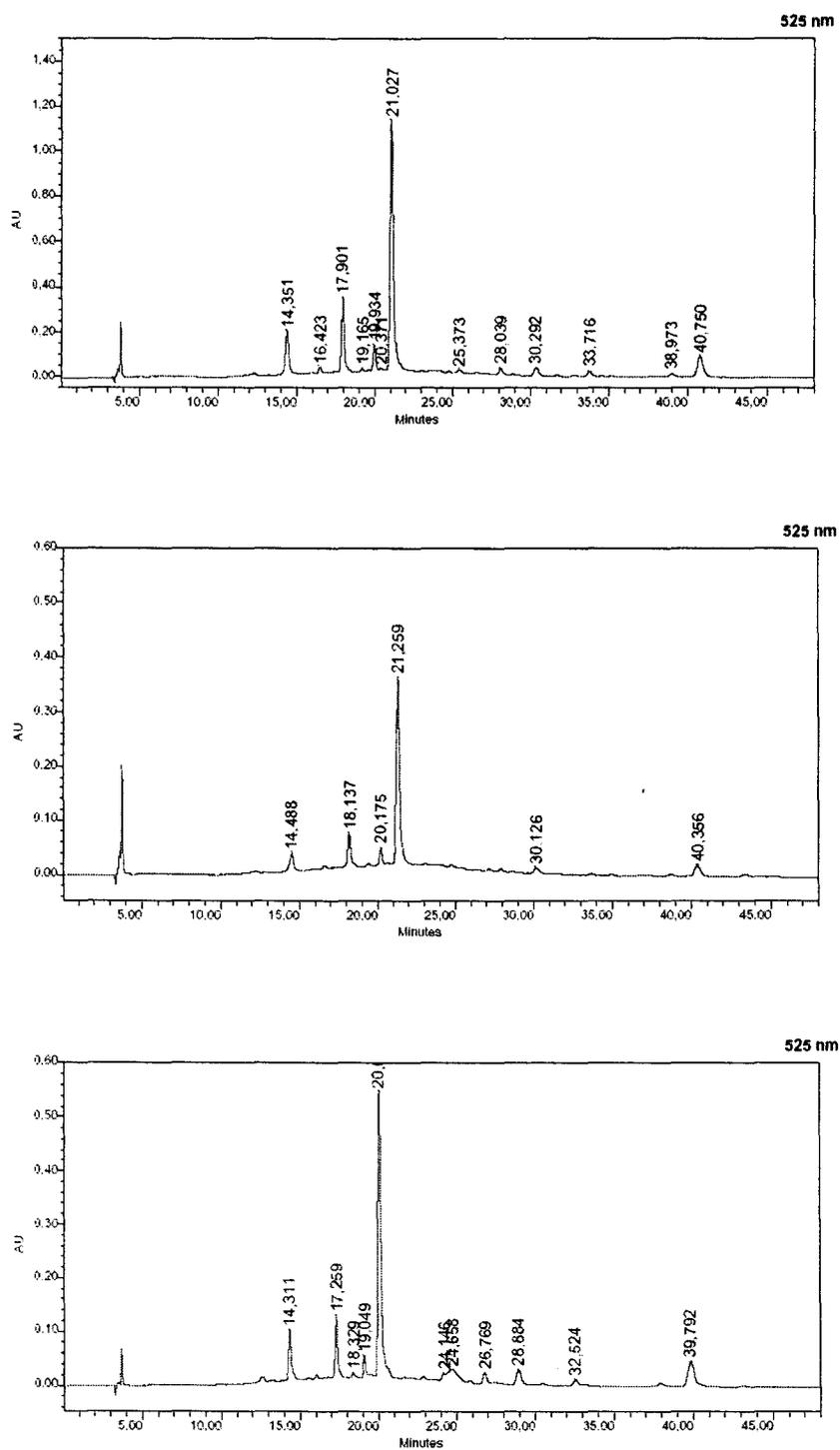


Figura 38. Cromatogramas de las muestras de vino tinto 113 a 115.

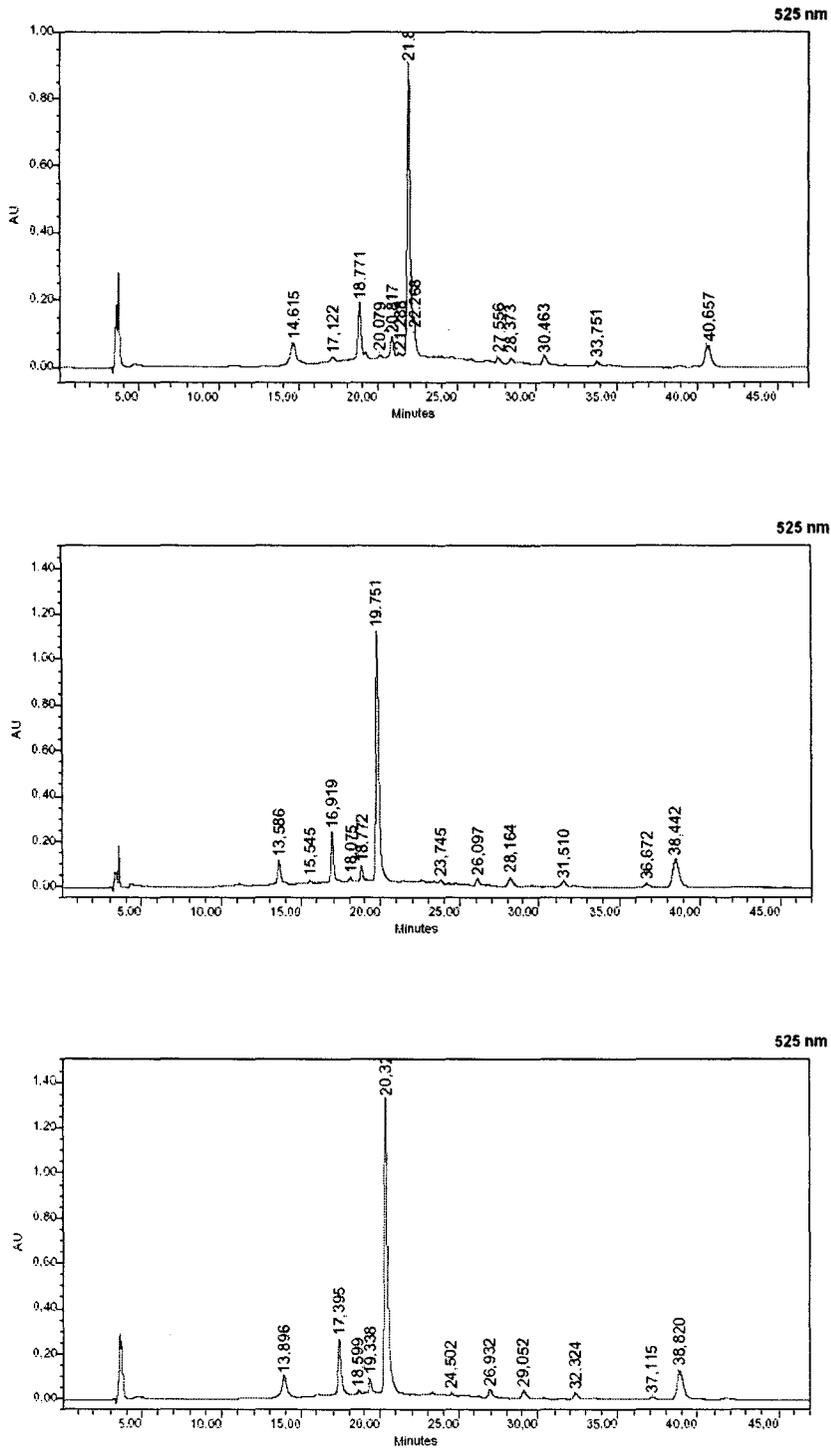


Figura 39. Cromatogramas de las muestras de vino tinto 116 a 118.

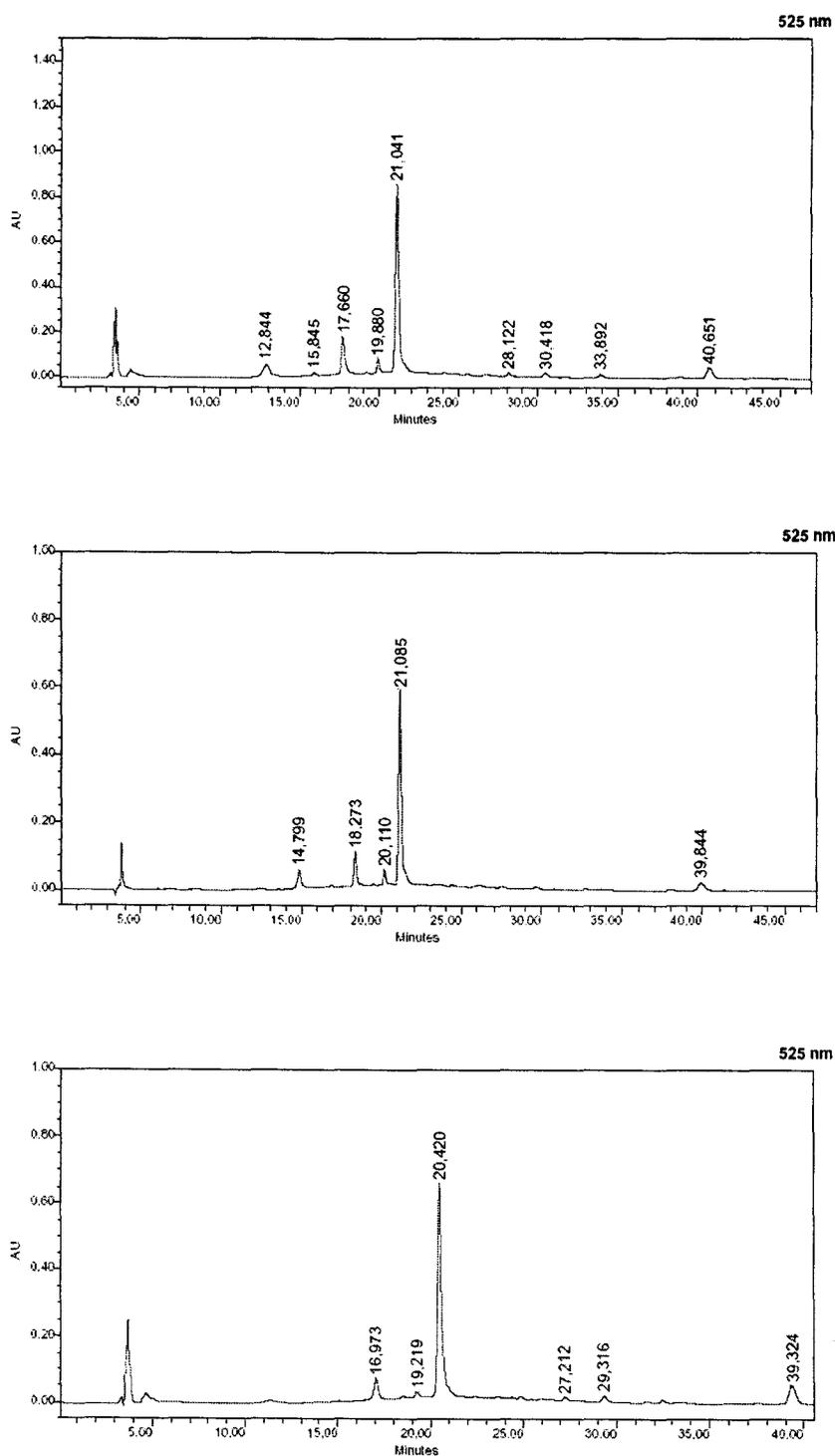


Figura 40. Cromatogramas de las muestras de vino tinto 119 a 121.

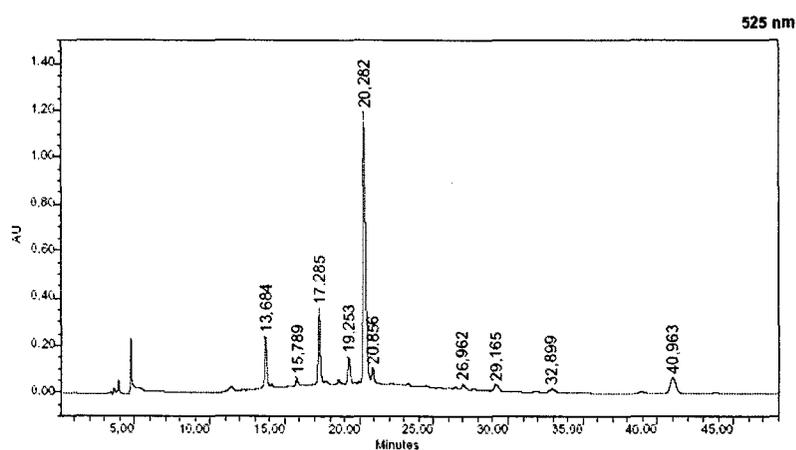
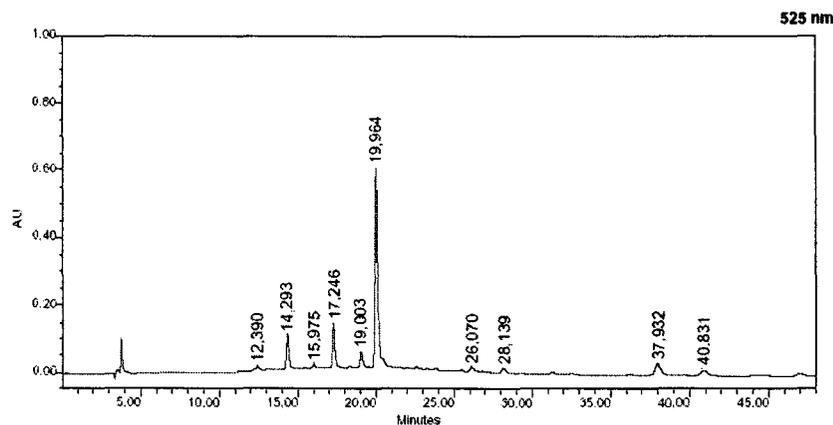
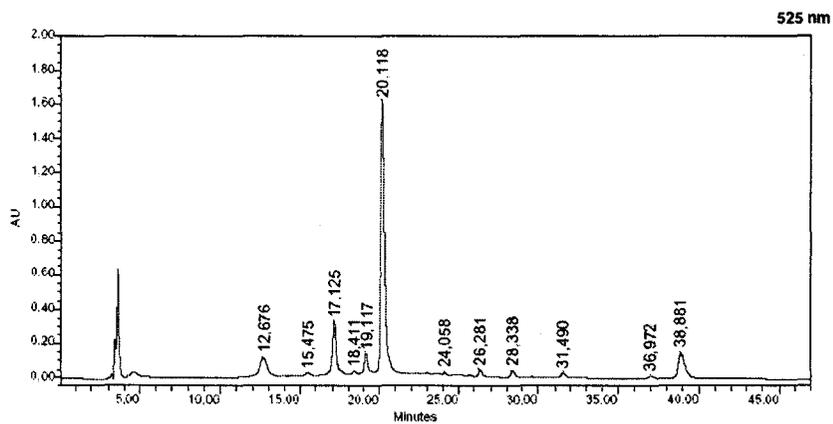


Figura 41. Cromatogramas de las muestras de vino tinto 122 a 124.

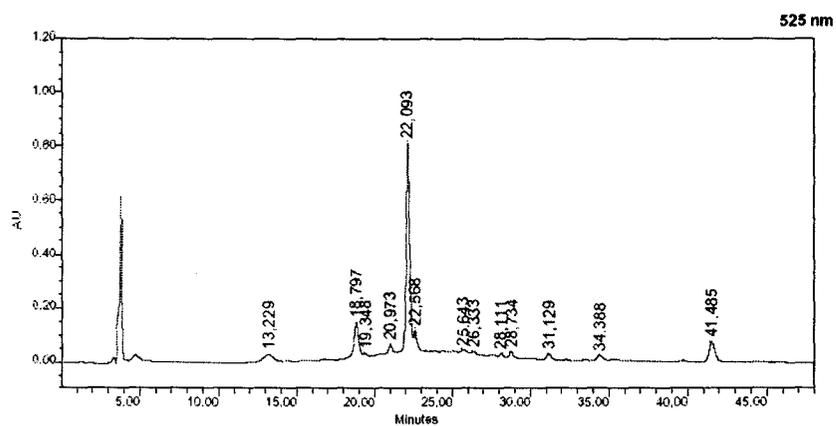


Figura 42. Cromatograma de la muestra de vino tinto 125.

Tabla 12. Ecuaciones par obtener los antocianos en función de los parámetros de color (método sencillo y tras selección previa)

	R <sup>2</sup>
Df = <b>-6.112 a*</b> -1.211 b* + 5.393 C* <sub>ab</sub> -0.407 h <sub>ab</sub> +0.195 L* + <b>0.812 s*<sub>uv</sub></b>	0.6295
Pt = <b>-6.124 a*</b> -1.379 b* + 5.546 C* <sub>ab</sub> -0.205 h <sub>ab</sub> +0.113 L* + <b>0.681 s*<sub>uv</sub></b>	0.6751
Pn = <b>-3.985 a*</b> -1.146 b* + 3.661 C* <sub>ab</sub> -0.002 h <sub>ab</sub> +0.293 L* + <b>0.823 s*<sub>uv</sub></b>	0.5937
Mv = <b>-6.901 a*</b> -1.338 b* + 6.045 C* <sub>ab</sub> -0.506 h <sub>ab</sub> - 0.036 L* + 0.579 s* <sub>uv</sub>	0.6824
P09 = -1.426 a* -0.022 b* + 0.808 C* <sub>ab</sub> -0.310 h <sub>ab</sub> - 0.323 L* + 0.200 s* <sub>uv</sub>	0.0288
Mv-ac = <b>-4.681 a*</b> -1.359 b* + 4.447 C* <sub>ab</sub> + 0.124 h <sub>ab</sub> - 0.145 L* + 0.077 s* <sub>uv</sub>	0.4275
Mv-cm = <b>-5.131 a*</b> -1.521 b* + 4.924 C* <sub>ab</sub> +0.2555 h <sub>ab</sub> - 0.339 L* - 0.009 s* <sub>uv</sub>	0.5297

Tabla 13. Ecuaciones par obtener los antocianos en función de los parámetros de color (método Forward con y sin selección previa)

	R <sup>2</sup>
Df = <b>-5.958 a*</b> -1.295 b* + 5.309 C* <sub>ab</sub> -0.239 h <sub>ab</sub> + 0.636 s* <sub>uv</sub>	0.6277
Pt = <b>-6.035 a*</b> -1.428 b* + 5.497 C* <sub>ab</sub> -0.107 h <sub>ab</sub> + 0.578 s* <sub>uv</sub>	0.6744
Pn = <b>-3.985 a*</b> -1.146 b* + 3.661 C* <sub>ab</sub> -0.002 h <sub>ab</sub> +0.293 L* + <b>0.823 s*<sub>uv</sub></b>	0.5937
Mv = <b>-6.929 a*</b> -1.323 b* + 6.060 C* <sub>ab</sub> -0.537 h <sub>ab</sub> + 0.6125 s* <sub>uv</sub>	0.6824
P09 = - 0.142 L*	0.0200
Mv-ac = <b>-4.682 a*</b> -1.264 b* + 4.607 C* <sub>ab</sub>	0.4233
Mv-cm = <b>-5.153 a*</b> -1.518 b* + 4.936 C* <sub>ab</sub> +0.245 h <sub>ab</sub> - 0.335 L*	0.5297

Tabla 14. Ecuaciones para obtener los parámetros de color en función de los 6 antocianos mayoritarios (método sencillo y tras selección previa)

	R <sup>2</sup>
a* = <b>-0.906 Df</b> + 1.555 Pt + 0.432 Pn + 0.061 Mv -0.198 Mv-ac -0.375 Mv-cm	0.4595
b* = -0.565 Df + <b>1.575 Pt</b> + 0.110 Pn - <b>1.945 Mv</b> - 0.128 Mv-ac + 0.309 Mv-cm	0.4830
C <sub>ab</sub> * = <b>-1.080 Df</b> + <b>2.001 Pt</b> + <b>0.470 Pn</b> -0.314 Mv -0.229 Mv-ac -0.335 Mv-cm	0.4225
h* = -0.170 Df + 0.906 Pt -0.057 Pn - <b>1.768 Mv</b> +0.013 Mv-ac + <b>0.428 Mv-cm</b>	0.5085
L* = 0.870 Df - <b>1.448 Pt</b> - <b>0.390 Pn</b> -0.063 Mv + 0.256 Mv-ac + 0.292 Mv-cm	0.3622
S* <sub>uv</sub> = <b>-1.270 Df</b> + <b>2.372 Pt</b> + <b>0.568 Pn</b> - 0.562 Mv -0.260 Mv-ac -0.373 Mv-cm	0.4284

Tabla 15. Ecuaciones para obtener los parámetros de color en función de los 6 antocianos (método Forward con y sin selección previa)

	R <sup>2</sup>
$a^* = -0.906 Df + 1.596 Pt + 0.435 Pn - 0.193 Mv-ac - 0.360 Mv-cm$	0.4594
$b^* = 0.981 Pt - 1.969 Mv + 0.389 Mv-cm$	0.4748
$C_{ab}^* = -1.079 Df + 1.792 Pt + 0.454 Pn - 0.254 Mv-ac - 0.409 Mv-cm$	0.4201
$h^* = 0.657 Pt - 1.769 Mv + 0.478 Mv-cm$	0.5063
$L^* = 0.876 Df - 1.491 Pt - 0.394 Pn + 0.251 Mv-ac + 0.277 Mv-cm$	0.3621
$S_{uv}^* = -1.270 Df + 2.372 Pt + 0.569 Pn - 0.562 Mv - 0.260 Mv-ac - 0.373 Mv-cm$	0.4284

Tabla 16. Ecuaciones para obtener los parámetros de color en función de los 7 antocianos mayoritarios (método sencillo y tras selección previa)

	R <sup>2</sup>
$a^* = -0.9385 Df + 1.513 Pt + 0.432 Pn + 0.190 Mv + 0.121 p09 - 0.282 Mv-ac - 0.370 Mv-cm$	0.4723
$b^* = -0.557 Df + 1.586 Pt + 0.110 Pn - 1.977 Mv - 0.030 p09 - 0.108 Mv-ac + 0.370 Mv-cm$	0.4838
$C_{ab}^* = -0.112 Df + 1.960 Pt + 0.471 Pn - 0.185 Mv + 0.121 p09 - 0.313 Mv-ac - 0.330 Mv-cm$	0.4351
$h^* = -0.145 Df + 0.939 Pt - 0.057 Pn - 1.866 Mv - 0.092 p09 + 0.077 Mv-ac + 0.425 Mv-cm$	0.5159
$L^* = 0.916 Df - 1.390 Pt - 0.391 Pn - 0.245 Mv - 0.171 p09 + 0.375 Mv-ac + 0.286 Mv-cm$	0.3876
$s_{uv}^* = -1.307 Df + 2.323 Pt + 0.568 Pn - 0.412 Mv + 0.141 p09 - 0.358 Mv-ac - 0.368 Mv-cm$	0.4459

Tabla 17. Ecuaciones para obtener los parámetros de color en función de los 7 antocianos (método Forward con y sin selección previa)

	R <sup>2</sup>
$a^* = -0.938 Df + 1.638 Pt + 0.442 Pn + 0.116 p09 - 0.263 Mv-ac - 0.327 Mv-cm$	0.4714
$b^* = 0.981 Pt - 1.970 Mv + 0.389 Mv-cm$	0.4748
$C_{ab}^* = -1.113 Df + 1.838 Pt + 0.461 Pn + 0.126 p09 - 0.331 Mv-ac - 0.373 Mv-cm$	0.4343
$h^* = 0.678 Pt - 1.806 Mv - 0.076 p09 + 0.500 Mv-cm$	0.5120
$L^* = 0.916 Df - 1.551 Pt - 0.403 Pn - 0.164 p09 + 0.350 Mv-ac + 0.230 Mv-cm$	0.3863
$s_{uv}^* = -1.307 Df + 2.323 Pt + 0.569 Pn - 0.412 Mv + 0.142 p09 - 0.358 Mv-ac - 0.368 Mv-cm$	0.4459

Tabla 18. Ecuaciones para obtener los parámetros de color en función de los 12 antocianos presentes en mas 20% de las muestras (método sencillo)

	R <sup>2</sup>
$a^* = 0.093 p01 - 0.627 Df + 0.008 Cy + 0.127 p04 + 1.250 Pt + 0.423 Pn + 0.168 Mv + 0.130 p09 - 0.5141$ $0.225 p14 - 0.331 Mv-ac + 0.096 Pt-cm - 0.261 Mv-cm$	0.5141
$b^* = -0.092 p01 - 0.785 Df + 0.203 Cy - 0.273 p04 + 1.362 Pt + 0.051 Pn - 1.557 Mv - 0.043 p09 - 0.5582$ $0.016 p14 + 0.035 Mv-ac + 0.097 Pt-cm + 0.165 Mv-cm$	0.5582
$C_{ab}^* = 0.070 p01 - 0.831 Df + 0.032 Cy + 0.097 p04 + 1.688 Pt + 0.447 Pn - 0.171 Mv + 0.128 p09 - 0.4674$ $- 0.237 p14 - 0.352 Mv-ac + 0.100 Pt-cm - 0.216 Mv-cm$	0.4674
$h^* = -0.134 p01 - 0.428 Df + 0.135 Cy - 0.233 p04 + 0.875 Pt - 0.110 Pn - 1.553 Mv - 0.105 p09 + 0.5928$ $0.108 p14 + 0.181 Mv-ac + 0.017 Pt-cm + 0.288 Mv-cm$	0.5928
$L^* = -0.071 p01 + 0.682 Df - 0.122 Cy - 0.085 p04 - 0.934 Pt - 0.341 Pn - 0.471 Mv - 0.179 p09 + 0.4155$ $+ 0.175 p14 + 0.402 Mv-ac - 0.123 Pt-cm + 0.279 Mv-cm$	0.4155
$s_{uv}^* = 0.050 p01 - 1.061 Df + 0.184 Cy + 0.082 p04 + 1.715 Pt + 0.485 Pn - 0.051 Mv + 0.150 p09 - 0.4760$ $0.177 p14 - 0.390 Mv-ac + 0.148 Pt-cm - 0.385 Mv-cm$	0.4760

Tabla 19. Ecuaciones para obtener los parámetros de color en función de los 12 antocianos presentes en mas 20% de las muestras (método forward)

	R <sup>2</sup>
$a^* = 0.078 p01 - 0.628 Df + 0.127 p04 + 1.351 Pt + 0.384 Pn + 0.131 p09 - 0.256 p14 - 0.378 Mv-ac$	0.4741
$b^* = -0.117 p01 + 0.210 Cy - 0.201 p04 - 0.898 Mv + 0.261 Pt-cm$	0.5397
$C_{ab}^* = -0.850 Df + 0.123 p04 + 1.887 Pt + 0.406 Pn - 0.386 Mv + 0.126 p09 - 0.242 p14 - 0.409 Mv-ac$	0.4593
$h^* = -0.130 p01 - 0.423 Df - 0.232 p04 + 1.102 Pt - 1.805 Mv - 0.106 p09 + 0.122 p14 + 0.177 Mv-ac + 0.319 Mv-cm$	0.5878
$L^* = 0.682 Df - 0.112 p04 - 1.350 Pt - 0.340 Pn - 0.173 p09 + 0.175 p14 + 0.453 Mv-ac$	0.4019
$s_{uv}^* = -1.292 Df + 0.197 Cy + 0.124 p04 + 1.908 Pt + 0.454 Pn + 0.152 p09 - 0.446 Mv-ac - 0.417 Mv-cm$	0.4635

Tabla 20. Ecuaciones para obtener los parámetros de color en función de los 12 antocianos presentes en mas 20% de las muestras (método sencillo tras selección previa)

	R <sup>2</sup>
$a^* = -0.495 Df - 0.003 Cy + 0.153 p04 + 1.204 Pt + 0.373 Pn + 0.036 Mv - 0.247 p14 - 0.290 Mv-ac + 0.098 Pt-cm - 0.180 Mv-cm$	0.4924
$b^* = -0.923 Df + 0.214 Cy - 0.309 p04 + 1.4830.880 Pt + 0.103 Pn - 1.532 Mv - 0.001 p14 + 0.059 Mv-ac + 0.085 Pt-cm + 0.90 Mv-cm$	0.5500
$C_{ab}^* = -0.732 Df + 0.024 Cy + 0.113 p04 + 1.678 Pt + 0.409 Pn - 0.306 Mv - 0.256 p14 - 0.299 Mv-ac + 0.097 Pt-cm - 0.152 Mv-cm$	0.4491
$h^* = -0.626 Df + 0.152 Cy - 0.281 p04 + 1.014 Pt - 0.035 Pn - 1.465 Mv + 0.135 p14 + 0.183 Mv-ac + 0.004 Pt-cm + 0.175 Mv-cm$	0.5690
$L^* = 0.585 Df - 0.114 Cy - 0.094 p04 - 0.967 Pt - 0.304 Pn - 0.271 Mv + 0.198 p14 + 0.311 Mv-ac - 0.116 Pt-cm + 0.211 Mv-cm$	0.3833
$S_{uv}^* = -0.995 Df + 0.179 Cy + 0.087 p04 + 1.759 Pt + 0.459 Pn - 0.222 Mv - 0.195 p14 - 0.308 Mv-ac + 0.140 Pt-cm - 0.335 Mv-cm$	0.4541

Tabla 21. Ecuaciones para obtener los parámetros de color en función de los 12 antocianos presentes en mas 20% de las muestras (método forward tras selección previa)

	R <sup>2</sup>
$a^* = 0.167 p04 + 0.644 Pt + 0.311 Pn - 0.297 p14 - 0.268 Mv-ac + 0.135 Pt-cm$	0.4871
$b^* = 0.244 Cy - 0.266 p04 - 0.973 Mv + 0.135 Mc-ac + 0.234 Pt-cm$	0.5310
$C_{ab}^* = -0.833 Df + 0.108 p04 + 1.956 Pt + 0.408 Pn - 0.526 Mv - 0.254 p14 - 0.314 Mv-ac$	0.4457
$h^* = -0.247 p04 + 0.135 Cy - 1.097 Mv + 0.172 p14 + 0.250 Mc-ac + 0.127 Pt-cm$	0.5572
$L^* = 0.716 Df - 1.371 Pt - 0.341 Pn + 0.235 p14 + 0.297 Mv-ac$	0.3700
$S^*_{uv} = -1.106 Df + 0.219 Cy + 1.707 Pt + 0.451 Pn - 0.227 p14 - 0.273 Mv-ac + 0.146 Pt-cm - 0.391 Mv-cm$	0.4492

Tabla 22. Ecuaciones para obtener los parámetros de color en función de los 20 antocianos totales (método sencillo)

	R <sup>2</sup>
$a^* = 0.118 p01 - 1.210 Df - 0.047 Cy + 0.185 p04 + 2.079 Pt + 0.149 p06 + 0.708 Pn - 0.274 Mv + 0.148 p09 + 0.129 p10 - 0.062 p11 + 0.006 p12 + 0.007 Pt-ac - 0.136p14 - 0.045 Pn-ac - 0.380 Mv-ac - 0.082 Mc-cf + 0.102 Pt-cm - 0.248Pn-cm - 0.251 Mv-cm$	0.5602
$b^* = -0.096 p01 - 0.136 Df + 0.218 Cy - 0.318 p04 + 0.631 Pt - 0.100 p06 - 0.105 Pn - 1.466 Mv - 0.387 p09 + 0.233 p10 + 0.003 p11 - 0.060 p12 - 0.086 Pt-ac - 0.093 p14 - 0.043 Pn-ac + 0.008 Mv-ac + 0.194 Mc-cf + 0.061 Pt-cm + 0.305 Pn-cm + 0.297 Mv-cm$	0.5925
$C_{ab}^* = 0.094 p01 - 1.327 Df - 0.020 Cy + 0.146 p04 + 2.419 Pt + 0.133 p06 + 0.722 Pn - 0.611 Mv + 0.147 p09 + 0.131 p10 - 0.052 p11 - 0.016 p12 - 0.008 Pt-ac - 0.170p14 - 0.060 Pn-ac - 0.409 Mv-ac - 0.049 Mc-cf + 0.102 Pt-cm - 0.202Pn-cm - 0.176 Mv-cm$	0.5090
$h^* = -0.149 p01 + 0.364 Df + 0.164 Cy - 0.298 p04 - 0.146 Pt - 0.163 p06 - 0.324 Pn - 1.257 Mv - 0.106 p09 - 0.060 p10 + 0.041 p11 - 0.065 p12 - 0.072 Pt-ac - 0.018 p14 - 0.041 Pn-ac + 0.185 Mv-ac + 0.178 Mc-cf + 0.011 Pt-cm + 0.351 Pn-cm + 0.403 Mv-cm$	0.6381
$L^* = -0.081 p01 + 1.475 Df - 0.114 Cy - 0.147 p04 - 2.118 Pt - 0.210 p06 - 0.575 Pn - 0.070 Mv - 0.188 p09 - 0.177 p10 + 0.025 p11 - 0.059 p12 - 0.007 Pt-ac + 0.048 p14 - 0.003 Pn-ac + 0.493 Mv-ac + 0.049 Mc-cf - 0.053 Pt-cm + 0.251 Pn-cm + 0.299 Mv-cm$	0.4791
$S^*_{uv} = 0.054 p01 - 1.324 Df + 0.012 Cy + 0.111 p04 + 2.087 Pt + 0.129 p06 + 0.791 Pn - 0.442 Mv + 0.168 p09 + 0.137 p10 - 0.035 p11 - 0.021 p12 - 0.060 Pt-ac - 0.124 p14 - 0.129 Pn-ac - 0.440 Mv-ac - 0.022 Mc-cf + 0.162 Pt-cm - 0.087 Pn-cm - 0.325 Mv-cm$	0.5231

Tabla 23. Ecuaciones para obtener los parámetros de color en función de los 20 antocianos totales (método forward)

	R <sup>2</sup>
$a^* = 0.112 p01 - 1.147 Df + 0.168 p04 + 1.919 Pt + 0.149 p06 + 0.563 Pn + 0.149 p09 + 0.126 p10 - 0.074 p11 - 0.104 p14 - 0.421 Mv-ac - 0.156 Pn-cm - 0.321 Mv-cm$	0.5517
$b^* = -0.098 p01 + 0.152 Cy - 0.282 p04 + 0.489 Pt - 1.362 Mv - 0.077 p12 - 0.074 Pn-ac + 0.180 Mc-cf + 0.338 Pn-cm$	0.5809
$C_{ab}^* = -1.395 Df + 0.159 p04 + 2.738 Pt + 0.157 p06 + 0.597 Pn - 0.811 Mv + 0.138 p09 + 0.1129 p10 - 0.197p14 - 0.499 Mv-ac - 0.193 Pn-cm$	0.4956
$h^* = -0.134 p01 - 0.228 p04 - 0.118 p06 - 0.939 Mv - 0.081 p09 - 0.063 p12 + 0.172 p14 - 0.116 Pn-ac + 0.161 Mc-cf + 0.355 Pn-cm$	0.6106
$L^* = 1.131 Df - 0.197 p04 - 1.861 Pt - 0.249 p06 - 0.505 Pn - 0.193 p09 - 0.171 p10 + 0.607 Mv-ac + 0.127 Pn-cm + 0.326 Mv-cm$	0.4648
$S^*_{uv} = -1.196 Df + 0.150 Cy + 0.176 p04 + 1.708 Pt + 0.130 p06 + 0.686 Pn + 0.169 p09 + 0.138 p10 - 0.087 p14 - 0.138 Pn-ac - 0.552 Mv-ac + 0.091 Pt-cm - 0.465 Mv-cm$	0.5101

Tabla 24. Ecuaciones para obtener los parámetros de color en función de los 20 antocianos totales (método sencillo tras selección previa)

	R <sup>2</sup>
a* = -0.955 Df + 0.015 Cy + 0.139 p04 + <b>1.770 Pt</b> + <b>0.556 Pn</b> - 0.237 Mv + 0.044 Pt-ac - 0.270 p14 - 0.290 Mv-ac + 0.162 Pt-cm - 0.241 Pn-cm - 0.103 Mv-cm	0.5040
b* = -0.426 Df + <b>0.267 Cy</b> - <b>0.376 p04</b> + 0.880 Pt - 0.145 p06 - 0.071 Pn - <b>1.455 Mv</b> - 0.100 Pt-ac - 0.092 p14 + 0.083 Mv-ac	0.5796
+ <b>0.183 Mc-cf</b> + 0.098 Pt-cm + 0.215 Pn-cm + 0.267 Mv-cm	
C <sub>ab</sub> * = -1.171 Df + 0.043 Cy + 0.098 p04 + <b>2.229 Pt</b> + <b>0.578 Pn</b> - 0.585 Mv - 0.022 Pt-ac - 0.290 p14 - 0.295 Mv-ac + 0.167 Pt-cm	0.4595
- 0.227 Pn-cm - 0.055 Mv-cm	
h* = -0.066 Df + 0.177 Cy - <b>0.313 p04</b> - 0.111 Pt - 0.178 p06 - 0.225 Pn - <b>1.161 Mv</b> - 0.129 Pt-ac + 0.037 p14 + 0.273 Mv-ac	0.5927
+ 0.143 Pt-cm + 0.152 Pn-cm + 0.362 Mv-cm	
L* = 1.292 Df - 0.081 Cy - 0.137 p04 - <b>2.194 Pt</b> - <b>0.262 p06</b> - <b>0.493 Pn</b> - 0.199 Mv - 0.032 Pt-ac + 0.134 p14 + <b>0.401 Mv-ac</b>	0.4173
+ 0.044 Mc-cf + 0.028 Pt-cm + 0.159 Pn-cm + 0.342 Mv-cm	
S* <sub>uv</sub> = -1.470 Df + 0.176 Cy + 0.093 p04 + <b>2.595 Pt</b> + 0.142 p06 + <b>0.580 Pn</b> - 0.613 Mv - 0.032 Pt-ac - 0.204 p14 - <b>0.350 Mv-ac</b>	0.4686
+ 0.085 Pt-cm - 0.118 Pn-cm - 0.317 Mv-cm	

Tabla 25. Ecuaciones para obtener los parámetros de color en función de los 20 antocianos totales (método forward tras selección previa)

	R <sup>2</sup>
a* = <b>0.186 p04</b> + <b>0.696 Pt</b> + 0.102 p06 + <b>0.304 Pn</b> - <b>0.294 p14</b> - <b>0.323 Mv-ac</b> + 0.071 Pt-cm	0.4927
b* = <b>0.243 Cy</b> - <b>0.323 p04</b> - 0.150 p06 - <b>0.923 Mv</b> + <b>0.200 Mc-cf</b> + <b>0.256 Pn-cm</b> + 0.134 Pt-cm	0.5670
C <sub>ab</sub> * = - <b>1.318 Df</b> + 0.117 p04 + <b>2.773 Pt</b> + 0.147 p06 + <b>0.578 Pn</b> - <b>0.926 Mv</b> - <b>0.273 p14</b> - <b>0.361 Mv-ac</b> - 0.177 Pn-cm	0.4652
h* = - <b>0.277 p04</b> - 0.150 p06 - <b>1.02 Mv</b> + 0.184 p14 + 0.244 Mc-ac + 0.132 Pn-cm + 0.138 Pn-cm	0.5743
L* = 0.795 Df - 0.140 p04 - <b>1.623 Pt</b> - <b>0.241 p06</b> - <b>0.402 Pn</b> + 0.144 p14 + <b>0.409 Mv-ac</b> + 0.397 Mv-cm	0.4093
S* <sub>uv</sub> = - <b>1.213 Df</b> + 0.208 Cy + 0.111 p04 + <b>1.925 Pt</b> + 0.140 p06 + <b>0.466 Pn</b> - 0.145 p14 - <b>0.385 Mv-ac</b> + 0.056 Pt-cm - <b>0.535 Mv-cm</b>	0.4617

## **X. BIBLIOGRAFÍA**

- . Abril, I.; Casp, A. (1999). Los compuestos fenólicos del vino. *Alimentación, Equipos y Tecnología* **10** ; 97-103.
- . Aerny, J. (1987). Disminución del contenido de los vinos en anhídrido sulfuroso. *Sem. Vitivinic.* **2113** ; 441-445.
- . Aleixandre, J.L.; Lizama, V. (1998). Factores que intervienen en la composición de un vino. *Alimentaria Noviembre* **98** ; 141-146.
- . Almela, L.; Javaloy, S.; Fernández-López, J.A.; López-Roca, J.M. (1995). Comparison between the tristimulus measurements  $Y_{xy}$  and  $L^* a^* b^*$  to evaluate the colour of young red wines. *Food Chem.* **53** ; 321-327.
- . Álvarez-Claro, M.; Hita, E. (1978). Espacio de color y estructura matemática. Parte segunda. *Óptica Pura y Aplicada* **11(2)** ; 119-122.
- . Álvarez-Claro, M.; Hita, E.; Pardo, G. (1976). Espacio de color y estructura matemática. *Óptica Pura y Aplicada* **9(2)** ; 109-111.
- . Álvarez-Moro, C.; Heredia-Mira, F.J. (1994). *PCROM: Cálculos colorimétricos*, v. 2.0. Registro de la Propiedad Intelectual, SE-2374, Sevilla.
- . Amerine, M.A.; Ough, C.S. (1976). *Análisis de vinos y mostos*. Ed. Acribia, Zaragoza.
- . Amerine, M.A.; Ough, C.S.; Bailey, C.B. (1959). Color values of California wines. *Food Technol.* **13** ; 170-175.
- . Arozarena, I.; Ayestarán, B.; Cantalejo, M.J.; Navarro, M.; Vera, M.; Abril, I.; Casp, A. (2001). Anthocyanin composition of Tempranillo, Garnacha and Cabernet Sauvignon grapes from high and low-quality vineyards over two years. *Eur. Food Res. Technol.* **214** ; 303-309.
- . Artigas, J.M.; Gil, J.C.; Felipe, A. (1985). El espacio uniforme de color CIELAB. Utilización. *Rev. Agroquim. Tecnol. Aliment.* **25(3)** ; 316-320.
- . ASTM Committee (1995). *Annual book of ASTM standards. E 308-95. Standard practice for computing the colors of objects by using the CIE system., 1 ed*
- . Attoe, E.L.; Von Elbe, J.H. (1981). Photochemical degradation of betanine and selected anthocyanins. *J. Food Sci.* **46 (6)** ; 1934-1937.

- . Ayala, F.; Echávarri, J.F.; Juárez, M.C.; Negueruela, A.I. (1993). Propuesta de un nuevo método de medida del color de vinos tintos y rosados. *Óptica Pura y Aplicada* **26(2)** ; 533-541.
- . Ayala, F.; Echávarri, J.F.; Negueruela, A.I. (1997). A new simplified method for measuring the color of wines. I. Red and Rosé wines. *Am. J. Enol. Vitic.* **48 (3)** ; 357-363.
- . Baigorri, J.; González, M.; Herrero, L.; Iñiguez-Crespo, M.; Molina-Ubeda, R. (1985). *La cata de los vinos, 2 ed.* Agricola Española, Madrid.
- . Bakker, J.; Arnold, G.M. (1993). Analysis of sensory and chemical data for color evaluation of a range of red port wines. *Am. J. Enol. Vitic.* **44** ; 27-34.
- . Bakker, J.; Bridle, P.; Bellworthy, S.J.; García-Viguera, C.; Reader, H.P. (1998). Effect of sulphur dioxide and must extraction on colour, phenolic composition and sensory quality of red table wine. *J. Sci. Food Agric.* **78** ; 297-307.
- . Bakker, J.; Bridle, P.; Timberlake, C.F. (1986). Tristimulus measurements (CIELAB 76) of port wine colour. *Vitis* **25** ; 67-78.
- . Bakker, J.; Bridle, P.; Honda, T.; Kuwano, H.; Saito, N.; Terahara, N.; Timberlake, C.F. (1997). Identification of a new anthocyanin occurring in some red wines. *Phytochemistry* **44** ; 1375-1382.
- . Bakker, J.; Timberlake, C.F. (1985a). The distribution and content of anthocyanins in young Port wines as determined by high performance liquid chromatography. *J. Sci. Food Agric.* **36** ; 1325-1333.
- . Bakker, J.; Timberlake, C.F. (1985b). The distribution of anthocyanins in grape skin extracts of Port wine cultivars as determined by High Performance Liquid Chromatography. *J. Sci. Food Agric.* **36** ; 1315-1324.
- . Bakker, J.; Timberlake, C.F. (1997). Isolation, identification, and characterization of new color-stable anthocyanins occurring in some red wines. *J. Agric. Food Chem.* **45** ; 35-43.
- . Baldi, A.; Romani, A.; Mulinacci, N.; Vincieri, F.F.; Casetta, B. (1995). HPLC/MS application to anthocyanins of *Vitis vinifera* L. *J. Agric. Food Chem.* **43** ; 2104-2109.

- . Baublis, A.; Berber-Jimenez, M. (1995). Estructural and conformatinal characterization of a stable anthocyanin from *Tradescantia pallida*. *J. Agric. Food Chem.* **43** ; 640-646.
- . Baumes, R.; Cordonnier, R.; Nitz, S.; Drawert, F. (1986). Identification and determination of volatile constituents in wines from different vine cultivars. *J. Sci. Food Agric.* **37** ; 927-943.
- . Belleoud, L.; Leluan, D.; Boyer, Y.S. (1966). Study on the effects of anthocyanin glycosides on the nocturnal vision of air controllers. *Rev. Med. Aeronaut. Spatiale* **18** ; 3-7.
- . Berns, R.S.; Peterson, K.H. (1988). Empirical modeling of systematic spectrophotometric errors. *Color Res. Appl.* **13** ; 243-256.
- . Bobbio, F.O.; Scamparini, A.R.P. (1982). Carbohydrates organic acids and anthocyanin of *Eugenia jambolona* Lamark. *Industria Alimentariaprille* ; 296-298.
- . Bombardelli, E.; Bonati, A.; Gabetta, B.; Martinelli, E.M.; Mustich, G.; Danieli, B. (1976). Gas-liquid chromatographic and mass spectrometric identification of anthocyanidins. *J. Chromatogr.* **120** ; 115-122.
- . Bourzeix, M. (1982). Compuestos fenólicos de uva y vino; en *Enología. Temas actuales* (Llaguno, C., ed.). Fondo Editorial ANQUE, Madrid, 177-217.
- . Breckenridge, F.C.; Schaub, W.R. (1939). Rectangular Uniform-Chromaticity-Scale Coordinates. *J. Opt. Soc. Am.* **29** ; 370-380.
- . Bridle, P. (1983). Color measurement in red wines; en *Sensory quality in foods and beverages. Definition, measurements and control* (Williams, A.A., ed.). Ellis Horwood Ltd., Chichester, 347-349.
- . Bridle, P.; García-Viguera, C. (1996). Capillary zone electrophoresis of anthocyanins, a comparison with HPLC. 47-48.
- . Brouillard, R. (1982). Chemical structure of anthocyanins; en *Anthocyanins as Food Colors* (Anon.) Academic Press, London, 1-40.
- . Brouillard, R.; Wigand, M.C.; Cheminat, A. (1990). Loss of colour, a prerequisite to plant pigmentation by flavonoids. *Phytochemistry* **29(11)** ; 3457-3460.

- . Brown, W.R.J.; Macadam, D.L. (1949). Visual Sensitivities to Combined Chromaticity and Luminance Differences. *J. Opt. Soc. Am.* **39(10)** ; 808-834.
- . Brun, G.; Dijoux, M.-G.; David, B.; Mariotte, A.-M. (1999). A new flavonol glycoside from *Catharanthus roseus*. *Phytochemistry* **50** ; 167-169.
- . Burns, J.; Gardner, P.T.; Matthews, D.; Duthie, G.G. (2001). Extraction of phenolics and changes in antioxidant activity of red wines during vinification. *J. Agric. Food Chem.* **49** ; 5797-5808.
- . Burns, P.D.; Berns, R.S. (1997). Error propagation analysis in color measurement and imaging. *Color Res. Appl.* **22(4)** ; 280-289.
- . Cabrita, L.; Froystein, N.A.; Andersen, O.M. (2000). Anthocyanin trisaccharides in blue berries of *Vaccinium padifolium*. *Food Chem.* **69** ; 33-36.
- . Calvi, J.P.; Francis, F.J. (1978). Stability of concord grape (*V. Lobrusca*) anthocyanins in model systems. *J. Food Sci.* **43(5)** ; 1448-1456.
- . Calvo, C. (1989). Atlas de color. Fundamentos y aplicaciones. *Rev. Agroquim. Tecnol. Aliment.* **29(1)** ; 15-29.
- . Cameira-dos Santos, P.-J.; Brillouet, J.M.; Cheynier, V.; Moutounet, M. (1996). Detection and partial characterisation of new anthocyanin-derived pigments in wine. *J. Sci. Food Agric.* **70** ; 204-208.
- . Campos, J. (1999). Instrumentación utilizada en la medida del color. *El problema de la medida y especificación del color*, Barcelona, 1-15.
- . Carreño, J.; Almela, L.; Martínez, A.; Fernández-López, J.A. (1997). Chemotaxonomical classification of red table grapes based on anthocyanin profile and external colour. *Lebensm. -Wiss. Technol. -Food Sci. Technol.* **30** ; 259-265.
- . CEE (1990). Reglamento no. 2676/90 de la Comisión de 17 de septiembre por el que se determinan los métodos de análisis comunitarios aplicables en el sector del vino. *Diario Oficial de las Comunidades Europeas* **L 272** ; 1-192.
- . Cheynier, V.; Souquet, J.M.; Kontek, A.; Moutounet, M. (1994). Anthocyanin degradation in oxidizing grape musts. *J. Sci. Food Agric.* **66** ; 283-288.

- . Cheynier, V.F.; Basire, N.; Rigaud, J. (1989). Mechanism of trans-caffeoyltartaric acid and catechin oxidation in model solutions containing grape polyphenoloxidase. *J. Agric. Food Chem.* **37** ; **1069-1071**.
- . Cheynier, V.F.; Ricardo-da-Silva, J.M. (1991). Oxidation of grape procyanidins in model solutions containing trans-caffeoyltartaric acid and polyphenol oxidase. *J. Agric. Food Chem.* **39** ; **1047-1049**.
- . Cheynier, V.F.; Rigaud, J.; Moutounet, M. (1990). Oxidation kinetics of trans-caffeoyltartrate and its glutathione derivatives in grape musts. *Phytochemistry* **29(6)** ; **1751-1753**.
- . Cheynier, V.F.; Vans, H.T. (1988). Oxidation of trans-caftaric acid and 2-S-Glutathionylcaftaric acid in model solutions. *J. Agric. Food Chem.* **36** ; **10-15**.
- . CIE (1971). *Colorimetry (Official Recommendations of the International Commission on Illumination)*, CIE Publication No. 15 (E-1.3.1). Bureau Central de la CIE, Paris.
- . CIE (1978). *Recommendations on Uniform Color Spaces, Color-Difference Equations, Psychometric Color Terms*, CIE Publication No. 15 (E-1.3.1) 1971, Supplement 2. Bureau Central de la CIE, Viena.
- . CIE (1986). *Colorimetry, 2nd edn. Publication CIE No. 15.2*. CIE Central Bureau, Vienna.
- . CIE (1991a). CIE standard colorimetric observers. **ISO/ CIE 10527: 1991 (E)**
- . CIE (1991b). CIE standards colorimetric illuminants. **ISO / CIE 10526: 1991 (E)**
- . CIE (1995). Industrial color-difference evaluation. *Commission Internationale de L'Eclairage, Technical Report CIE 116-1995* ; **I-V**.
- . Cornuz, G.; Wyler, H.; Lauterwein, J. (1981). Pelargonidin 3-malonylsophoroside from the red iceland poppy, *Papaver nudicaule*. *Phytochemistry* **20(6)** ; **1461-1462**.
- . Curtright, R.; Rynearson, J.A.; Curtright, R. (1996). Anthocyanins. Model compounds for learning about more than pH. *Journal of Chemical Education* **73(4)** ; **306-309**.

- . Da Costa, C.T.; Horton, D.; Margolis, S.A. (2000). Analysis of anthocyanins in foods by liquid chromatography, liquid chromatography-mass spectrometry and capillary electrophoresis. *Journal of Chromatography A* **881** ; 403-410.
- . Dallas, C.; Ricardo-da-Silva, J.M.; Laureano, O. (1996). Products formed in model wine solutions involving anthocyanins, procyanidin B2, and acetaldehyde. *J. Agric. Food Chem.* **44** ; 2402-2407.
- . Dangles, O.; Brouillard, R. (1992). Polyphenol interactions. The copigmentation case: thermodynamic data from temperature variation and relaxation kinetics. Medium effect. *Can. J. Chem.* **70** ; 2174-2189.
- De Rosa, T. (1988). *Tecnología del vino tinto*. Ed. Mundi-Prensa, Madrid.
- . Degenhardt, A.; Knapp, H.; Winterhalter, P. (2000). Rapid isolation of malvidin-3-glucoside from red wine by high speed counter-current chromatography (HSCCC). *Vitis* **39** (1) ; 43-44.
- . Diaz, L.S.; Casque, F.; Lafuente, B. (1976). Estabilidad de los pigmentos antocianicos de los zumos de uvas viníferas e híbridas. *Rev. Agroquim. Tecnol. Aliment.* **16**(4) ; 509-515.
- . Downham, A.; Collins, P. (2000). Colouring our foods in the last and next millennium. *International Journal of Food Science and Technology* **35** ; 5-22.
- . Echávarri, J.F.; Negueruela, A.I.; Albaizar, T. (1993). Relaciones entre índices enológicos y parámetros colorimétricos CIE. (En vinos rosados de Navarra). *Vitivinicultura* **7-8** ; 52-55.
- . Echávarri, J.F.; Negueruela, A.I.; Albaizar, T. (1994). Aplicación del Análisis Discriminante a la diferenciación de vinos rosados de Navarra. (Según las zonas de producción y en función de variables colorimétricas). *Vitivinicultura* **3-4** ; 60-62.
- . Escribano-Bailón, T.; Alvarez-Garcia, M.; Rivas-Gonzalo, J.C.; Heredia, F.J.; Santos-Buelga, C. (2001). Color and stability of pigments derived from the acetaldehyde-mediated condensation between malvidin 3-o-glucosidase and (+)-catechin. *J. Agric. Food Chem.* **49** ; 1213-1217.
- . Escribano-Bailón, T.; Dangles, O.; Brouillard, R. (1996). Coupling reactions between flavylum ions and catechin. *Phytochemistry* **41**(6) ; 1583-1592.

- . Fairchild, M.D.; Reniff, L. (1991). Propagation of radom errors in spectrophotometric colorimetry. *Color Res. Appl.* **16** ; 360-367.
- . Felipe, A.; Artigas, J.M. (1986). Limitaciones, anomalías y particularidades del espacio uniforme de color CIELAB. *Óptica Pura y Aplicada* **19(3)** ; 173-178.
- . Figueredo, P.F.; Elhabiri, M.; Toki, K.; Saiti, N.; Dangles, O.; Brouillard, R. (1996). New aspects of anthocyanin complexation. Intramolecular copigmentation as a means for colour loss? *Phytochemistry* **41(1)** ; 301-308.
- . Fossen, T.; Andersen, O.M. (1998). Cyanidin 3-0 (6"-succinyl-B-glucopyranoside) and other anthocyanins from phragmites australis. *Phytochemistry* **49(4)** ; 1065-1068.
- . Fossen, T.; Andersen, O.M.; Ovstedal, D.O.; Pederson, A.T.; Raknes, A. (1996). Characteristic anthocyanin pattern from onions and other *Allium* spp. *J. Food Sci.* **61(4)** ; 703-706.
- . Fossen, T.; Cabritas, L.; Andersen, O.M. (1998). Colour and stability of pure anthocyanins influenced by pH including the alkaline region. *Food Chem.* **63(4)** ; 435-440.
- . Fossen, T.; Slimestad, R.; Andersen, O.M. (2001). Anthocyanins from Maize (*Zea mays*) and reed canarygrass (*Phalaris arundinacea*). *J. Agric. Food Chem.* **49** ; 2318-2321.
- . Francia-Aricha, E.M.; Guerra, M.T.; Rivas-Gonzalo, J.C.; Santos-Buelga, C. (1997). New anthocyanin pigments formed after condensation with flavanols. *J. Agric. Food Chem.* **45** ; 2262-2266.
- Francis, F.J. (1982). Analysis of anthocyanidins; en *Anthocyanins as food colors* (Markakis, P., ed.). Academic press, London, 182-205.
- . Francis, F.J. (1989). Food colorants: Anthocyanins. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **28** ; 273-314.
- . Francis, F.J. (1999). *Colorants, 1 ed.* Eagen Press, St Paul, MN.
- . Franco Aladrén, E.; Iñiguez, M. (1999). Estudio de la relación entre el color de la uva tinta y el color del vino. *Viticultura/Enología profesional* **63** ; 23-34.

- . Frankel, E.N. (1999). Natural phenolic antioxidants and their impact on health; en *Antioxidants food supplements in human health*, 1ª ed. (Packer, L.; Hiramatsu, M.; Yoshikawa, T., ed.). Academic Press, London, 385-392.
- . Fulcrand, H.; Benabdeljalil, C.; Rigaud, J.; Cheynier, V.; Moutounet, M. (1998). A new class of wine pigments generated by reaction between pyruvic acid and grape anthocyanins. *Phytochemistry* 7 vol 47 ; 1401-1407.
- . Fulcrand, H.; Cameira-dos Santos, P.-J.; Sarni-Manchado, P.; Cheynier, V.; Favre-Bonvin, J. (1996). Structure of new anthocyanin-derived wine pigments. *J. Chem. Soc. , Perkin Trans.* 1(7) ; 735-739.
- . Furtado, P.; Figueredo, P.; Chaves, H.; Pina, F. (1993). Photochemical and thermal degradation of anthocyanidins. *Journal Photochem. Photobiol. A. Chem* 75 ; 113-118.
- . Gao, L.; Mazza, G. (1994). Rapid method for complete chemical characterization of simple and acylated anthocyanins by high-performance liquid chromatography and capillary gas-liquid chromatography. *J. Agric. Food Chem.* 42 ; 118-125.
- . García-Beneytez, E.; Revilla, E.; Cabello, F.; Martín Ortega, G.; Ryan, J.-M. (2001). Value of high-performance liquid chromatographic analysis of anthocyanins in the differentiation of red grape cultivars and red wines made from them. *Journal of Chromatography A* 915 ; 53-60.
- García-Viguera, C.; Martí, N.; Bridle, P. (1999). Effect of ascorbic acid addition on the colour and anthocyanin content of pomegranate juice. *1st International Congress PFT*, Sevilla, 307-310.
- . Giusti, M.M.; Rodríguez-Saona, L.E.; Griffin, D.; Wrolstad, R.E. (1999). Electrospray and tandem mass spectroscopy as tools for anthocyanin characterization. *J. Agric. Food Chem.* 47 ; 4657-4664.
- . Glasser, L.G.; McKinney, A.H.; Reilly, C.D.; Schnelle, P.D. (1958). Cube-root color coordinate system. *J. Opt. Soc. Am.* 48(10) ; 736-740.
- . Glasser, L.G.; Troy, D.J. (1952). A new high sensitivity differential colorimeter. *J. Opt. Soc. Am.* 42 ; 652-.
- . Glories, Y. (1984). La couleur des vins rouges. 2ª Partie. Mesure, origine et interpretation. *Connaiss. Vigne Vin* 18(4) ; 253-271.

- . Gómez-Plaza, E.; Gil-Muñoz, R.; López-Roca, J.M.; Martínez, A. (2000). Color and Phenolic Compounds of a Young Red Wine. Influence of Wine-Making Techniques, Storage Temperature, and Length of Storage Time. *J. Agric. Food Chem.* **48** ; 736-741.
- . Gómez-Plaza, E.; Gil-Muñoz, R.; López-Roca, J.M.; Martínez-Cutillas, A.; Fernández-Fernández, J.I. (2001). Phenolic compounds and color stability of red wines: effect of skin maceration time. *Am. J. Enol. Vitic.* **52:3** ; 266-270.
- . Gonnet, J.-F. (1998). Colour effects of co-pigmentation of anthocyanins revisited-1. A colorimetric definition using the CIELAB scale. *Food Chem.* **63(3)** ; 409-415.
- . Gonnet, J.-F. (1999). Colour effects of co-pigmentation of anthocyanins revisited-2. A colorimetric look at the solutions of cyanin co-pigmented by rutin using the CIELAB scale. *Food Chem.* **66** ; 387-394.
- . Gonnet, J.-F. (2001). Colour effects of co-pigmentation of anthocyanin revisited-3. A further description using CIELAB differences and assessment of matched colours using the CMC model. *Food Chem.* **75** ; 473-485.
- . González-Cartagena, L.; Pérez-Zúñiga, F.; Bravo-Abad, F. (1990). Medida del color de bebidas fermentadas y derivados. Vinos, cervezas y brandis. *Alimentaria* **OCTUBRE** ; 59-67.
- . Goto, T.; Kondo, T. (1991). Structure and molecular stacking of anthocyanins flower colour variation. *Angew. Chem. Int. Ed* **30** ; 17-33.
- . Goto, T.; Tamura, M.; Kawai, T.; Hoshino, T.; Harada, N.; Kondo, T. (1986). Chemistry of metalloanthocyanins. *Annales of New York Academy of Sciences*, **471** ; 155-173.
- . Grassmann, H.G. (1853). Zur Theorie der Farbenmischung. *Poggendorff's. Ann. Phys.* **89** ; 69-84.
- . Griselbach, H. (1982). Biosynthesis of anthocyanins; en *Anthocyanins as food colors* (Markakis, P., ed.). Academic Press, London, 69-74.
- . Guerra-Sanchez Simon, M.T. (1997). *Estudio del ácido ascórbico en vinificación. Efecto sobre el color de los vinos tintos.*, Tesis doctoral. Facultad de Farmacia, Universidad de Salamanca., Salamanca.
- . Guild, J. (1931). The colorimetric properties of the spectrum. *Phil. Trans. Roy. Soc. A* **230** ; 149-187.

- . Harborne, J.B. (1958a). Spectral methods of characterizing anthocyanins. *J. Biochemistry* **70** ; 22-28.
- . Harborne, J.B. (1958b). The chromatographic identification of anthocyanin pigments. *Journal of Chromatography* **1** ; 473-488.
- . Harborne, J.B. (1967). *Comparative biochemistry of the flavonoids*. Academic Press, New York.
- . Hardy, A.C. (1936). *Handbook of Colorimetry*. The Technology Press, Cambridge, Massachusetts.
- . Havlikova, L.; Mikova, K. (1985). Heat stability of anthocyanins. *Z. Lebensm. Unters. Forsch* **181** ; 427-432.
- . Hayasaka, Y.; Asenstorfer, R.E. (2002). Screening for potential pigments derived from anthocyanins in red wine using nanoelectrospray tandem mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem.* **50** ; 756-761.
- . Hebrero, E.; García-Rodríguez, C.; Santos-Buelga, C.; Rivas-Gonzalo, J.C. (1989). Analysis of anthocyanins by high performance liquid chromatography-diode array spectroscopy in a hybrid grape variety (*Vitis vinifera* x *Vitis berlandieri* 41B). *Am. J. Enol. Vitic.* **40(4)** ; 283-291.
- . Heinonen, A.; Meyer, A.S.; Frankel, E.N. (1998). Antioxidant activity of berry phenols on human low density lipoprotein and liposome oxidation. *J. Agric. Food Chem.* **46** ; 4107-4112.
- . Hendry, G.A.F.; Houghton, J.D. (1992). *Natural Food Colorants*. Blackie Academic, London.
- . Heredia, F.J. (1991). *Estudio del color en vinos tintos españoles*, Tesis doctoral. Facultad de Farmacia, Universidad de Sevilla, Sevilla.
- . Heredia, F.J.; Cameán, A.M.; Guzmán, M. (1986). Utilidad de los parámetros cromáticos en la evaluación de la calidad de los vinos tintos. *Rev. Agroquim. Technol. Aliment.* **26(4)** ; 477-481.
- . Heredia, F.J.; Francia-Aricha, E.; Rivas-Gonzalo, J.C.; Vicario, I.M.; Santos-Buelga, C. (1998). Chromatic characterization of anthocyanins from red grapes-I. pH effect. *Food Chem.* **63(4)** ; 491-498.

- . Heredia, F.J.; Guzmán, M. (1988). Parámetros cromáticos de vinos de la Denominación de Origen "La Mancha" y relación con su composición y características. *Alimentaria* **196** ; **89-92**.
- . Heredia, F.J.; Guzmán, M. (1989). Reliability of the Spanish official methods for colour of red wines in comparison with the CIE 1931 (x,y) method. *AIC-COLOR 89, 6th Session of the Association Internationale de la Colour*, Buenos Aires, Argentina, 43-45.
- . Heredia, F.J.; Guzmán-Chozas, M. (1992). Proposal of a novel formula to calculate dominant wavelength for colour of red wines. *Food Chem.* **43** ; **125-128**.
- . Heredia-Mira, F.J.; Guzmán-Chozas, M. (1989). Proposición de una nueva fórmula para el cálculo de la longitud de onda dominante en vinos tintos. *I Congreso Nacional de Color*, Logroño, 48-50.
- . Hidalgo, L. (1993). *Tratado de viticultura* Madrid.
- . Hita, E.; Melgosa, M.; Romero, J.; Jiménez-del Barco, L. (1987). Estudio de la uniformidad de los sistemas de representación del color ATD y ATDN. *Óptica Pura y Aplicada* **20(1)** ; **39-47**.
- . Hita, E.; Romero, J.; Jiménez-del Barco, L.; Carrillo, A. (1985). Experimental study of color specification systems. *Óptica Pura y Aplicada* **18(2)** ; **123-133**.
- . Hita, E.; Jiménez-del Barco, L.; Romero, J.; Corrons, A. (1988). Análisis colorimétrico del observador patrón CIE. *Óptica Pura y Aplicada* **21(1)** ; **13-25**.
- . Holbach, B.; Marx, R.; Ackermann, M. (1997). Determination of anthocyanins in red wine by HPLC. *Lebensmittelchemie* **51** ; **78-80**.
- . Hong, V.; Wrolstad, R.E. (1990). Characterization of anthocyanin-containing colorants and fruit juices by HPLC/photodiode array detection. *J. Agric. Food Chem.* **38** ; **698-708**.
- . Hoshino, T. (1991). An approximate estimate of self-association constants and the self-stacking conformation of malvidin quinoid bases by <sup>1</sup>H-MNR. *Phytochemistry* **30** ; **2049-2055**.
- . Hoshino, T.; Matsumoto, U.; Goto, T. (1981). Self-association of some anthocyanins in neutral aqueous solution. *Phytochemistry* **20(8)** ; **1971-1976**.

- . Hrazdina, G.; Borzell, A.J.; Robinson, W.B. (1970). Studies on the stability of the anthocyanidin-3,5-diglucosides. *Am. J. Enol. Vitic.* **21(4)** ; 201-204.
- . Hrazdina, G.; Franzese, A.J. (1974). Oxidation products of acylated anthocyanins under acidic and neutral conditions. *Phytochemistry* **13** ; 231-234.
- . Huerta-Díaz-Regañón, M.D.; Salinas, M.R.; Masoud, T.; Alonso, G. (1998). Diferenciación geográfica de vinos tintos de la Denominación de Origen Madrid según parámetros colorimétricos. *Alimentaria Marzo* ; 69-72.
- . Hutchings, J.B. (1994). *Food colour and appearance*. Blackie Academic & Professional, Glasgow.
- . Iacobucci, G.A.; Sweeny, J.G. (1983). The chemistry of anthocyanidins, anthocyanidinas and related flavylum salts. *Tetrahedron* **39(19)** ; 3005-3038.
- . Jackman, R.L.; Smith, J.L. (1996). Anthocyanins and betalains; en *Natural food colorants, 2 ed.* (Hendry, G.A.F.; Houghton, J.D., ed.). 244-309.
- . Jackman, R.L.; Yada, R.Y.; Tung, M.A. (1987). A review: separation and chemical properties of anthocyanins used for their quality and quantitative analysis. *J. Food Biochem.* **29** ; 279-308.
- . Jacobs, M.B. (1938). *The chemical analysis of foods and food products*. D. Van Nostrand Company, Inc., New York.
- . Judd, D.B. (1935). A Maxwell Triangle Yielding Uniform Chromaticity Scales. *J. Opt. Soc. Am.* **25** ; 24-35.
- . Judd, D.B.; Wyszecki, G. (1975). *Color in business, science and industry, 3rd ed.* John Wiley & Sons, New York.
- . Kamei, H.; Kojima, T.; Hasegawa, M.; Koide, T.; Umeda, T.; Yukawa, T.; Terabe, K. (1995). Suppression of tumor cell growth by anthocyanins in vitro. *Cancer Invest.* **13** ; 590-594.
- . Kelly, K.L. (1943). Color Designations for Lights. *J. Opt. Soc. Am.* **33(11)** ; 627-632.
- . Kelly, K.L. (1943). Color Designations for Lights. *J. Opt. Soc. Am.* **33(11)** ; 627-632.
- . Kielhöfer, E. (1944). Color measurement in red wines. *Wein u. Rebe.* **26** ; 1-14.

- . King, G.A.; Swenny, J.C.; Radford, T.; Iacobucci, G.A. (1980). The ascorbic acid degradation of anthocyanidins. *Bull. Liaison Polyphenols* **9** ; **121-128**.
- . kraemer-Schafhalter, A.; Fuchs, H.; Pfannhauser, W. (1999). Solid-Phase Extraction (SPE) - a Comparison of 16 Materials for the Purification of Anthocyanins from *Aronia melonocarpa* var *Neto*. *J. Sci. Food Agric.* **78** ; **435-440**.
- . Kramer, A.; Twigg, B.A. (1959). Physical measurement of food quality.; en *Advances Food Res., vol. 9: Principles and instrumentation for the physical measurement of food quality with special reference to fruit and vegetable products*. (Chichester, C.O.; Mrak, E.M.; Stewart, G.F., ed.). Academic Press, New York, 158-175.
- . Lamikanra, O.A. (1989). Anthocyanins of *Vitis Rotundifolia* hybrid grapes. *Food Chem.* **33** ; **225-237**.
- . Lapidot, T.; Harel, S.; Akiri, B.; Granit, R.; Kanner, J. (1999). ph-Dependent forms of red wine anthocyanins as antioxidants. *J. Agric. Food Chem.* **47** ; **67-70**.
- Lea, A.G. (1988). HPLC of natural pigments in foodstuffs; (Anon.)academic press, 277-299.
- . Lee, H.S.; Hong, V. (1992). Review: Chromatographic analysis of anthocyanins. *Journal of Chromatography* **624** ; **221-234**.
- . Lees, R. (1982). *Análisis de los alimentos, 2 ed.* Acribia, Zaragoza.
- . Liao, H.; Cai, Y.; Haslam, E. (1992). Polyphenol interactions. Anthocyanins: co-pigmentation and colour changes in red wines. *J. Sci. Food Agric.* **59** ; **299-305**.
- . Little, A.C. (1976). Physical measurements as predictors of visual appearance. *Food Technol.* **30(10)** ; **74-82**.
- . Llaguno, C. (1982). Estabilización de vinos; en *Enología temas actuales* (Asociación Nacional de Químicos de España., ed.). Madrid.
- . Lomas, A.M.; Negueruela, A.I.; Echávarri, J.F. (1994). Determination of the color of Rioja red wine by trans-reflectance| Determinación del color del vino tinto de Rioja por trans-reflectancia. *Óptica Pura y Aplicada* **27** ; **70-77**.

- . Lozano, R.D. (1977). Evaluation of different color-difference formulae by means of an experiment on color scaling. Preliminary report. *Color Res. Appl.* **2(1)** ; **13-18**.
- . Lozano, R.D. (1978). *El color y su medición*. Ed. América Lee, Buenos Aires.
- . Lozano, R.D. (1979). Diferencias de color. *Investigación y Ciencia Diciembre* ; **8-14**.
- . Macadam, D.L. (1937). Projective transformations of ICI color specification. *J. Opt. Soc. Am.* **27(8)** ; **294-299**.
- . Macadam, D.L. (1944). On the geometry of color space. *J. Franklin Inst.* **238** ; **195-210**.
- . Macadam, D.L. (1978). Colorimetric data for samples of OSA uniform color scales. *J. Opt. Soc. Am.* **68(1)** ; **121-130**.
- . Macadam, D.L. (1942). Projective Transformations of Color-Mixture Diagrams. *J. Opt. Soc. Am.* **32(1)** ; **2-6**.
- . Macadam, D.L. (1974). Uniform color scales. *J. Opt. Soc. Am.* **64(12)** ; **1691-1702**.
- . Maccarone, E.; Maccarone, A.; Rapisarda, P. (1985). Stabilization of anthocyanins of blood orange fruit juice. *J. Food Sci.* **50** ; **901-904**.
- . McLaren, K. (1970). *The precision of textile colour matchers in relation to colour difference measurements*. Proc. AIC-Color 69, Estocolmo.
- . Maga, J.A. (1974). Influence of color on taste thresholds. *Chem. Senses* **1** ; **115-119**.
- . Manly, B.F. (1986). *Multivariate Statistical Methods. A Primer*. Chapman and Hall, New York.
- . Markakis, P. (1982). *Anthocyanins in fruits, vegetables and grains*. Academic Press, London.
- . Marković, J.M.; Petranović, N.A.; Baranac, J. (2000). A Spectrophotometric Study of the Copigmentation of Malvin with Caffeic and Ferulic Acids. *J. Agric. Food Chem.* **48** ; **5530-5536**.
- . Mateus, N.; Silva, A.M.S.; Santos-Buelga, C.; Rivas-Gonzalo, J.C.; De Freitas, V. (2002). Identification of anthocyanin-flavanol pigments in red wines by NMR and mass spectroscopy. *J. Agric. Food Chem.* **50** ; **2110-2116**.

- . Mazza, G.; Brouillard, R. (1990). The mechanism of co-pigmentation of anthocyanins in aqueous solutions. *Phytochemistry* **29(4)** ; **1097-1102**.
- . Mazza, G.; Miniati, E. (1993). *Anthocyanins in fruits, vegetables, and grains*. CRC Press, Boca Raton, Florida.
- . McLaren, K. (1970). *The precision of textile colour matchers in relation to colour difference measurements*. Proc. AIC-Color 69, Estocolmo.
- . Melgosa, M.; Pérez, M.M.; Yebra, A.; Huertas, R.; Hita, E. (2001). Algunas reflexiones y recientes recomendaciones internacionales sobre evaluación de diferencias de color. *Óptica Pura y Aplicada* **34** ; **1-10**.
- . Menchen-Benítez, L. (1985). Color y colorantes de los vinos tintos (Vino tinto, luz, color, malvina y malvidol). *Sem. Vitivinic.* **2032-33** ; **2627-2629**.
- . Merken, H.M.; Merken, C.D.; Beecher, G.R. (2001). Kinetics method for the quantitation of anthocyanidins, flavonols, and flavones in foods. *J. Agric. Food Chem.* **49 (6)** ; **2727-2732**.
- . Meyer, L.H. (1982). *Food Chemistry, 4 ed.* The Avi Publishing Company Inc, Michigan.
- . Morazzoni, P.; Magistretti, M.J. (1986). Effect of vaccinium myrtilus anthocyanosides on prostacyclin-like activity in rat arterial tissue. *Fitoterapia* **LVII** ; **11-14**.
- . Negueruela, A.I. (2003). Influencia del espesor de líquido en el color percibido de vinos tintos. *Gienol 2003*, Logroño, 175-176.
- . Negueruela, A.I.; Echávarri, J.F. (1983). Colorimetría en vinos de Rioja. *Óptica Pura y Aplicada* **16(2)** ; **97-106**.
- . Negueruela, A.I.; Echávarri, J.F. (1989). Nuevo método de determinación del color de vinos tintos de Rioja: una propuesta de mejora del método oficial. *Óptica Pura y Aplicada* **22(2)** ; **95-101**.
- . Negueruela, A.I.; Echávarri, J.F.; Ayala, F. (1994). Influencia del espesor de la cubeta de medida en el color del vino tinto. *Óptica Pura y Aplicada* **27** ; **133-140**.
- . Newton, I. (1672). A new theory about light and colours. *Phil. Trans. Roy. Soc.* **1672** ; **3075-3087**.

- . Nickerson, D. (1975). Uniform color scales: Munsell conversion of OSA Committee selection. *J. Opt. Soc. Am.* **65(2)** ; 205-207.
- . Nollet, L. (2000). Food Analysis by HPLC - Pigments; en *Food Analysis by HPLC* (Anon.) 845-880.
- . Nyman, N.A.; Kumpulainen, J.T. (2001). Determination of anthocyanidins in berries and red wine by HPLC. *J. Agric. Food Chem.* **49** ; 4183-4187.
- . O.I.V. (1969). *Recueil des methodes internationales d'analyse des vins*. Office International de la Vigne et du Vin, Paris.
- . Ortega-Meder, M.D. (1991). *Estudio de la estabilidad del 3-monoglucósido de malvidina*, Memoria experimental de Licenciatura. Facultad de Farmacia, Universidad de Salamanca., Salamanca.
- . Ortega-Meder, M.D. (1995). *Efectos del ácido ascórbico sobre la estabilidad del 3-monoglucósido de malvidina en disoluciones modelo.*, Tesis doctoral. Facultad de Farmacia. Universidad de Salamanca., Salamanca.
- . Ortega-Meder, M.D.; Rivas-Gonzalo, J.C.; Vicente, J.L.; Santos-Buelga, C. (1994). Diferenciación de variedades de uvas tintas por su composición antocianica. *Rev. Esp. Cienc. Tecnol. Aliment.* **34(4)** ; 409-426.
- . Ott, D.B. (1992). *Manual de laboratorio de Ciencia de los Alimentos*. Acribia, Zaragoza.
- . Pauli, H. (1976). Proposed extension of the CIE recommendation on uniform color spaces, color difference equations, and metric color terms. *J. Opt. Soc. Am.* **66** ; 866-867.
- . Pérez-Magariño, S.; González-Sanjosé, M.L. (1999). Colorimetry study of rose and red Spanish wines: correlation between enological color and cie-lab parameters. *1st International Congress PFT*, Sevilla, 423-427.
- . Peynaud, E. (1987). *El gusto del vino*, 1 ed. Mundi-Prensa.
- . Peynaud, E. (1989). *Enología Práctica. Conocimiento y elaboración del vino.*, 3 ed Madrid.
- . Pietta, P.; Simonetti, P. (1999). Dietary flavonoids and interaction with phisilogic antioxidants; en *Antioxidants food supplements in human health*, 1ª ed. (Packer, L.; Hiramatsu, M.; Yoshikawa, T., ed.). Academic Press, London, 283-308.

- . Piffaut, B.; Kader, F.; Girardin, M.; Metche, M. (1994). Comparative degradation pathways of malvidin 3,5-diglucoside after enzymatic and thermal treatments. *Food Chem.* **50** ; 115-120.
- . Poci-Langston, M.S.; Wrosted, R.E. (1981). Color degradation in an ascorbic acid-anthocyanin-flavonol model system. *J. Food Sci.* **46** ; 1218-1222.
- . Presidencia del Gobierno (1977). Métodos de análisis de productos derivados de la uva. *BOE Orden de 31 de Enero (174-178)* ; -.
- . Presidencia del Gobierno (1981). Métodos de análisis de productos derivados de la uva. *BOE Orden de 17 de Septiembre (246)* ; -.
- . Prior, R.L.; Lazarus, S.A.; Cao, G.; Muccitelli, H.; Hammerstone, J.F. (2001). Identification of procyanidins and anthocyanins in blueberries and cranberries (*Vaccinium* Spp.) using HPLC/MS. *J. Agric. Food Chem.* **49** ; 1270-1276.
- . Revilla, I.; Pérez-Magariño, S.; González-San José, M.L.; Beltrán, S. (1999). Identification of anthocyanin derivatives in grape skin extracts and red wines by liquid chromatography with diode array and mass spectrometric detection. *Journal of Chromatography A* **847** ; 83-90.
- . Ribéreau-Gayon, P. (1973). Interpretation chimique de la couleur des vins rouges. *Vitis* **12** ; 119-142.
- . Ribéreau-Gayon, P. (1982). Anthocyanins of grapes and wines; en *Anthocyanins Food Colors* (Markakis, P., ed.). Academic: New York, N.Y., 209-244.
- . Ribéreau-Gayon, P.; Pontallier, P.; Glories, Y. (1983). Some interpretations of colour changes in young red wines during their conservation. *J. Sci. Food Agric.* **34(5)** ; 505-516.
- . Ricardo-da-Silva, J. (1997). Anthocyanins and proanthocyanidins in grapes and wines. Their primordial role in enology.
- . Richter, K. (1980). Cube-Root Color Spaces and Chromatic Adaptation. *Color Res. Appl.* **5(1)** ; 25-43.
- . Rivas-Gonzalo, J.C.; Bravo-Haro, S.; Santos-Buelga, C. (1995). Detection of compounds formed through the reaction of malvidin 3-monoglucoside and catechin in the presence of acetaldehyde. *J. Agric. Food Chem.* **43** ; 1444-1449.

- . Romero, C.; Bakker, J. (1999). Interactions between grape anthocyanins and pyruvic acid, with effect of pH and acid concentration on anthocyanin composition and color in model solutions. *J. Agric. Food Chem.* **47** ; 3130-3139.
- . Romero, C.; Bakker, J. (2000). Effect of storage temperature and pyruvate on kinetics of anthocyanin degradation, vitisin A derivate formation, and color characteristics of model solutions. *J. Agric. Food Chem.* **48** ; 2135-2141.
- . Roos, L. (1930). Mesure de la couleur des vins rouges. *Ann. Fals.* **23** ; 207-211.
- . Ruf, W. (1952). Paper chromatograph for detection of coloring materials in wine. *Z. Lebensm. Unters. -Forsch.* **94** ; 190-194.
- . Ruiz-Hernández, M. (1983). Evaluación cromática de uvas de Rioja. *Sem. Vitivinic.* **1904** ; 404-407.
- . Santa-María, G.; Garrido, J.L.; Díez, C. (1986). The use of phenol compounds as parameters for distinguished red and rosewines in multivariate analysis. *Z. Lebensm. Unters. -Forsch.* **182(2)** ; 112-114.
- . Santa-María, M.T.; Gómez-Cordovés, C.; Díez, C. (1987). Compuestos fenólicos de pequeño peso molecular como parámetros de distinción de vinos por su zona de producción. Aplicación de equis cuadrado de Pearson. *Anal. Bromatol.* **39(1)** ; 95-102.
- . Santos-Buelga, C. (1997). Compuestos fénolicos en el vino.
- . Santos-Buelga, C.; Bravo-Haro, S.; Rivas-Gonzalo, J.C. (1995). Interactions between catechin and malvidín-3-monoglucoside in model solutions. *Z. Lebensm. Unters. -Forsch.* **201** ; 269-274.
- . Sarni-Manchado, P.; Fulcrand, H.; Souquet, J.M.; Cheynier, V.; Moutounet, M. (1996). Stability and color of unreported wine anthocyanin-derived pigments. *J. Food Sci.* **61(5)** ; 938-941.
- . Saunderson, J.L.; Milner, B.I. (1946). Modified Chromatic Value Color Space. *J. Opt. Soc. Am.* **36(1)** ; 36-42.
- . Schopfer, J.F. (1985). The role of SO<sub>2</sub> in wine making. *Bull. O I V* **58** ; 515-579.

- 
- . Shoji, T.; Yanagida, A.; Kanda, T. (1999). Gel permeation chromatography of anthocyanin pigments from rosé cider and red wine. *J. Agric. Food Chem.* **47** ; 2885-2890.
  
  - . Singleton, V.L. (1987). Oxygen with phenols and related reactions in musts, wines, and model systems: Observations and Practical implications. *Am. J. Enol. Vitic.* **38(1)** ; 69-77.
  
  - . Singleton, V.L.; Trousdale, E.K. (1992). Anthocyanin-tannin interactions explaining differences in polymeric phenols between white and red wines. *Am. J. Enol. Vitic.* **43(1)** ; 63-70.
  
  - . Somers, T.C. (1968). Pigments profiles of grapes and wine. *Vitis* **7** ; 303-318.
  
  - . Somers, T.C. (1971). The polymeric nature of wine pigments. *Phytochemistry* **10** ; 2175-2185.
  
  - . Somers, T.C.; Evans, M.E. (1977). Spectral evaluation of young red wines: anthocyanin equilibria, total phenolics, free and molecular SO<sub>2</sub>, "chemical age". *J. Sci. Food Agric.* **28(3)** ; 279-287.
  
  - . Somers, T.C.; Evans, M.E. (1979). Grape pigment phenomena: interpretation of major color losses during vinification. *J. Sci. Food Agric.* **30(6)** ; 623-633.
  
  - . Somers, T.C.; Ziemelis, G. (1985). Spectral evaluation of total phenolic components in *Vitis vinifera*: Grapes and Wines. *J. Sci. Food Agric.* **36** ; 1275-1284.
  
  - . Somers, T.C.; Evans, M.E. (1974). Wine quality: correlations with colour density and anthocyanin equilibria in a group of young red wines. *J. Sci. Food Agric.* **25** ; 1369-1379.
  
  - . Stearns, E.I. (1981a). Influence of spectrophotometer slit on tristimulus calculations. *Color Res. Appl.* **6(2)** ; 78-84.
  
  - . Stearns, E.I. (1981b). The determination of weights for use in calculating tristimulus values. *Color Res. Appl.* **6(4)** ; 210-212.
  
  - . Stearns, E.I.; Stearns, R.E. (1988). An example of a method for correcting radiance data for bandpass error. *Color Res. Appl.* **4(13)** ; 257-259.
  
  - . Sudraud, P. (1958). Interpretation des courbes d'absorption des vins rouges. *Ann. Technol. Agr.* **7** ; 203-208.

- . Sun, B.S.; Spranger, I.; Roque-do-Vale, F.; Leandro, C.; Belchior, P. (2001). Effect of different winemaking technologies on phenolic composition in tinta miúda red wines. *J. Agric. Food Chem.* **49** ; **5809-5816**.
- . Swank, H.W.; Mellon, M.G. (1937). A Calculator for Obtaining Tristimulus Values from Spectrophotometric Data. *J. Opt. Soc. Am.* **27** ; **414-415**.
- . Terahara, N.; Yamaguchi, M.A. (1986). NMR spectral analysis of the methylated anthocyanins from *Dianthus*. *Phytochemistry* **25(12)** ; **2906-2907**.
- . Tewari, S.N.; Sharma, S.C.; Sharma, V.K. (1974). Paper chromatographic technique for the detection of coloring matter in liquors and wines. *Fresenius Z. Anal. Chem.* **269(2)** ; **128-cualitativo**.
- . Timberlake, C.F.; Bakker, J.; Bridle, P.; Self, R.; Loeffler, R.T.S. (2000) Fast atom bombardment mass spectrometry (FABMS) and nuclear magnetic resonance (NMR) of anthocyanins.
- . Usseglio-Tomasset, L. (1989). A source of differences in wines: conditions of finishing. *Vini Ital.* **31(6)** ; **23-30**.
- . Valdehita-de Vicente, M<sup>a</sup>.T.; Matallana-González, M.C. (1983). La malvidina en los vinos tintos españoles en relación con la procedencia de híbridos. *Anal. Bromatol.* **35(2)** ; **195-208**.
- . Valls, J.; Lampreave, M.; Nadal, M.; Arola, L. (2000). Importancia de los compuestos fenólicos en la calidad de los vinos tintos de crianza. *Alimentación, Equipos y Tecnología* **2** ; **119-124**.
- . Venable, W.H. (1989). Accurate tristimulus values from spectral data. *Color Res. Appl.* **14(5)** ; **260-267**.
- . Versari, A.; Barbanti, D.; Biesenbruch, S.; Farnell, P.J. (1997). Analysis of anthocyanins in red fruits by use of HPLC/Spectral array detection. *Ital. J. Food Sci.* **9(2)** ; **141-148**.
- . Villforth, F. (1958). Color value and color analysis of red wines. *Wein. Wiss. Beih. Fachz. deut. Weinbau* **1-8** ; **11-14**.
- . Vivar-Quintana, A.M.; Santos-Buelga, C.; Francia-Aricha, E.; Rivas-Gonzalo, J.C. (1999). Formation of anthocyanin-derived pigments in experimental red wines. *Food Sci. Technol. Int.* **5 (4)** ; **347-352**.
- . Vogt, E. (1935). Untersuchungen über der Rotweine. *Wein u. Rebe* **17** ; **93-101**.

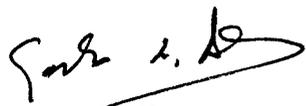
- 
- . Wang, J.; Sporns, P. (1999). Analysis of anthocyanins in red wines and fruit juice using MALDI-MS. *J. Agric. Food Chem.* **47** ; 2009-2015.
- . Winkler, A.J.; Amerine, M.A. (1938). Color in California wines. I. Methods for measurement of color. *Food Research* **3** ; 429-438.
- . Wobish, F.; Schneyder, J. (1955). Determination of the color of red wine. *Mitt. Rebe u. Wein (Klosterneuburg)* **5** ; 49-52.
- . Wong, D. (1995). *Química de los alimentos: Mecanismos e teoría*. Acribia, Zaragoza. . Wright, W.D. (1928). A re-determination of the trichromatic coefficients of the spectral colours. *Trans. Opt. Soc.* **30** ; 141-.
- . Wyszecki, G. (1975). Uniform color scales: CIE 1964 U\*V\*W\* conversion of OSA Committee selection. *J. Opt. Soc. Am.* **65(4)** ; 456-460.
- . Wyszecki, G.; Stiles, W.S. (1982). *Color Science. Concepts and Methods. Quantitative Data and Formulae, 2 ed.* John Wiley & Sons, Inc, New York.
- . Young, T. (1802a). An account of some cases of the production of colours, not hitherto described. *Phil. Trans. Roy. Soc.* **1802** ; 734-740.
- . Young, T. (1802b). On the theory of light and colours. *Phil. Trans. Roy. Soc.* **1802** ; 12-48.
- . Zadok, D.; Levy, Y.; Glovinsky, Y. (1999). The effect of anthocyanosides in a multiple oral dose on night vision. *Eye* **13** ; 734-736.
- . Zamora-Marín, F. (1999). Los compuestos fenólicos del vino tinto y su capacidad para la crianza. *Ibérica* **415** ; 2-8.

D. CRISTINA MONTES BERRIATUA.  
ESTUDIO DEL COLOR Y LA RELACIÓN CON LA  
COMPOSICIÓN ANTOCIÁNICA EN VINOS TINTOS ESPAÑOLES  
DE VARIEDAD TEMPRANILLO.

calificación de Sobresaliente Cum laude

30 Junio

2004.



El Presidente,

