

ISSN electrónico: 2445-1355

DOI: <https://doi.org/10.14201/fj202161716>

## ESTUDIO DE MARCADORES FENÓLICOS PARA LA DIFERENCIACIÓN DE VINOS ELABORADOS CON UVAS *VITIS VINIFERA* L. CV RUFETE

### *Study of Phenolic Markers for the Differentiation of Wines Made with Vitis vinifera L. cv Rufete Grapes*

Aida BONILLA-UTRILLA; Ignacio GARCÍA-ESTÉVEZ; Cristina ALCALDE-EON

Departamento de Nutrición y Bromatología. Grupo de Investigación en Polifenoles. Facultad de Farmacia. Campus Miguel de Unamuno. C/ Licenciado Méndez Nieto, s/n. 37007 Salamanca

Correo-e: [bonillautrilla@gmail.com](mailto:bonillautrilla@gmail.com)

**RESUMEN:** La Denominación de Origen Protegida (DOP) Sierra de Salamanca siempre ha estado vinculada desde su fundación a la elaboración de vinos con uvas *Vitis vinifera* L. variedad Rufete, una uva autóctona de la Sierra de Francia. Su producción en los últimos años se ha visto relanzada debido a la demanda por parte de los consumidores de nuevos vinos, diferentes a los estándares mundiales, y por su potencial de adaptación a un escenario de cambio climático. Con este estudio se pretende establecer la composición fenólica de vinos elaborados con uvas 100 % Rufete de la DOP Sierra de Salamanca, así como establecer una comparación de dicha composición fenólica y de las características cromáticas de los mismos con las de vinos comerciales elaborados con mezclas de uva variedad Rufete y variedad Tempranillo, en distintas proporciones. El análisis mediante HPLC-DAD-MS<sup>n</sup> de muestras de vinos procedentes de tres bodegas distintas de la DOP permitió identificar 35 pigmentos de naturaleza antocianica, 63 flavanoles y 11 flavonoles diferentes. A partir de la composición determinada y mediante análisis de componentes principales (PCA) se han podido establecer diferencias entre las distintas muestras en función del año de producción, la bodega y la variedad de uva empleada.

*Palabras clave:* Rufete; uvas; vinos; compuestos fenólicos; antocianos; flavanoles; flavonoles; HPLC-DAD-MS<sup>n</sup>.

**ABSTRACT:** The «DOP Sierra de Salamanca» has been related, since its establishment, to the production of wines made with *Vitis vinifera* L. cv Rufete grapes, an autochthonous grape from la Sierra de Francia. The production of this type of wine has been recently relaunched due to consumers' demand for new wines different from world standards and due to its potentially greater adaptation to an scenario of climate change. This study aims at establishing the phenolic composition of wines made with 100 % Rufete grapes from the DOP Sierra de Salamanca, as well as establishing a comparison between the phenolic composition and the chromatic characteristics of these wines with commercial wines made with mixtures of Rufete and Tempranillo grapes in different proportions. The HPLC-DAD-MS<sup>n</sup> analysis of wine samples from three different wineries from the DOP allowed the identification of 35 different anthocyanin-derived pigments, 63 flavanols and 11 flavonols. From the phenolic composition and by means of principal component analysis (PCA), it has been possible to establish differences between the different wines depending on the vintage, the winery and the variety of grape.

*Keywords:* Rufete; grapes; wines; phenolic compounds; anthocyanins; flavanols; flavanols; HPLC-DAD-MS<sup>n</sup>.

## 1. INTRODUCCIÓN

La Sierra de Francia, localizada en Salamanca, tuvo como principal motor económico la elaboración de vino hasta que a finales del siglo XX, debido a la despoblación del medio rural, se produjo un declive en la producción del mismo. Para reactivarla, las bodegas que quedaron en activo se juntaron en 2007 creando la Asociación de Viticultores y Elaboradores de Vino de Calidad de la Sierra de Salamanca, logrando en 2010 el reconocimiento como «Denominación de Origen Protegida Sierra de Salamanca» (Orden AYG/806/2010 del *Boletín Oficial de Castilla y León*) (DOP Sierra de Salamanca, 2018). La DOP Sierra de Salamanca se caracteriza por la elaboración de vino con uvas *Vitis vinifera* L. de la variedad Rufete, una variedad autóctona perfectamente adaptada al clima mediterráneo húmedo y a los suelos ácidos de la zona (García Muñoz, 2015). En los últimos años su producción se ha relanzado debido a la demanda por los consumidores de vinos diferentes a los estándares mundiales, que reflejen la tipicidad de la zona. Por

otro lado, las variedades autóctonas se están revalorizando puesto que muestran una mayor capacidad de adaptación en un escenario de cambio climático.

El aumento de las temperaturas asociadas al cambio climático puede aumentar el desfase entre el momento de madurez tecnológica (relacionada con el contenido en azúcares y acidez) y el de madurez fenólica de la uva, afectando directamente a las propiedades organolépticas del vino. Si se adelanta la vendimia para adecuarse a la madurez tecnológica, las uvas tendrán una composición fenólica desequilibrada, mientras que vendimias tardías originarán vinos con grado alcohólico elevado debido al incremento de los azúcares (Mira de Orduña, 2010). En la uva encontramos diversos compuestos fenólicos que serán posteriormente los responsables del color y la astringencia de los vinos. Los *antocianos*, localizados en los hollejos, son los responsables del color de los vinos tintos; están formados por una antocianidina (delfinidina, cianidina, petunidina, peonidina o malvidina) unida a un azúcar, glucosa generalmente, que puede estar, a su vez, esterificada con distintos tipos de ácidos (ácidos acético, *p*-cumárico o cafeico). Durante el envejecimiento del vino el contenido de antocianos nativos de uvas disminuye y aumenta el contenido de derivados de antocianos, modificando el color. Dentro de estos derivados destacan los piroantocianos (originados por la cicloadición de diversos compuestos a la estructura del antociano) y los productos de condensación entre antocianos y flavanoles tanto directa como mediada por acetaldehído, los cuales presentan diferencias cromáticas con respecto a los antocianos de los que derivan (Alcalde-Eon, 2008). Los *flavanoles* son monómeros, oligómeros y polímeros de (epi)catequina y (epi)galocatequina. Pueden clasificarse en función de la naturaleza de los monómeros en *prodelfinidinas*, localizadas en el hollejo y formadas por unidades de (epi)galocatequina, y *procianidinas*, presentes en el hollejo y las semillas y formadas por unidades de (epi)catequina. Estos compuestos están relacionados con la astringencia de los vinos, pudiendo influir en el color al reaccionar con los antocianos para formar pigmentos derivados o a través de las reacciones de copigmentación (Alcalde-Eon, 2008). Por su parte, los *flavonoles*, presentes en forma de glicósidos en los hollejos, pueden sufrir reacciones de hidrólisis en la vinificación y envejecimiento y aparecer también en forma de aglucón. En el vino, los flavonoles participan en las reacciones de copigmentación con antocianos y se relacionan con la astringencia y el amargor (Alcalde-Eon, 2008).

Existen trabajos previos (Alcalde-Eon *et al.*, 2014; García-Estévez *et al.*, 2017) en los que se ha estudiado la composición fenólica de la uva Rufete, demostrándose así su potencial para elaborar vinos de calidad. Sin embargo, aún no existen trabajos donde se haya estudiado la composición fenólica y cromática de vinos elaborados con uvas 100 % Rufete de la DOP Sierra de Salamanca y, por ello, este es el principal objetivo del trabajo. A continuación se establecerá una comparación con vinos comerciales de la DOP elaborados con mezclas de uvas

Rufete y Tempranillo tratando de determinar los marcadores fenólicos propios de vinos Rufete monovarietales.

## 2. MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1. Muestras

Se han analizado 15 vinos comerciales provenientes de tres bodegas de la DOP Sierra de Salamanca, incluyendo vinos elaborados exclusivamente con uvas Rufete y vinos elaborados con mezclas de uvas Rufete y Tempranillo (Tabla 1). Estos vinos proceden de diferentes cosechas y presentan diferentes procesos de envejecimiento para tratar de obtener resultados más representativos de los vinos actualmente presentes en el mercado.

### 2.2. Preparación y análisis de las muestras

El análisis de antocianos y flavonoles de cada vino se realizó por triplicado mediante HPLC-DAD-MSn tras diluir las muestras 1/2 con agua ácida (HCl, pH 1,4), utilizando las condiciones previamente optimizadas en el laboratorio (Alcalde-Eon *et al.*, 2019), registrando el cromatograma a 520 nm para la determinación de antocianos y a 360 nm para los flavonoles. La identificación de los distintos compuestos se realizó comparando el tiempo de retención, espectro UV-visible, relación *m/z* del ion molecular y patrones de fragmentación con los de compuestos previamente determinados en otras muestras de vino analizadas en las mismas condiciones y con los de patrones disponibles. La cuantificación de los antocianos y flavonoles se llevó a cabo a partir de los valores del área cromatográfica, utilizándose una recta de calibrado externa de malvidina 3-O-glucósido (antocianos) y de quercetina 3-O-glucósido (flavonoles).

Para el análisis de flavonoles, la preparación de la muestra incluyó una separación mediante un cartucho Oasis MCX (intercambio catiónico) para eliminar los antocianos y otros posibles interferentes de las muestras; usando ácido clorogénico como patrón interno (García-Estévez *et al.*, 2017) y mediante HPLC-DAD-MS-MRM, se monitorizaron 11 transiciones, correspondientes a distintos grupos de flavonoles (Tabla 2). Para cada transición, las identidades de los compuestos fueron asignadas a partir del tiempo de retención. La cuantificación se realizó usando la recta de calibrado del compuesto más semejante de cada grupo de compuestos (García-Estévez *et al.*, 2017).

Para el análisis del color (Alcalde-Eon *et al.*, 2019) se ajustaron las muestras a pH 3,6 (con disoluciones concentradas de HCl o NaOH), se midieron los espectros UV-visible en el espectrofotómetro (cubeta de 2 mm de paso óptico) y

se calcularon los parámetros CIELAB mediante el software ChromaLab. Para el estudio de la resistencia de los vinos a la decoloración por SO<sub>2</sub>, las muestras se diluyeron inicialmente con agua ácida (dilución 1/2), midiéndose el espectro UV-visible antes y después de la adición de un exceso de bisulfito sódico (200 mg de NaHSO<sub>3</sub> en 500 mL), calculándose posteriormente las modificaciones ( $\Delta$ ) de los parámetros CIELAB.

El análisis estadístico de los datos se realizó mediante un análisis de componentes principales (PCA) utilizando el programa IBM SPSS Statistics 23.

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis de las muestras mediante HPLC-DAD-MS permitió identificar 35 antocianos, 63 flavanoles y 11 flavonoles (Tabla 2). Para cada tipo de flavonoide, se cuantificaron individualmente los distintos compuestos, calculándose a partir de esos valores la concentración total y las concentraciones y porcentajes de cada familia de compuesto (Tabla 1). En el grupo de los antocianos se consideró también la contribución de los pigmentos de difícil resolución (PDR), visibles en el cromatograma como una elevación de la línea base en la parte final del mismo.

La concentración total de antocianos y pigmentos derivados se sitúa entre 84 y 200 mg/L (Tabla 1), siendo en general más alta para los vinos elaborados con mezclas de uvas Rufete y Tempranillo que para los monovariales de Rufete. Los vinos de las añadas 2016 y 2017 muestran los porcentajes de monoglucósidos mayores, lo cual puede deberse a que, al ser vinos más jóvenes, su composición es más similar a la de la uva. En cambio, los vinos más viejos (añada 2014) presentan los porcentajes más bajos de monoglucósidos. Con los PDR ocurre justamente lo contrario, puesto que su porcentaje aumenta a medida que el vino envejece, como consecuencia de la transformación de los pigmentos nativos de la uva en pigmentos de estructura más compleja. Para vinos de una misma añada y bodega, los vinos elaborados con mezclas de uvas Rufete y Tempranillo próximas al 50 % mostraron porcentajes mayores de monoglucósidos y menores de PDR que los elaborados exclusivamente con uvas Rufete (Tabla 1).

TABLA 1. Principales datos cuantitativos de antocianos, flavanoles y flavonoles de las muestras analizadas en el presente estudio

| Vino    |                | Antocianos                 |             |       | Flavanoles                 |       |       | Flavonoles                 |                |             |
|---------|----------------|----------------------------|-------------|-------|----------------------------|-------|-------|----------------------------|----------------|-------------|
|         |                | Concentración Total (mg/L) | % Monogluc* | %PDR* | Concentración Total (mg/L) | % PD* | % PC* | Concentración Total (mg/L) | % glicosilados | % aglicones |
| Código  | Envej* (meses) |                            |             |       |                            |       |       |                            |                |             |
| A14R100 | 8              | 76,91                      | 2,27        | 90,25 | 123,27                     | 2,76  | 97,23 | 19,77                      | 21,31          | 78,69       |
| A14R54  | 6              | 110,36                     | 10,54       | 81,80 | 68,88                      | 6,48  | 93,51 | 31,72                      | 24,91          | 75,09       |
| A15R100 | 9              | 95,00                      | 5,67        | 87,09 | 77,06                      | 4,08  | 95,91 | 15,27                      | 42,13          | 57,87       |
| A15R94  | 6              | 113,57                     | 11,17       | 79,10 | 156,84                     | 2,95  | 97,04 | 29,42                      | 22,72          | 77,28       |
| A16R95  | 0              | 84,61                      | 25,23       | 63,48 | 295,91                     | 1,54  | 98,45 | 14,07                      | 22,53          | 77,47       |
| B14R95  | 0              | 107,95                     | 4,52        | 88,17 | 39,75                      | 5,58  | 94,41 | 19,60                      | 62,79          | 37,21       |
| B14R95B | 0              | 104,69                     | 6,14        | 86,51 | 215,63                     | 3,09  | 96,90 | 22,60                      | 66,66          | 33,34       |
| B14R50  | 0              | 110,02                     | 6,56        | 85,94 | 80,66                      | 3,43  | 96,56 | 14,43                      | 52,61          | 47,39       |
| B16R97  | 0              | 202,35                     | 26,24       | 64,65 | 261,79                     | 2,19  | 97,80 | 57,63                      | 7,36           | 92,64       |
| C14R54  | 9              | 119,97                     | 1,48        | 92,07 | 81,64                      | 11,58 | 88,41 | 12,99                      | 56,58          | 43,42       |
| C15R94  | 0              | 97,17                      | 8,99        | 82,17 | 171,00                     | 2,08  | 97,91 | 26,29                      | 48,58          | 51,42       |
| C16R96  | 0              | 100,29                     | 26,56       | 60,32 | 174,89                     | 1,49  | 98,50 | 26,58                      | 17,85          | 82,15       |
| C15R57  | 12             | 148,59                     | 10,49       | 80,95 | 81,40                      | 3,42  | 96,57 | 47,29                      | 33,44          | 66,56       |
| C16R100 | 8              | 121,68                     | 18,09       | 70,55 | 92,34                      | 2,29  | 97,70 | 33,71                      | 17,32          | 82,68       |
| C17R98  | 0              | 186,25                     | 41,45       | 44,93 | 134,24                     | 3,51  | 96,48 | 24,87                      | 42,14          | 57,86       |

\* Envej: envejecimiento en barrica; Monogluc: antocianos monoglucósidos; PDR: pigmentos de difícil resolución; PC: procianidinas; PD: prodelfinidinas. En la codificación de las muestras, el primer carácter indica la bodega (A, B, C), el siguiente número el año de producción y los últimos caracteres el porcentaje de uva de la variedad Rufete en el vino (Ej.: R54, 54 % uva Rufete y 46 % uva Tempranillo).

El contenido total de flavanoles es similar al descrito en vinos de otras variedades (Tabla 1) (Alcalde-Eon *et al.*, 2019), siendo mayor para aquellos vinos sin envejecimiento en barrica. Además, en todos los casos, el porcentaje de procianidinas fue mayor que el de prodelfinidinas, sin observarse diferencias importantes entre vinos 100 % y 50 % Rufete. Por último, los flavonoles mostraron concentraciones comprendidas entre 14 y 48 mg/L, estando presentes en porcentajes mayores los aglucones que los glicósidos (Tabla 1).

Con el objetivo de evaluar si el conjunto de las diferencias existentes en la composición fenólica permitía diferenciar entre muestras, los resultados obtenidos fueron sometidos a un estudio estadístico mediante PCA. Los mejores resultados se obtuvieron considerando, además de la composición porcentual fenólica, los parámetros colorimétricos CIELAB de las muestras y sus modificaciones tras la decoloración mediante SO<sub>2</sub> (44 variables en total, Tabla 2). Se definieron dos componentes principales, PC1 y PC2, que lograron explicar el 51,1 % de la variabilidad (Figura 1).

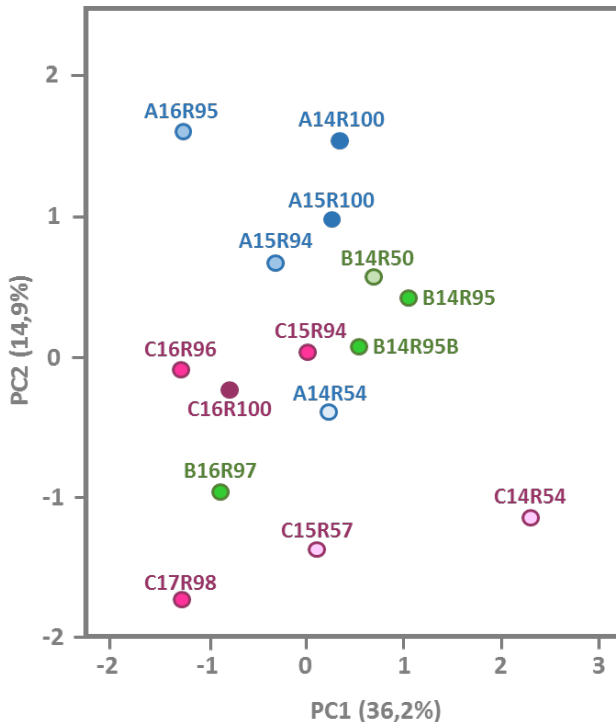


Figura 1. Representación en el plano de los resultados del análisis de componentes principales (PCA) obtenidos a partir de los datos de porcentajes de antocianos, flavanoles y flavonoles y de los parámetros de color CIELAB y su incremento tras su blanqueamiento por  $\text{SO}_2$ . Los códigos de las muestras se encuentran recogidos en la Tabla 1 y los coeficientes de las distintas variables en la Tabla 2.

A lo largo de PC1 (Figura 1) se observa una separación de los vinos en función de la cosecha, situándose los vinos más jóvenes (2017 y 2016) en valores negativos, los vinos de 2015 en valores próximos a 0 y los vinos de 2014 en valores positivos del PC1. Los coeficientes de cada variable individual en el PC1 informaron acerca de los compuestos implicados en dicha separación (Tabla 2). Los valores positivos se relacionaron con los porcentajes de aglicones de flavonoles; de PDR; de vitisinas de tipo B, y de prodelfinidinas totales, monoméricas y oligoméricas, además de con la coordenada  $b^*$  (amarilla) del color. Por el contrario, los valores negativos se correlacionaron con los porcentajes de ciertos glicósidos de flavonoles, de antocianos nativos de uva (monoglucósidos, acetatos y cumaratos) y de los dímeros de condensación directa flavanol-antociano, así como con los porcentajes de

TABLA 2. Variables utilizadas para el análisis de componentes principales (PCA), número de compuestos que se incluyen en cada variable y coeficientes de las mismas en los dos primeros componentes (PC1 y PC2)

| Variables de PCA  | Número de compuestos por variable | PC1    | PC2    |
|---|-----------------------------------|--------|--------|
| <b>Antocianos</b>   |                                   |        |        |
| Monoglucósidos  | 5                                 | -0.847 | -0.377 |
| Acetatos  | 4                                 | -0.791 | -0.420 |
| Cumaratos   | 6                                 | -0.754 | -0.445 |
| Productos de condensación directa Flavanol-Antociano                  | 6                                 | -0.657 | 0.277  |
| Productos de condensación Flavanol-Antociano mediada por acetaldehído | 4                                 | -0.463 | 0.417  |
| Vitisisina A  | 2                                 | -0.222 | 0.419  |
| Vitisisina B  | 1                                 | 0.766  | 0.409  |
| Vitisisinas Vinilfenol, vinilcatecol y vinilguavaicol                 | 7                                 | 0.227  | -0.184 |
| Vitisisinas de Vinil(epi)catequina                                    | 2                                 | 0.475  | 0.589  |
| PDR (pigmentos difícil resolución)                                    |                                   | 0.863  | 0.355  |
| <b>Flavanoles</b>   |                                   |        |        |
| Monómeros de prodelphinidinas   | 2                                 | 0.774  | -0.349 |
| Dímeros de prodelphinidinas   | 4                                 | 0.551  | -0.452 |
| Dímeros mixtos de prodelphinidinas                                    | 8                                 | 0.801  | -0.137 |
| Trímeros mixtos de prodelphinidinas                                   | 10                                | 0.146  | -0.271 |
| Trímeros mixtos dobles de prodelphinidinas                            | 4                                 | 0.164  | -0.691 |
| Epigallocatequina galato  | 1                                 | 0.013  | 0.363  |
| Monómeros de procianidinas  | 2                                 | 0.486  | 0.256  |
| Dímeros de procianidinas  | 7                                 | -0.613 | -0.168 |
| Trímeros de procianidinas   | 7                                 | 0.197  | 0.165  |
| Tetrámeros de procianidinas   | 9                                 | -0.096 | -0.672 |
| Pentámeros de procianidinas   | 8                                 | -0.358 | 0.027  |
| Epicatequina galato   | 1                                 | 0.025  | 0.282  |
| Prodelphinidinas totales  | 29                                | 0.796  | -0.326 |
| Procianidinas totales   | 34                                | -0.796 | 0.326  |
| <b>Flavonoles</b>   |                                   |        |        |
| <i>Glicosilados</i>   |                                   |        |        |
| Miricetina 3-O-glucurónido  | 1                                 | -0.175 | -0.015 |
| Miricetina 3-O-glucósido  | 1                                 | -0.435 | -0.104 |
| Quercetina 3-O-glucurónido  | 1                                 | -0.720 | 0.140  |
| Laricitrina 3-O-glucósido   | 1                                 | -0.569 | 0.448  |
| Kaempferol 3-O-glucurónido + kaempferol 3-O-glucósido                 | 2                                 | 0.768  | 0.016  |
| Siringetina 3-O-glucósido   | 1                                 | -0.191 | 0.462  |
| Isorhamnetina 3-O-glucósido   | 1                                 | 0.579  | 0.182  |
| <i>Aglucosados</i>  |                                   |        |        |
| Miricetina  | 1                                 | 0.550  | -0.249 |
| Quercetina  | 1                                 | 0.729  | 0.163  |
| Kaempferol  | 1                                 | 0.498  | 0.618  |
| <b>Parámetros de color</b>  |                                   |        |        |
| L* 3,6  |                                   | -0.575 | 0.580  |
| a* 3,6  |                                   | 0.291  | -0.740 |
| b* 3,6  |                                   | 0.920  | -0.032 |
| C <sub>ab</sub> * 3,6   |                                   | 0.528  | -0.664 |
| h <sub>ab</sub> * 3,6   |                                   | 0.867  | 0.220  |
| <i>Decoloración por SO<sub>2</sub></i>                                |                                   |        |        |
| ΔL*   |                                   | -0.724 | -0.618 |
| Δa*   |                                   | 0.909  | -0.081 |
| Δb*   |                                   | 0.378  | 0.441  |
| ΔC <sub>ab</sub> *  |                                   | 0.886  | 0.028  |
| Δh <sub>ab</sub> *  |                                   | -0.611 | 0.392  |



procianidinas totales. Además, se observaron coeficientes de correlación negativos y elevados para la luminosidad ( $L^*$ ) y su incremento, y del tono tras la decoloración mediante  $SO_2$ . Estos resultados se ajustan perfectamente a los cambios en la composición fenólica y propiedades cromáticas asociados al envejecimiento de los vinos descritos en estudios anteriores (Alcalde-Eon *et al.*, 2014).

A lo largo de PC2 (Figura 1), se observa una separación de los vinos en función de la bodega y, dentro de cada bodega y para una misma cosecha, es posible diferenciar entre vinos 100 %-95 % Rufete y vinos 50 % Rufete. Esta separación pone de manifiesto la importancia tanto del proceso de vinificación como del material de partida en la composición fenólica final de los vinos. Para PC2 se observaron correlaciones positivas con los porcentajes de kaempferol aglucón, laricitrina 3-*O*-glucósido, vitisinas de vinil(epi)catequina y malvidina 3-*O*-glucósido y los monómeros galoilados de flavanoles. Por el contrario, los valores negativos se correlacionaron con ciertos oligómeros de flavanoles, con la coordenada  $a^*$  (roja), con la pureza de color ( $C_{ab}^*$ ) y con el incremento de luminosidad ( $\Delta L^*$ ) al decolorar mediante  $SO_2$ . Comparando la localización de los vinos elaborados con 100 % o 95 % uvas Rufete con la de los vinos elaborados con mezclas del 50 % para una misma bodega y añada (A14R100 frente A14R54 y C15R94 frente C15R57), se puede observar que los vinos elaborados con mezclas 50 % se localizan en valores más negativos que los de porcentajes elevados de Rufete. Esta separación se relacionará con una mayor contribución de las variables con coeficientes negativos y una menor contribución de las que presentan coeficientes positivos en los vinos elaborados con mezclas del 50 %. En el caso de la bodega B la peor diferenciación entre muestras de distinto porcentaje de Rufete podría estar apuntando a una selección menos exhaustiva de la uva de partida en el momento previo a la vinificación.

#### 4. CONCLUSIONES

El empleo del análisis de componentes principales (PCA) en la matriz compuesta por los datos de composición fenólica obtenidos mediante HPLC-DAD-MS<sup>n</sup> y por los datos de caracterización cromática ha permitido establecer diferencias entre muestras en base a la cosecha, a la bodega y al tipo de uva empleada. Estos resultados ponen de manifiesto el papel fundamental de la variedad de uva y del proceso de vinificación empleado en la composición fenólica y características cromáticas de los vinos.

## 5. BIBLIOGRAFÍA

- Alcalde-Eon, C. Pigmentos derivados de antocianos formados durante la vinificación y envejecimiento y su contribución al color de los vinos tintos. Tesis doctoral; 2008. pp. 1-45.
- Alcalde-Eon C, Ferreras-Charro R, Ferrer-Gallego R, Rivero FJ, Heredia FJ, Escribano-Bailón MT. Monitoring the effects and side-effects on wine colour and flavonoid composition of the combined post-fermentative additions of seeds and mannoproteins. *Food Research International*. 2019; 126:108-650.
- Alcalde-Eon, C, García-Estévez I, Ferreras-Charro R, Rivas-Gonzalo JC, Ferrer-Gallego R, Escribano-Bailón MT. Adding oenological tannin *vs.* overripe grapes: Effect on the phenolic composition of red wines. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2014; 34:99-113.
- Alcalde-Eon C, García Estévez I, Martín-Baz A, Rivas Gonzalo JC, Escribano- Bailón MT. Anthocyanin and flavonol profiles of *Vitis vinifera* L. cv Rufete grapes. *Biochemical Systematics and Ecology*. 2014; 53:76-80.
- DOP Sierra de Salamanca. Dossier Técnico Actualizado marzo del 2018; citado 21 enero 2020. Disponible en:[https://www.dosierradesalamanca.es/wp-content/uploads/2018/04/dossier\\_DOP\\_Sierra-Salamanca.pdf](https://www.dosierradesalamanca.es/wp-content/uploads/2018/04/dossier_DOP_Sierra-Salamanca.pdf)
- García Muñoz, S. Trabajo de investigación tutelado: Descripción, sanidad y caracterización agronómica de la variedad tinta Rufete en la Sierra de Francia; 2015. pp. 2-5.
- García-Estévez I, Alcalde-Eon C, Escribano-Bailón MT. Flavanol quantification of grapes via multiple reaction monitoring mass spectrometry. Application to differentiation among clones of *Vitis vinifera* L. cv. Rufete grapes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2017; 65:6359-6368.
- Mira de Orduña, R. Climate change associated effects on grape and wine quality and production. *Food Research International*. 2010; 43:1844-1855.