

# COMPOSICIÓN ANTOCIÁNICA DE VINOS TINTOS JÓVENES MONOVARIETALES DE LA D.O. NAVARRA (SPAIN)

**Noriega, M. J.; Casp, A.**

Tecnología de Alimentos. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos.

UNIVERSIDAD PÚBLICA DE NAVARRA

Campus de Arrosadía 31006 – Pamplona (Spain). E-mail [nodo@unavarra.es](mailto:nodo@unavarra.es)

## **Resumen**

En este trabajo se analizó la composición antociánica en vinos tintos jóvenes de la D.O. Navarra. Se trata de vinos comerciales, de tres variedades de *Vitis vinifera*, dos autóctonas, Tempranillo y Garnacha, y otra foránea pero muy implantada en la región, Cabernet Sauvignon. Se han estudiado dos vendimias consecutivas correspondientes a los años 1999 y 2000. Mediante la técnica analítica de cromatografía líquida de alta resolución se han separado y cuantificado 14 compuestos antocianicos correspondientes a los 3-monoglucósidos de cuatro antocianidinas (delfinidina, petunidina, peonidina y malvidina); cinco derivados acéticos de los anteriores; cuatro derivados cumáricos y un derivado cafeico (cafeato del monoglucósido de malvidina).

De los resultados obtenidos no se observa una clara diferenciación de las variedades tanto en el contenido de antocianos totales como en el de antocianos libres, si bien se han observado patrones de antocianos individuales propios de cada variedad. Estos patrones se caracterizan por las diferentes proporciones de acilación del azúcar y por la identidad del agente acilante.

## **Résumé**

Dans ce travail on analyse la composition anthocyanique de vins rouges jeunes de la A.O. Navarra. Ce sont des vins commerciaux des cépages Tempranillo, Garnacha et Cabernet Sauvignon des vendanges 1999 et 2000. On a séparé et quantifié par chromatographie liquide d' haute résolution (CLHP) 14 composés anthocyaniques que correspondent au 3-monoglucosides de quatre anthcyanidines (delphinidin, petunidin, peonidin et malvidin); cinq dérivés acétiques des mêmes; quatre dérivés cumariques et un dérivé cafeique (cafeate du monoglucoside de malvidine).

Les résultats ne montrent pas une claire différenciation des cépages par la quantité d' anthocyanes totaux et d' antohocyanes libres, mais on a observé patrons individuels qui caractérisent chaque cépage et qui sont distinguées par les différents taux d' acylation du sucre aussi que par l' identité de l' agent acylant.

## **Introducción**

El sector vitivinícola constituye una de las principales actividades agrícola e industrial de la Comunidad Foral de Navarra. Es por ello, que se debe tratar de impulsar el desarrollo científico y tecnológico de este importante sector socioeconómico, sin olvidarnos de los cambios que se están produciendo en los hábitos del consumidor. Estos cambios nos indican una evolución favorable en el consumo de vinos de calidad.

En el caso de los vinos tintos, los compuestos polifenólicos, y los productos de sus reacciones químicas, juegan un papel importante ya que son los responsables principales del color y del sabor de los mismos. Por lo tanto, estas sustancias representan una de las variables que más influyen en la calidad final del vino tinto.

Entre estos compuestos se encuentran los antocianos. Estructuralmente, los antocianos pertenecen al grupo de compuestos fenólicos llamados flavonoides, que se caracterizan por la presencia de un aglucón (antocianidina) unida a una o varias moléculas de azúcar que pueden estar o no esterificadas con ácidos orgánicos. Estas moléculas provienen de diferentes partes del racimo de uva y son extraídas durante la vinificación. Roggero y col. (1986) señalan que la concentración de antocianos, siendo una característica relacionada con la naturaleza de la uva, varía en función de características climáticas y pedológicas.

La importancia de esta familia de compuestos polifenólicos sobre la calidad final del vino, nos ha llevado a emprender esta investigación, con el objetivo de determinar la composición antocianica de los vinos tintos jóvenes de la D.O Navarra, procedentes de tres variedades distintas de uva, así como de dos añadas diferentes. Se pretende analizar las diferencias entre las variedades objeto de estudio.

## **Materiales y métodos**

### **Material**

En este trabajo se estudian un total de 25 vinos tintos jóvenes monovarietales. Son vinos comerciales de la D.O. Navarra y pertenecientes a las vendimias de los años 1999 y 2000. Las variedades con las que se han elaborado los distintos vinos son: Tempranillo, Garnacha y Cabernet Sauvignon. Los vinos de las dos añadas de estudio se analizaron conjuntamente.

### **Métodos analíticos**

Para la determinación analítica, tanto del contenido en antocianos totales como en antocianos libres se tomaron dos muestras por cada vino objeto de estudio, realizando los análisis por duplicado. Con lo cual se obtuvieron cuatro datos por cada vino analizado.

Para la determinación del contenido en antocianos totales, expresado en miligramos por litro, se siguió el método por decoloración con bisulfito, de Ribéreau-Gayon y Stonestreet (1965). El equipo utilizado fue un espectrofotómetro UV-Vis Cintra 20.

El equipo utilizado para la realización de los análisis de antocianos libres mediante la técnica de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), estaba compuesto de un Módulo de Separación Waters 2690 acoplado a un detector PDA Waters 996. Para la obtención y tratamiento de los datos se utilizó el programa informático Millennium. Como columna cromatográfica se empleó una columna Nova-Pack  $C_{18}$ , cuyas dimensiones eran de 150 mm x 2 mm, y 4  $\mu$ m de tamaño de partícula. El volumen de muestra inyectado era de 20  $\mu$ l. La

muestra se preparaba previamente a la inyección haciéndola pasar por un cartucho Sep-Pak C<sub>18</sub> y posterior concentración a vacío o en rotavapor (T<sup>a</sup> de 35 ° C). Como método de trabajo, se utilizó un flujo de fase móvil de 0,2 ml/min, empleando como eluyente A ácido fórmico en agua (5:95) y como eluyente B acetonitrilo. El gradiente de concentraciones era el siguiente:

Tiempo de análisis (min)	% Solvente A	% Solvente B
0	90	10
20	80	20
28	80	20
35	75,8	24,2

La elución de los distintos compuestos antocianicos fue monitorizada en el rango de longitudes de onda de 250 nm a 550 nm, y se identificaron por medio de los tiempos de retención de los picos cromatográficos, dado que el orden de elución de estos compuestos en estas condiciones de análisis es siempre el mismo (los más polares eluyen antes que los menos polares), y de las características espectrales de cada pico. La cuantificación de cada antociano identificado se realizó a la longitud de onda de 520 nm, expresada como miligramos por litro de 3-monoglucósido de malvidina utilizado como patrón.

Tratamiento estadístico de los datos

Para el tratamiento de los datos referentes a los antocianos libres se han utilizado los porcentajes de cada antocianina respecto al contenido total en antocianos libres.

Los distintos análisis estadísticos presentados en este trabajo se realizaron con el programa Statgraphics Plus para Windows, versión 5.0.

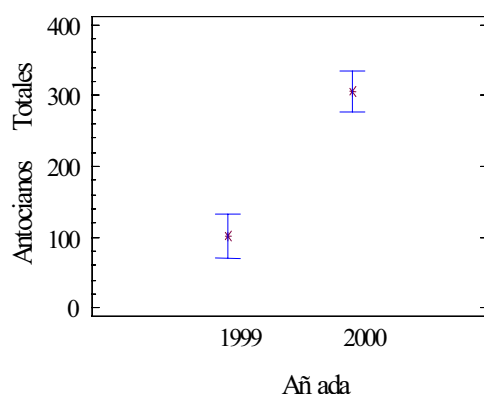
## Resultados y discusión

A través del análisis multifactorial de la varianza efectuado con las medias del contenido en antocianos totales, se pretende ver si existe diferenciación varietal y por añadas, respecto a estos compuestos, en el conjunto total de vinos estudiados. Los resultados del análisis, que aparecen en la tabla 1, muestran que no existen diferencias significativas entre las tres variedades en cuanto al contenido en antocianos totales, mientras que las diferencias sí son significativas al considerar el efecto añada. La interacción entre ambos factores tampoco resulta significativa.

**Tabla 1. Análisis multifactorial de la varianza. Antocianos Totales**

Fuente de variación	Suma de cuadrados	g.l.	Cuadrados medios	Estadístico F	P
<b>EFFECTOS</b>					
A: Variedad	10667,9	2	5333,9	1,48	0,2522
B: Añada	179491,0	1	179491,0	49,88	0,0000
<b>INTERACCIONES</b>					
AB	4548,8	2	2274,4	0,63	0,5423
RESIDUO	8371,9	19	3598,5		
TOTAL	309602,0	24			

Los vinos jóvenes de primer año, es decir los correspondientes a la añada 2000, muestran mayores contenidos, para el caso de las tres variedades, que los vinos jóvenes de segundo año, como se puede observar en la figura 1. Este resultado es totalmente lógico, puesto que los antocianos evolucionan rápidamente en el vino.



**Figura 1. Medias e intervalos de confianza para el efecto añada**

Con respecto a los resultados del análisis cromatográfico de los antocianos libres, no se observa una clara diferenciación en el contenido total en antocianos libres entre las tres variedades, aunque sí ocurre para los vinos pertenecientes a las distintas añadas (tabla 2), tal y como sucedió en el caso de los antocianos totales.

**Tabla 2. Contenidos en antocianos libres, según la variedad y el año de vendimia**

	Antocianos libres (mg/l)
<i>Variedad</i>	
Tempranillo	116,55
Garnacha	102,02
Cabernet Sauvignon	124,29
<i>Año vendimia</i>	
1999	37,57
2000	198,01

Las antocianinas libres cuantificadas, agrupadas en cuatro fracciones, así como la codificación que se ha utilizado para cada uno de ellas, son:

- Antocianinas-3-monoglucósido: *monoglucósido de delphinidina (DfG), monoglucósido de petunidina (PtG), monoglucósido de peonidina (PnG), monoglucósido de malvidina (MvG).*
- Antocianinas-3-monoglucósido (6-acetato): *acetato del monoglucósido de delphinidina (DfAc), acetato del monoglucósido de cianidina (CyAc), acetato del monoglucósido de petunidina (PtAc), acetato del monoglucósido de peonidina (PnAc), acetato del monoglucósido de malvidina (MvAc).*
- Antocianinas-3-monoglucósido (6-cumarato): *cumarato del monoglucósido de cianidina (CyCu), cumarato del monoglucósido de petunidina (PtCu), cumarato del monoglucósido de peonidina (PnCu), cumarato del monoglucósido de malvidina (MvCu).*
- Antocianinas-3-monoglucósido (6-cafeato): *cafeato del monoglucósido de malvidina (MvCf).*

Roggero y col. (1986) señalan que los parámetros más importantes, desde el punto de vista taxonómico, para la clasificación de las variedades según su contenido antocianico son: los contenidos en los monoglucósidos de las antocianidinas delphinidina, petunidina, peonidina y malvidina, las concentraciones de ésteres acéticos y cumáricos, principalmente de los glucósidos de peonidina y malvidina, así como la relación entre el monoglucósido de malvidina y el de peonidina (MvG/PnG).

Otros autores, entre ellos Ortega y col. (1992), proponen también incluir la suma de los derivados de delphinidina, petunidina, malvidina con respecto a los de peonidina (derivados (Mv+Pt+Df)/Pn), y la relación entre el monoglucósido de malvidina y el de delphinidina (MvG/DfG), ya que manifiestan actividades enzimáticas específicas de la especie.

Así, la distribución por variedad y año de vendimia de las distintas fracciones antocianicas y de algunas relaciones entre las antocianinas se pueden observar en la tabla 3. La fracción de antocianos no acilados engloba los monoglucósidos de las antocianidinas y los derivados cinámicos incluyen los *p*-cumaratos y el único cafeoato cuantificado.

**Tabla 3. Distribución, por variedad y año de vendimia, de las distintas fracciones antocianicas (%) y relaciones entre antocianos**

	Monoglucos. malvidina (%)	No Acilados (%)	Derivados acéticos (%)	Derivados cinámicos (%)	MvG/PnG	Derivados (Mv+Pt+Df)/Pn	MvG/DfG
<i>Variedad</i>							
Tempranillo	54,34	74,80	12,98	12,08	12,06	12,79	8,61
Garnacha	58,04	74,10	14,77	11,13	12,49	14,32	12,54
Cabernet	49,39	67,26	22,88	9,86	11,49	12,32	7,86
<i>Año</i>							
1999	46,59	64,64	22,52	12,77	9,93	12,11	7,62
2000	59,75	77,96	12,47	9,56	11,15	13,50	11,20

La observación de los datos obtenidos para cada una de las tres variedades, muestra una clara diferencia entre ellas cuando comparamos los contenidos en el monoglucósido de malvidina. Así, los vinos de Cabernet Sauvignon son los que presentan, por término medio, una menor proporción de esta antocianidina, mientras que la diferencia no es tan acusada entre las variedades Tempranillo y Garnacha. En cuanto a la proporción en antocianos no acilados, ésta pone de manifiesto una similitud entre los vinos de Tempranillo y Garnacha, siendo la variedad Cabernet Sauvignon la que presenta el valor menor.

En cuanto a los acetatos y cinamatos, la variedad Tempranillo tiene un contenido similar en estos compuestos, mientras que en la variedad Garnacha la concentración de acetatos es un poco mayor que la de cinamatos. Aún es más clara esta diferencia para la variedad Cabernet Sauvignon, que presenta un mayor porcentaje de acetatos, en comparación con las otras dos variedades, y una menor proporción de derivados cinámicos.

Respecto a las relaciones entre los compuestos antocianicos que aparecen en las tres últimas columnas de la tabla 3, se observa que la variedad Cabernet Sauvignon presenta los valores menores, aunque las diferencias son pequeñas en las tres variedades. No obstante, la variedad Garnacha se diferencia de las otras dos por su mayor valor en la relación MvG/DfG, debido, principalmente a la mayor contribución del monoglucósido de malvidina en esta variedad.

Atendiendo al año de vendimia, se observa que el porcentaje tanto en monoglucósido de malvidina como en antocianos no esterificados es menor en los vinos de la añ ada 1999 con respecto a los de la añ ada 2000. A los mismos resultados se llega si observamos los valores de las relaciones MvG/PnG, MvG/DpG y la de los derivados de Mv, Pt y Df con respecto a los de Pn.

A continuación, con los datos correspondientes a los antocianos libres, se realizaron los correspondientes aná lisis multifactorial de la varianza, considerando los mismos efectos que en el caso del aná lisis de los antocianos totales. El objetivo era intentar encontrar diferencias entre las variedades y las añ adas en cuanto a la composición en los distintos antocianos. La tabla 4 presenta los resultados de aquellas variables antociá nicas para las cuales todos o algunos de los efectos han resultado significativos.

**Tabla 4. Análisis multifactorial de la varianza, para los antocianos libres: valores de F y P por cada factor de variación**

Variable	Variedad (V)	Añ o Vendimia (Av)	Interacción (V x Av)
PtG	10,90 (0,0007)	2,31 (0,1450)	2,85 (0,0828)
MvG	2,22 (0,1360)	32,73 (0,0000)	3,74 (0,0427)
DfAc	14,38 (0,0002)	63,01 (0,0000)	16,47 (0,0001)
CyAc	2,63 (0,0981)	16,66 (0,0006)	0,46 (0,6365)
PtAc	8,11 (0,0028)	32,47 (0,0000)	7,37 (0,0043)
MvAc	12,09 (0,0004)	0,82 (0,3753)	0,55 (0,5874)
CyCu	6,03 (0,0094)	1,45 (0,2434)	6,87 (0,0057)
PtCu	6,59 (0,0067)	26,11 (0,0001)	4,31 (0,0285)
MvCf	2,59 (0,1010)	28,28 (0,0000)	2,92 (0,0784)

Las variables antociá nicas que mejor explicarí an las diferencias existentes entre las variedades de uva estudiadas serí an el acetato del monoglucósido de delfinidina (DfAc) seguido del acetato del monoglucósido de malvidina (MvAc) y, en tercer lugar, el monoglucósido de petunidina (PtG). Todos ellos presentan unos valores P de significatividad entre 0,0001 y 0,0010. Respecto al añ o de vendimia, existe el mismo nú mero de antocianinas que contribuyen a la diferenciación de los vinos segú n este factor, siendo má s significativas el DfAc, el MvG, el PtAc y el MvCf, con valores de  $P = 0,0000$ . Aunque también son especialmente significativas las variables PtCu y CyAc ( $P < 0,001$ ). Por ú ltimo, la interacción de los dos factores muestra significatividad en cuanto al contenido en DfAc, PtAc, CyCu, y PtCu, es decir, en algunos de los derivados acilados.

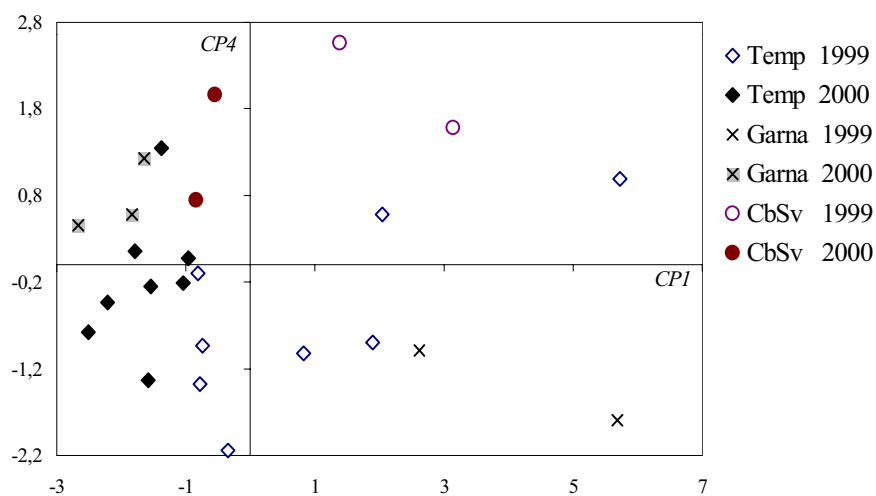
Finalmente, aplicamos un aná lisis de componentes principales, con los datos originales, con el fin de reducir el nú mero de dimensiones. De los 14 posibles componentes principales, se han obtenido cuatro con valores propios superiores a la unidad. Estos cuatro primeros componentes logran explicar conjuntamente alrededor del 82 % de la varianza de los datos.

En la tabla 5 se muestran los pesos de cada antociano en estos cuatro componentes principales, mientras que la figura 2 muestra la distribución de las muestras en el plano definido por PC1 y PC4. Así , el PC4 permite la agrupación de los vinos de la variedad Cabernet Sauvignon gracias a su relativa alta concentración en MvAc. Los demás vinos

aparecen más dispersos respecto a este componente principal. El PC1 diferencia los vinos en función de su contenido en MvG, principalmente. Logra una clara diferenciación entre añadas en los casos de las variedades Garnacha y Cabernet Sauvignon. Sin embargo, este primer componente principal no consigue una buena clasificación de los vinos según la variedad a la que pertenecen, puesto que se observa una gran influencia del efecto añada. Por lo tanto, con el objeto de mejorar los resultados obtenidos e intentar encontrar diferencias varietales, aplicamos, nuevamente, un análisis multivariante de componentes principales a los datos pertenecientes a cada añada.

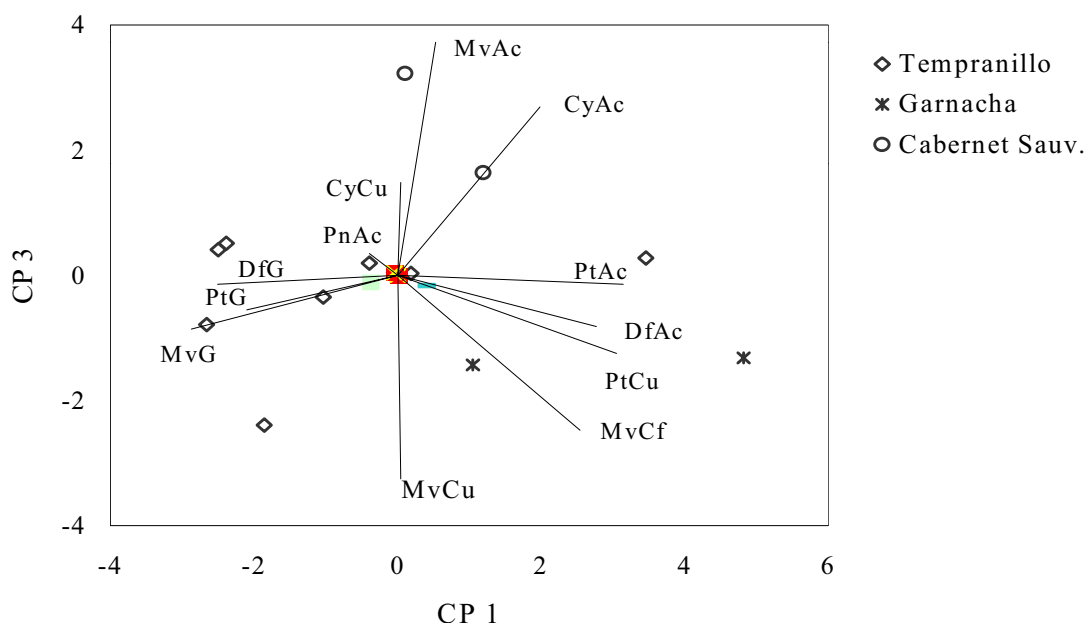
**Tabla 5. Resultados del análisis de componentes principales. Todos los vinos.**

	<i>Componente Principal</i>			
	<i>I</i>	<i>II</i>	<i>III</i>	<i>IV</i>
<i>Valor Propio</i>	5,46	2,55	1,94	1,45
<i>Porcentaje de la varianza</i>	39,04	18,24	13,91	10,38
<i>Variable</i>	<i>Peso de las variables en cada componente</i>			
CyAc	<b>0,353</b>	0,102	0,188	0,169
CyCu	0,164	-0,424	0,273	0,203
DfAc	<b>0,383</b>	0,194	-0,091	-0,119
DfG	-0,072	0,104	0,569	-0,360
MvAc	0,099	0,341	0,334	<b>0,355</b>
MvCf	<b>0,372</b>	-0,107	-0,038	-0,365
MvCu	0,054	-0,231	-0,226	<b>-0,533</b>
MvG	<b>-0,377</b>	-0,014	-0,285	0,060
PnAc	-0,027	-0,472	-0,064	0,094
PnCu	0,190	-0,412	0,185	0,193
PnG	0,150	-0,365	-0,068	0,239
PtAc	<b>0,398</b>	0,146	-0,044	-0,002
PtCu	<b>0,396</b>	0,030	-0,192	-0,125
PtG	-0,172	-0,179	0,481	-0,347



**Figura 2. Distribución de los vinos según los componentes principales CP1 y CP4**

Los resultados del análisis de componentes principales efectuado con los datos correspondientes a la año 1999, muestran cuatro componentes principales con valores propios superiores a la unidad, logrando explicar conjuntamente el 86 % de la variabilidad de los datos. La figura 3 muestra la distribución de los vinos sobre el plano definido por los componentes principales CP1 y CP3, así como los pesos de cada antociano. De esta manera se pueden visualizar las diferencias entre muestras, las correlaciones, positivas o negativas, entre antocianos y las relaciones que pueden existir entre algunos grupos de vinos y los antocianos identificados. Se observa que el CP1 está caracterizado, principalmente, por el contenido en antocianos monoglucósidos. En concreto, por el contenido en MvG, DfG y PtG. Así, podríamos decir que este componente principal contribuye a la diferenciación de los vinos de Tempranillo, situados en la zona negativa del CP1, gracias a su mayor contenido relativo en estos compuestos. Por otro lado, el CP3 logra diferenciar los vinos de Cabernet Sauvignon del resto de variedades. Este componente principal está relacionado, principalmente, con las antocianidinas MvAc y CyAc de forma positiva y con MvCu negativamente.



**Figura 3. Distribución de los vinos de 1999 según los componentes principales CP1 y CP3**

Los vinos pertenecientes a la año 2000 están representados, en el gráfico de la figura 4, respecto a los componentes principales CP1 y CP2 resultantes del correspondiente análisis de componentes principales realizado con los datos de esta año. Se han obtenido cuatro componentes principales con valores propios mayores a la unidad, logrando explicar el 91,53 % de la variabilidad de los datos originales. En la figura 4 se observa la distribución de las distintas muestras así como los pesos de los antocianos en los dos primeros componentes principales, que explican el 65,86 % de la varianza de los datos. El CP1 permite diferenciar entre sí los vinos de Cabernet Sauvignon de los de Garnacha. Este primer componente principal se relaciona con MvG y algunos de los derivados cumáricos, que presentan los mayores pesos negativos, y por otro lado con los derivados acéticos que muestran pesos positivos. Por lo tanto podemos decir que los vinos de Garnacha se caracterizan por su mayor contenido relativo en MvG con respecto a los de Cabernet Sauvignon, mientras que estos últimos lo hacen por su elevado contenido en derivados acéticos, frente a cinámicos, y en concreto por su alta concentración relativa en MvAc. El CP2 consigue una vaga diferenciación de la variedad Tempranillo con respecto a las otras dos, gracias a su mayor concentración en las antocianidinas monoglucósidas DfG y PtG, y en los derivados cumárico y cafeico del monoglucósido de malvidina (MvCf y MvCu).

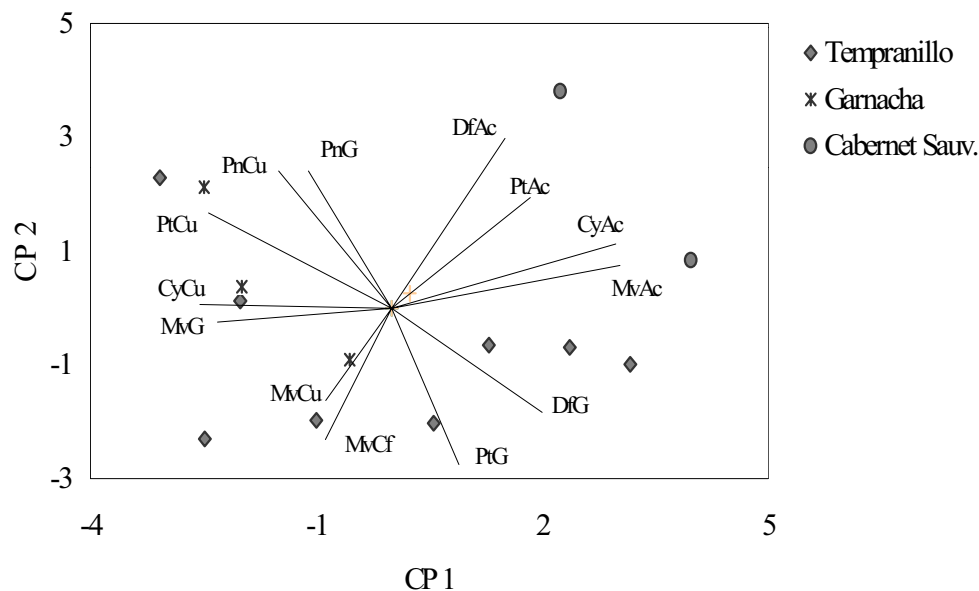


Figura 4. Distribución de los vinos de la añ ada 2000 segú n los componentes principales CP1 y CP2

## Conclusiones

Con respecto al contenido en antocianos totales, no se han encontrado diferencias importantes entre los vinos de las tres variedades estudiadas, sin embargo esas diferencias se observan teniendo en cuenta la añ ada a la que pertenecen los vinos, correspondiéndoles un mayor contenido a los vinos má s jó venes (añ ada 2000), como era de esperar.

En cuanto a la distribución antociá nica, los resultados muestran que un mí nimo nú mero de antocianinas hace posible la caracterización varietal de los vinos estudiados. Esa diferenciación se hace má s difi cil al estudiar todos los vinos globalmente, sin considerar el añ o de vendimia. Se observa claramente que la diferenciación de las variedades, al estudiarlas en cada añ ada por separado, está relacionada tanto con el contenido relativo en monoglucósido de malvidina (MvG) como con la proporción de antocianos esterificados. Por otro lado, el PnG no se muestra como factor importante en la caracterización de estos vinos, lo cual contradice las observaciones de otros autores.

Se ha observado, en todos los casos, que la variedad que má s se diferencia del resto es la Cabernet Sauvignon. El MvG, siendo el antociano mayoritario en todos los vinos, se encuentra en proporción similar en los vinos de Tempranillo y Garnacha, aunque mayoritario en esta ú ltima, mientras que los de Cabernet Sauvignon presentan menor contenido. Por otro lado, esas mismas variedades, Tempranillo y Garnacha, también se asemejan por la concentración en antocianos no acilados, que resulta ser menor que en los vinos de la variedad Cabernet Sauvignon, caracterizados por su alta proporción de derivados acéticos frente a ciná micos y, en concreto, por su alto contenido en MvAc.

De todo lo concluido anteriormente, hay que tener presente que en el contenido antociá nico de los vinos influyen otros factores, independientes de la naturaleza de la uva, como son los climá ticos y los relacionados con el proceso de elaboración del vino. Factores, por otro lado, incontrollables en el trabajo realizado puesto que, como ya señ alamos anteriormente, las muestras analizadas corresponden a vinos comerciales (embotellados y representativos de las bodegas de la D.O Navarra). Por lo tanto, resulta difi cil establecer una clasificación de los vinos segú n la variedad de procedencia atendiendo solamente a su contenido antociá nico. No obstante, el estudio de un mayor nú mero de muestras considerando, a su vez, mayor nú mero de añ adas podrí a mejorar los resultados de este trabajo.

## Referencias bibliográficas

- BISQUERRA, R. 1989. *Introducción conceptual al análisis multivariante*. Vol. I y II. Ed. PPU, Barcelona.
- BOURZEIX, M.; HEREDIA, N.; ESTRELLA, M.I. 1982. Le dosage des anthocyanes des vins. *Sciences des Aliments*, 2: 71-82.
- CACHO, J.; FERNÁNDEZ, P.; FERREIRA, V.; CASTELL, J.E. 1992. Evolution of five anthocyanidin-3-glucosides in the skin of the Tempranillo, Moristel, and Garnacha grape varieties and influence of climatological variables. *Am. J. Enol. Vitic.*, 43 (3): 244-248.
- CLIMENT, D.; PARDO, T. 1993. Study of the phenolic composition of Bobal, Grenache and Tempranillo varietal grapes. *Riv. Vitic. Enol.*, nº 3: 35-44.
- DALLAS, C.; LAUREANO, O. 1994. Effect of SO<sub>2</sub> on the extraction of individual anthocyanins and color matter of three Portuguese grape varieties during winemaking. *Vitis*, nº 33: 41-47.
- DI STEFANO, R.; MORIONDO, G.; BORSA, D.; GENILINI, N.; FOTI, S. 1994. Influenza di fattori climatici e colturali sul profilo antocianico varietale. *L'Enotecnico*, 30, abril, 73-77.
- GONZÁLEZ, M.L.; DÍ EZ, C.; SANTAMARÍ A, G. 1987. Análisis de la fracción antocianica de vinos tintos por inyección directa. *Encontro anual da Sociedade Portuguesa de Química*, 443-444.
- GONZÁLEZ, M.L.; SANTAMARÍ A, G.; DÍ EZ, C. 1990. Anthocyanins as parameters for differentiating wines by grape variety, wine-growing, and wine-making methods. *Journal of Food Composition and Analysis*, 3: 54-66.
- HEBRERO, E.; SANTOS-BUELGA, C.; RIVAS-GONZALO; J.C. 1988. High Performance Liquid Chromatography- Diode Array Spectroscopy identification of anthocyanins of *Vitis vinifera* variety Tempranillo. *Am. J. Enol. Vitic.*, vol. 39, nº 3: 227-233.
- HMAMOUCHE, M.; ES-SAFI, N.; PELLECUER, J.; ESSASSI, E.M. 1995. Composition anthocyanique des pellicules de raisin de quatre cépages rouges cultivés au Maroc. *Bulletin de l'O.I.V.*, 905-919.
- ORTEGA, M.D.; REYES, M.J.; GONZÁLEZ, D.C.; RIVAS, J.C.; SANTOS, C. 1992. Estudio de la composición antocianica de uvas tintas cultivadas en Castilla y León. *XIV Jornadas Viticul. y Enolog. Tierra de Barros*, mayo 1992, 499- 507. Almedralejo.
- RIBÉ REAU-GAYON, P.; STONESTREET, E. 1965. Le dosage des anthocyanes dans le vin rouge. *Bull. Soc. Chim.*, 9: 119-142.
- ROGGERO, J.C.; COEN, S.; LARICE, J.L. 1986. Etude comparative de la composition anthocyanique des cépages. *Bull de Liason-Group Polyphenols*, vol. 13: 380-388.
- WULF, L.W. Y NAGEL, C.W. 1978. High Pressure Liquid Chromatographic separation of anthocyanins of *Vitis vinifera*. *Am. J. Enol. Vitic.*, 29: 42-49.