

Article

# Enological Tannin Effect on Red Wine Color and Pigment Composition and Relevance of the Yeast Fermentation Products

Ignacio García-Estévez <sup>1</sup>, Cristina Alcalde-Eon <sup>1</sup>, Víctor Puente <sup>2</sup>, M. Teresa Escribano-Bailón <sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup> Grupo de Investigación en Polifenoles, Department of Analytical Chemistry, Nutrition and Food Science, Faculty of Pharmacy, University of Salamanca, Campus Miguel de Unamuno, E 37007 Salamanca, Spain; igarest@usal.es (I.G.-E.), crisalcaldeon@usal.es (C.A.-E.)

<sup>2</sup> Laffort España, Polígono Txirrita Maleo 12, E 20100, Errenteria, Spain; victor.puente@laffort.com

\* Correspondence: escriban@usal.es; Tel.: +34-923-294537

## Grapes and wines

All wines studied were elaborated from the same “batch” of *Vitis vinifera* L. cv. Tempranillo grapes, which were collected the same day at technological maturity (24 °Brix) from a vineyard located in the D.O.Ca. Rioja. Grape juice showed 4.9 g/L of titrable acidity (expressed as tartaric acid equivalents), 3.4 g/L of malic acid, pH=3.93 and IPT=34. Fermentation was carried out with *S. cerevisiae* (*Zymaflore RJA64*, Laffort España, Rentería, Spain). Winemaking was performed in 100L stainless steel fermenters. Grape juice underwent cold macerations for 3 days, then it underwent alcoholic fermentation for 16 days and finally, wines underwent post-fermentative maceration for 3 days. SO<sub>2</sub> was added before (5g/hL) and after (4g/hL) alcoholic fermentation and temperature was controlled to be lower than 13 °C, 23 °C and 20°C during cold maceration, fermentation process and post-fermentative maceration, respectively. Furthermore, during fermentation process the cap was punched down each two days. After post-fermentative maceration, malolactic fermentation was induced by inoculation with lactic acid bacteria (*Oenococcus oeni*).

R and C wines were elaborated following the same procedure but in the case of R wines, the enological tannin C was added at the start (10 g/hL), during the first *pumping over* (15 g/hL) and at the end of the alcoholic fermentation (10 g/hL) to reach a final concentration of 35 g/hL, as the manufacturer recommends.

## Supplementary Materials

**Table S1.** Evolution of the percentage in relation to the initial content of the different anthocyanin 3-*O*-glucoside in the model systems prepared in standard wine.

Percentage in relation to initial content*									
Dp 3-glc**				Cy 3-glc**					
Day	ATC	ATS	A	Day	ATC	ATS	A		
0	100.00 <sup>a</sup>	100.00 <sup>a</sup>	100.00 <sup>a</sup>	0	100.00 <sup>a</sup>	100.00 <sup>a</sup>	100.00 <sup>a</sup>		
5	77.23 <sup>a</sup>	81.69 <sup>a</sup>	82.11 <sup>a</sup>	5	88.53 <sup>a</sup>	89.44 <sup>a</sup>	89.50 <sup>a</sup>		
8	63.90 <sup>a</sup>	63.46 <sup>a</sup>	65.78 <sup>a</sup>	8	83.51 <sup>a</sup>	83.24 <sup>a</sup>	83.42 <sup>a</sup>		
11	56.40 <sup>a</sup>	58.34 <sup>a,b</sup>	59.99 <sup>b</sup>	11	79.14 <sup>a</sup>	79.50 <sup>a</sup>	80.46 <sup>a</sup>		
19	30.61 <sup>a</sup>	31.58 <sup>a,b</sup>	32.98 <sup>a</sup>	19	64.35 <sup>a</sup>	62.98 <sup>a</sup>	63.64 <sup>a</sup>		
26	18.08 <sup>a</sup>	19.26 <sup>b</sup>	20.61 <sup>c</sup>	26	55.86 <sup>a</sup>	55.89 <sup>a</sup>	56.58 <sup>a</sup>		
33	10.34 <sup>a</sup>	11.46 <sup>a</sup>	12.87 <sup>b</sup>	33	48.92 <sup>a</sup>	49.34 <sup>a</sup>	50.85 <sup>a</sup>		
41	4.45 <sup>a</sup>	5.52 <sup>b</sup>	6.63 <sup>c</sup>	41	40.82 <sup>a</sup>	41.48 <sup>a,b</sup>	43.66 <sup>b</sup>		
49	2.28 <sup>a</sup>	2.81 <sup>b</sup>	3.32 <sup>c</sup>	49	35.34 <sup>a</sup>	35.98 <sup>a</sup>	37.07 <sup>b</sup>		
56	1.10 <sup>a</sup>	1.36 <sup>b</sup>	1.62 <sup>c</sup>	56	30.57 <sup>a</sup>	30.67 <sup>a</sup>	32.44 <sup>b</sup>		
63	0.48 <sup>a</sup>	0.64 <sup>b</sup>	0.76 <sup>b</sup>	63	24.35 <sup>a</sup>	24.39 <sup>a</sup>	26.17 <sup>b</sup>		
70	0.23 <sup>a</sup>	0.27 <sup>a,b</sup>	0.32 <sup>b</sup>	70	18.63 <sup>a</sup>	18.34 <sup>a</sup>	20.18 <sup>b</sup>		
78	0.19 <sup>a</sup>	0.22 <sup>a</sup>	0.24 <sup>a</sup>	78	18.25 <sup>a</sup>	18.25 <sup>a</sup>	20.94 <sup>b</sup>		
90	n.d.	n.d.	n.d.	90	12.63 <sup>a</sup>	12.62 <sup>a</sup>	13.94 <sup>b</sup>		
98	n.d.	n.d.	n.d.	98	11.31 <sup>a</sup>	10.92 <sup>b</sup>	12.40 <sup>c</sup>		
Day	Pt 3-glc**			Day	Pn 3-glc**				
0	100.00 <sup>a</sup>	100.00 <sup>a</sup>	100.00 <sup>a</sup>	0	100.00 <sup>a</sup>	100.00 <sup>a</sup>	100.00 <sup>a</sup>		
5	84.73 <sup>a</sup>	86.38 <sup>a</sup>	87.79 <sup>a</sup>	5	88.40 <sup>a</sup>	89.70 <sup>a</sup>	90.84 <sup>a</sup>		
8	77.72 <sup>a</sup>	77.24 <sup>a</sup>	78.56 <sup>a</sup>	8	84.40 <sup>a</sup>	83.53 <sup>a</sup>	84.26 <sup>a</sup>		
11	72.10 <sup>a</sup>	72.74 <sup>a</sup>	74.83 <sup>a</sup>	11	80.71 <sup>a</sup>	80.83 <sup>a</sup>	82.59 <sup>a</sup>		
19	52.47 <sup>a</sup>	52.84 <sup>a</sup>	54.65 <sup>a</sup>	19	70.02 <sup>a</sup>	69.81 <sup>a</sup>	70.69 <sup>a</sup>		
26	41.65 <sup>a</sup>	42.52 <sup>a</sup>	44.40 <sup>b</sup>	26	62.33 <sup>a</sup>	62.40 <sup>a</sup>	63.65 <sup>b</sup>		
33	32.29 <sup>a</sup>	33.84 <sup>a,b</sup>	35.97 <sup>b</sup>	33	56.70 <sup>a</sup>	56.07 <sup>a</sup>	58.31 <sup>b</sup>		
41	23.16 <sup>a</sup>	24.53 <sup>a</sup>	26.68 <sup>b</sup>	41	49.53 <sup>a</sup>	48.56 <sup>a</sup>	51.68 <sup>b</sup>		
49	12.92 <sup>a</sup>	13.95 <sup>b</sup>	15.28 <sup>c</sup>	49	44.53 <sup>a</sup>	43.61 <sup>a</sup>	46.41 <sup>b</sup>		
56	8.88 <sup>a</sup>	9.60 <sup>a</sup>	11.14 <sup>b</sup>	56	39.69 <sup>a</sup>	38.61 <sup>a</sup>	41.58 <sup>b</sup>		
63	4.87 <sup>a</sup>	5.82 <sup>b</sup>	6.56 <sup>c</sup>	63	33.86 <sup>a</sup>	33.88 <sup>a</sup>	36.56 <sup>b</sup>		
70	2.87 <sup>a</sup>	3.42 <sup>b</sup>	4.11 <sup>c</sup>	70	30.74 <sup>a</sup>	30.05 <sup>a</sup>	32.78 <sup>b</sup>		
78	2.06 <sup>a</sup>	2.45 <sup>a,b</sup>	3.12 <sup>b</sup>	78	28.07 <sup>a</sup>	26.85 <sup>a</sup>	30.10 <sup>b</sup>		
90	n.d.	n.d.	n.d.	90	23.19 <sup>a</sup>	22.13 <sup>b</sup>	24.70 <sup>c</sup>		
98	n.d.	n.d.	n.d.	98	22.19 <sup>a</sup>	21.08 <sup>b</sup>	24.25 <sup>c</sup>		
Day	Mv 3-glc**			Day	Total anthocyanin 3-glc**				
0	100.00 <sup>a</sup>	100.00 <sup>a</sup>	100.00 <sup>a</sup>	0	100.00 <sup>a</sup>	100.00 <sup>a</sup>	100.00 <sup>a</sup>		
5	87.13 <sup>a</sup>	87.72 <sup>a</sup>	89.10 <sup>a</sup>	5	85.28 <sup>a</sup>	86.88 <sup>a</sup>	87.98 <sup>a</sup>		
8	85.43 <sup>a</sup>	84.62 <sup>a</sup>	85.77 <sup>a</sup>	8	80.02 <sup>a</sup>	79.37 <sup>a</sup>	80.62 <sup>a</sup>		
11	80.33 <sup>a</sup>	80.40 <sup>a</sup>	82.38 <sup>a</sup>	11	74.71 <sup>a</sup>	75.25 <sup>a</sup>	77.08 <sup>a</sup>		
19	66.69 <sup>a</sup>	66.59 <sup>a</sup>	68.42 <sup>a</sup>	19	58.39 <sup>a</sup>	58.51 <sup>a</sup>	60.00 <sup>b</sup>		
26	61.94 <sup>a</sup>	61.76 <sup>a</sup>	64.32 <sup>b</sup>	26	50.49 <sup>a</sup>	50.84 <sup>a</sup>	52.70 <sup>b</sup>		
33	56.23 <sup>a</sup>	56.52 <sup>a</sup>	59.10 <sup>b</sup>	33	43.75 <sup>a</sup>	44.29 <sup>a</sup>	46.44 <sup>b</sup>		
41	49.60 <sup>a</sup>	49.47 <sup>a</sup>	52.53 <sup>b</sup>	41	36.65 <sup>a</sup>	36.93 <sup>a</sup>	39.42 <sup>b</sup>		
49	44.41 <sup>a</sup>	44.24 <sup>a</sup>	47.32 <sup>b</sup>	49	31.15 <sup>a</sup>	31.26 <sup>a</sup>	33.41 <sup>b</sup>		
56	39.71 <sup>a</sup>	39.19 <sup>a</sup>	42.39 <sup>b</sup>	56	27.16 <sup>a</sup>	26.96 <sup>a</sup>	29.22 <sup>b</sup>		
63	31.62 <sup>a</sup>	31.28 <sup>a</sup>	34.18 <sup>b</sup>	63	21.60 <sup>a</sup>	21.69 <sup>a</sup>	23.61 <sup>b</sup>		
70	27.76 <sup>a</sup>	27.27 <sup>a</sup>	30.26 <sup>b</sup>	70	18.73 <sup>a</sup>	18.53 <sup>a</sup>	20.48 <sup>b</sup>		
78	27.66 <sup>a</sup>	26.62 <sup>a</sup>	30.05 <sup>b</sup>	78	18.03 <sup>a</sup>	17.48 <sup>a</sup>	19.75 <sup>b</sup>		
90	18.97 <sup>a</sup>	18.63 <sup>a</sup>	21.20 <sup>b</sup>	90	12.84 <sup>a</sup>	12.52 <sup>a</sup>	14.12 <sup>b</sup>		
98	17.68 <sup>a</sup>	17.00 <sup>b</sup>	19.65 <sup>c</sup>	98	12.05 <sup>a</sup>	11.56 <sup>b</sup>	13.32 <sup>c</sup>		

\* **Dp**: delphinidin. **Cy**: Cyanidin. **Pt**: Petunidin. **Pn**: Peonidin. **Mv**: Malvidin. **AC**: Model system added with tannin C. **AS**: Model system added with tannin S. **A**: Reference model system.

\*\* Different lower case letters within each file and for each anthocyanin indicate significant differences (n=6. p<0.05). n.d.: non-detected.

**Table S2.** Evolution of the percentage in relation to the initial content of the different anthocyanin 3-*O*-glucoside in the model systems prepared in the fermentative medium.

Percentage in relation to initial content*							
Dp 3-glc**				Cy 3-glc**			
Day	<i>ATCF</i>	<i>ATSF</i>	<i>AF</i>	Day	<i>ATCF</i>	<i>ATSF</i>	<i>AF</i>
0	100.00 <sup>a</sup>	100.00 <sup>a</sup>	100.00 <sup>a</sup>	0	100.00 <sup>a</sup>	100.00 <sup>a</sup>	100.00 <sup>a</sup>
5	67.70 <sup>a</sup>	65.27 <sup>a</sup>	63.09 <sup>a</sup>	5	79.51 <sup>a</sup>	79.16 <sup>a</sup>	80.98 <sup>a</sup>
8	40.57 <sup>a</sup>	39.56 <sup>a</sup>	34.83 <sup>b</sup>	8	66.33 <sup>a</sup>	66.53 <sup>a</sup>	66.60 <sup>a</sup>
11	32.40 <sup>a</sup>	30.89 <sup>a</sup>	26.55 <sup>b</sup>	11	60.98 <sup>a</sup>	60.44 <sup>a</sup>	60.36 <sup>a</sup>
19	8.66 <sup>a</sup>	8.03 <sup>a</sup>	5.37 <sup>b</sup>	19	39.67 <sup>a</sup>	39.24 <sup>a</sup>	38.51 <sup>b</sup>
26	2.43 <sup>a</sup>	2.32 <sup>a</sup>	1.25 <sup>b</sup>	26	28.87 <sup>a</sup>	28.36 <sup>a</sup>	26.61 <sup>b</sup>
33	0.86 <sup>a</sup>	0.81 <sup>a</sup>	0.47 <sup>b</sup>	33	21.69 <sup>a</sup>	21.20 <sup>a</sup>	19.59 <sup>b</sup>
41	0.31 <sup>a</sup>	0.29 <sup>a</sup>	0.19 <sup>b</sup>	41	15.21 <sup>a</sup>	14.33 <sup>a</sup>	13.01 <sup>b</sup>
49	0.16 <sup>a</sup>	0.16 <sup>a</sup>	n.d.	49	10.26 <sup>a</sup>	10.07 <sup>a</sup>	9.46 <sup>b</sup>
56	n.d.	n.d.	n.d.	56	7.35 <sup>a</sup>	7.32 <sup>a</sup>	6.22 <sup>b</sup>
63	n.d.	n.d.	n.d.	63	5.26 <sup>a</sup>	5.07 <sup>a</sup>	4.05 <sup>b</sup>
70	n.d.	n.d.	n.d.	70	3.86 <sup>a</sup>	3.71 <sup>a</sup>	2.83 <sup>b</sup>
78	n.d.	n.d.	n.d.	78	2.60 <sup>a</sup>	2.61 <sup>a</sup>	1.84 <sup>b</sup>
90	n.d.	n.d.	n.d.	90	1.53 <sup>a</sup>	1.45 <sup>a</sup>	1.02 <sup>b</sup>
98	n.d.	n.d.	n.d.	98	1.20 <sup>a</sup>	1.11 <sup>a</sup>	0.80 <sup>b</sup>
Day	Pt 3-glc**			Day	Pn 3-glc**		
0	100.00 <sup>a</sup>	100.00 <sup>a</sup>	100.00 <sup>a</sup>	0	100.00 <sup>a</sup>	100.00 <sup>a</sup>	100.00 <sup>a</sup>
5	76.11 <sup>a</sup>	74.19 <sup>a</sup>	74.98 <sup>a</sup>	5	83.28 <sup>a</sup>	82.79 <sup>a</sup>	86.11 <sup>a</sup>
8	55.52 <sup>a</sup>	55.47 <sup>a</sup>	53.50 <sup>a</sup>	8	72.73 <sup>a</sup>	72.56 <sup>a</sup>	74.90 <sup>a</sup>
11	49.54 <sup>a</sup>	48.03 <sup>a</sup>	45.97 <sup>b</sup>	11	67.99 <sup>a</sup>	67.39 <sup>a</sup>	69.66 <sup>a</sup>
19	23.56 <sup>a</sup>	22.71 <sup>a</sup>	19.79 <sup>b</sup>	19	49.64 <sup>a</sup>	49.03 <sup>a</sup>	50.83 <sup>a</sup>
26	10.07 <sup>a</sup>	9.53 <sup>a</sup>	6.54 <sup>b</sup>	26	39.54 <sup>a</sup>	38.52 <sup>a</sup>	39.29 <sup>a</sup>
33	4.72 <sup>a</sup>	4.37 <sup>a</sup>	2.55 <sup>b</sup>	33	31.59 <sup>a</sup>	30.71 <sup>a</sup>	31.25 <sup>a</sup>
41	1.67 <sup>a</sup>	1.59 <sup>a</sup>	0.74 <sup>b</sup>	41	24.37 <sup>a</sup>	23.25 <sup>a</sup>	23.73 <sup>a</sup>
49	0.66 <sup>a</sup>	0.69 <sup>a</sup>	0.35 <sup>b</sup>	49	19.56 <sup>a</sup>	18.53 <sup>b</sup>	19.40 <sup>a</sup>
56	0.27 <sup>a</sup>	0.30 <sup>a</sup>	0.16 <sup>b</sup>	56	15.29 <sup>a</sup>	14.30 <sup>b</sup>	14.40 <sup>b</sup>
63	n.d.	n.d.	n.d.	63	11.26 <sup>a</sup>	10.36 <sup>b</sup>	10.44 <sup>b</sup>
70	n.d.	n.d.	n.d.	70	8.86 <sup>a</sup>	8.04 <sup>b</sup>	8.18 <sup>b</sup>
78	n.d.	n.d.	n.d.	78	6.97 <sup>a</sup>	6.14 <sup>b</sup>	6.23 <sup>b</sup>
90	n.d.	n.d.	n.d.	90	4.67 <sup>a</sup>	4.09 <sup>b</sup>	4.07 <sup>b</sup>
98	n.d.	n.d.	n.d.	98	3.71 <sup>a</sup>	3.21 <sup>b</sup>	3.17 <sup>b</sup>
Day	Mv 3-glc*			Day	Total anthocyanin 3-glc**		
0	100.00 <sup>a</sup>	100.00 <sup>a</sup>	100.00 <sup>a</sup>	0	100.00 <sup>a</sup>	100.00 <sup>a</sup>	100.00 <sup>a</sup>
5	80.81 <sup>a</sup>	79.82 <sup>a</sup>	83.21 <sup>a</sup>	5	78.06 <sup>a</sup>	76.77 <sup>a</sup>	78.63 <sup>a</sup>
8	70.04 <sup>a</sup>	69.70 <sup>a</sup>	72.24 <sup>a</sup>	8	62.63 <sup>a</sup>	62.27 <sup>a</sup>	62.58 <sup>a</sup>
11	64.61 <sup>a</sup>	63.99 <sup>a</sup>	66.48 <sup>a</sup>	11	56.74 <sup>a</sup>	55.82 <sup>a</sup>	56.14 <sup>a</sup>
19	44.63 <sup>a</sup>	43.97 <sup>a</sup>	46.36 <sup>a</sup>	19	35.31 <sup>a</sup>	34.63 <sup>a</sup>	34.95 <sup>a</sup>
26	35.65 <sup>a</sup>	34.65 <sup>a</sup>	35.60 <sup>a</sup>	26	25.77 <sup>a</sup>	25.31 <sup>a</sup>	24.76 <sup>b</sup>
33	28.08 <sup>a</sup>	27.89 <sup>a</sup>	27.92 <sup>a</sup>	33	19.60 <sup>a</sup>	19.36 <sup>a</sup>	18.90 <sup>b</sup>
41	21.15 <sup>a</sup>	21.00 <sup>a</sup>	20.76 <sup>a</sup>	41	14.43 <sup>a</sup>	14.26 <sup>a</sup>	13.84 <sup>b</sup>
49	16.70 <sup>a</sup>	15.84 <sup>a</sup>	16.91 <sup>a</sup>	49	11.24 <sup>a</sup>	11.17 <sup>a</sup>	11.16 <sup>a</sup>
56	12.77 <sup>a</sup>	12.44 <sup>a</sup>	11.81 <sup>b</sup>	56	8.57 <sup>a</sup>	8.43 <sup>a</sup>	8.04 <sup>b</sup>
63	9.16 <sup>a</sup>	9.20 <sup>a</sup>	8.35 <sup>b</sup>	63	6.17 <sup>a</sup>	6.01 <sup>a</sup>	5.61 <sup>b</sup>
70	6.97 <sup>a</sup>	6.78 <sup>a</sup>	6.35 <sup>b</sup>	70	4.74 <sup>a</sup>	4.63 <sup>a</sup>	4.29 <sup>b</sup>
78	5.47 <sup>a</sup>	5.30 <sup>a</sup>	4.72 <sup>b</sup>	78	3.70 <sup>a</sup>	3.56 <sup>a</sup>	3.20 <sup>b</sup>
90	3.28 <sup>a</sup>	3.00 <sup>a</sup>	2.76 <sup>b</sup>	90	2.31 <sup>a</sup>	2.23 <sup>a</sup>	1.95 <sup>b</sup>
98	2.56 <sup>a</sup>	2.37 <sup>a</sup>	2.14 <sup>b</sup>	98	1.81 <sup>a</sup>	1.79 <sup>a</sup>	1.01 <sup>b</sup>

\* **Dp:** delphinidin. **Cy:** Cyanidin. **Pt:** Petunidin. **Pn:** Peonidin. **Mv:** Malvidin. *ACF:* Model system added with tannin *C*. *ASF:* Model system added with tannin *S*. *AF:* Reference model system.

\*\* Different lower case letters within each file and for each anthocyanin indicate significant differences (n=6. p<0.05). n.d.: non-detected.