



**UNIVERSIDAD DE VALLADOLID**

**INSTITUTO UNIVERSITARIO DE INVESTIGACIÓN Y GESTIÓN  
FORESTAL SOSTENIBLE**

**Estudio del potencial enológico de los  
productos de madera de rebollo (*Quercus  
pyrenaica* Willd.) autóctono de Castilla y  
León para la producción de vinos de calidad**

**LAURA GALLEGO ÁLVAREZ**

Palencia 2013





---

## **Universidad de Valladolid**

**ESCUELA TECNICA SUPERIOR DE INGENIERÍAS AGRARIAS**

**INSTITUTO UNIVERSITARIO DE INVESTIGACIÓN Y GESTIÓN  
FORESTAL SOSTENIBLE**

Tesis Doctoral

# **Estudio del potencial enológico de los productos de madera de rebollo (*Quercus pyrenaica* Willd.) autóctono de Castilla y León para la producción de vinos de calidad**

Presentada por Laura Gallego Álvarez para optar al grado de doctora por la  
Universidad de Valladolid

Dirigida por

Dra. María del Álamo Sanza

Dr. Ignacio Nevares Domínguez

Palencia, 2013



Este trabajo se enmarca dentro de la línea de investigación centrada en el estudio del potencial enológico de los productos de madera de rebollo (*Quercus pyrenaica Willd.*) autóctono de Castilla y León para la producción de vinos de calidad, financiada por el Programa General de Apoyo a Proyectos de Investigación (Referencia VA030A60) y por el CESEFOR pertenecientes a la Junta de Castilla y León.

La autora de esta memoria ha disfrutado de una beca de la Universidad de Valladolid cofinanciada por el BSCH para la realización de la Tesis Doctoral.



*A mis padres*

*A Sergio*

*A mi pequeño Nicolás*



# Índice



## ÍNDICE

Presentación y justificación .....	1
Acrónimos.....	3
<u>CAPÍTULO 1-</u> Posicionamiento del roble <i>Quercus pyrenaica</i> Willd. frente a otros robles en tonelería.	
Resumen .....	11
1- Introducción .....	11
1.1-El roble en el envejecimiento de vinos .....	11
1.1.1. Propiedades de la madera de roble .....	12
1.1.2. Procesado de la madera en tonelería .....	14
1.1.3. Los compuestos de la madera .....	16
1.1.3.1. Compuestos fenólicos procedentes de la madera de roble .....	16
1.1.3.2. Sustancias volátiles procedentes de la madera de roble .....	20
1.2-El roble <i>Quercus pyrenaica</i> Willd.....	23
1.2.1. El rebollo de Castilla y León .....	23
1.2.2. El rebollo para el envejecimiento de vinos en barricas.....	25
1.3-Productos alternativos a las barricas.....	27
1.3.1. Descripción y fabricación de los productos alternativos a las barricas.....	27
1.3.2. Situación legal de los productos alternativos a las barricas .....	29
1.3.3. Composición de los productos alternativos a las barricas .....	31
1.3.4. Envejecimiento de vinos con productos alternativos a las barricas .....	36
1.4-La micro-oxigenación durante el envejecimiento de vinos.....	44
1.4.1. Técnica de la micro-oxigenación.....	47
1.4.2. Efectos de la micro-oxigenación durante el envejecimiento de vinos.....	50
1.5-Los compuestos fenólicos del vino.....	55
1.5.1. Compuestos fenólicos no flavonoideos.....	56
1.5.1.1. Ácidos fenólicos.....	56
1.5.1.2. Estilbenos.....	56
1.5.2. Compuestos fenólicos flavonoideos .....	57
1.5.2.1. Flavonoles .....	57
1.5.2.2. Flavonoles y flavonas.....	57
1.5.2.3. Antocianos .....	58
1.5.2.4. Flavanoles .....	58
1.6-Evolución de los compuestos fenólicos durante la crianza.....	59
1.6.1. Degradación de los antocianos .....	59

1.6.2. Polimerización de los flavanoles.....	59
1.6.3. Reacciones de complejación de la procianidinas.....	60
1.6.4. Combinaciones entre antocianos y flavanoles .....	60
1.6.5. Formación de nuevos pigmentos.....	61
1.7-Estudio del envejecimiento de vinos con diferentes maderas.....	62
1.8-Crianza en botella.....	68
2- Objetivos .....	75
3- Materiales y métodos .....	77
3.1- Vino.....	77
3.2- Preparación de la madera .....	77
3.3- Micro-oxigenación en los depósitos .....	77
3.4- Diseño del experimento.....	78
3.5- Muestreos de los vinos envejecidos .....	80
3.6- Métodos de análisis.....	80
3.6.1. Determinación de los parámetros básicos .....	80
3.6.2. Análisis de familias de compuestos fenólicos e índices .....	81
3.6.2.1. Determinación de polifenoles totales.....	81
3.6.2.2. Determinación de polifenoles poco polimerizados.....	82
3.6.2.3. Determinación de polifenoles muy polimerizados .....	83
3.6.2.4. Determinación de antocianos totales .....	83
3.6.2.5. Determinación del índice de ionización.....	84
3.6.2.6. Determinación de taninos condensados o proantocianidinas .....	85
3.6.2.7. Determinación del índice de etanol .....	86
3.6.2.8. Determinación del índice de gelatina.....	87
3.6.2.9. Determinación de catequinas .....	88
3.6.3. Determinación de la edad química del vino .....	89
3.6.4. Determinación de los parámetros de copigmentación.....	90
3.6.5. Determinación de los parámetros cromáticos .....	92
3.6.5.1. Parámetros estándar .....	92
3.6.5.2. Coordenadas cromáticas .....	93
3.6.6. Determinación de los compuestos de bajo peso molecular mediante HPLC.....	94
3.6.6.1. Validación del método.....	95
3.6.6.2. Preparación de la muestra.....	96
3.6.6.3. Análisis HPLC y reactivos empleados.....	97
3.6.6.4. Condiciones de detección .....	98
3.6.6.5. Cuantificación.....	99
3.6.7. Determinación de antocianos pormenorizados mediante HPLC.....	101
3.6.7.1. Preparación de la muestra.....	102

3.6.7.2. Análisis HPLC y reactivos empleados.....	102
3.6.7.3. Condiciones de detección.....	103
3.6.7.4. Cuantificación.....	103
3.6.8. Equipamiento común empleado en las distintas determinaciones.....	104
3.7- Análisis sensorial del vino .....	105
3.8- Análisis estadístico.....	108
4- Resultados y discusión .....	109
4.1. Evolución del vino en madera y en botella .....	109
4.1.1. Estudio de la composición fenólica y sensorial de un vino tinto envejecido con astillas y tablones de roble español .....	109
4.1.1.1. Análisis de la varianza.....	109
4.1.1.2. Análisis discriminante.....	114
4.1.1.3. Análisis sensorial .....	117
4.1.2. Efecto del origen y tamaño del producto alternativo en la gestión del oxígeno durante el envejecimiento .....	123
4.1.2.1. Estrategia de micro-oxigenación y evolución del consumo de oxígeno en los vinos.....	124
4.1.2.2. Correlaciones entre los compuestos del vino y el oxígeno consumido.....	126
4.1.3. Compuestos fenólicos no volátiles de bajo peso molecular .....	132
4.2. Análisis discriminante .....	148
5- Conclusiones.....	153
Anejo I.....	157
6- Bibliografía .....	163
Lista de tablas.....	173
Lista de figuras .....	175

CAPÍTULO 2- Efecto del secado y del tostado de los productos alternativos fabricados con *Quercus pyrenaica* Willd. en las propiedades de los vinos envejecidos.

Resumen .....	181
1- Introducción .....	181
1.1-El secado de la madera de roble para la fabricación de productos alternativos a las barricas de roble.....	182
1.1.1. Secado tradicional.....	183
1.1.2. Secado acelerado o artificial.....	185
1.2-El tostado de la madera de roble para la fabricación de productos alternativos a la barrica de roble.....	186
1.2.1. Tostado de astillas en tambor por convección .....	188
1.2.2. Tostado de tablones e insertos por convección .....	189
1.2.3. Factores que determinan el tostado industrial de productos alternativos.....	190

2-	Objetivos .....	195
3-	Materiales y métodos .....	197
3.1-	Vino.....	197
3.2-	Experimento con astillas.....	197
3.2.1.	Madera para la fabricación de las astillas .....	197
3.2.2.	Dosificación de las astillas .....	200
3.2.3.	Micro-oxigenación en depósitos con astillas.....	201
3.2.4.	Diseño del experimento con astillas .....	201
3.2.5.	Muestreos de los vinos envejecidos con astillas.....	203
3.3-	Experimento con tablones .....	203
3.3.1.	Madera para la fabricación de tablones.....	203
3.3.2.	Dosificación de los tablones .....	205
3.3.3.	Micro-oxigenación en los depósitos con tablones.....	206
3.3.4.	Diseño del experimento con tablones .....	206
3.3.5.	Muestreos de los vinos envejecidos con tablones.....	207
3.4-	Análisis de laboratorio .....	208
3.4.1.	Determinación de los parámetros básicos de vino.....	208
3.4.2.	Análisis de familias de compuestos fenólicos del vino.....	208
3.4.3.	Índices del vino .....	208
3.4.3.1.	Determinación del índice de HCl.....	208
3.4.4.	Determinación de la edad química del vino .....	209
3.4.5.	Determinación de los parámetros de copigmentación del vino.....	209
3.4.6.	Determinación de los parámetros cromáticos del vino .....	209
3.4.7.	Determinación de fenoles volátiles del vino procedentes de la madera mediante cromatografía de gases.....	210
3.4.7.1.	Preparación de la muestra.....	210
3.4.7.2.	Análisis mediante cromatografía de gases .....	210
3.4.7.3.	Condiciones de la detección y cuantificación .....	211
3.4.7.4.	Porcentaje de extracción .....	212
3.4.8.	Determinación de compuestos no volátiles de bajo peso molecular del vino mediante HPLC .....	213
3.4.9.	Determinación de los antocianos pormenorizados del vino mediante HPLC.....	214
3.4.10.	Análisis sensorial del vino.....	214
3.4.11.	Análisis estadístico .....	214
4-	Resultados y discusión .....	217
4.1.	Evolución del vino en madera y en botella .....	217
4.1.1.	Parámetros básicos del vino.....	217
4.1.2.	Familias de compuestos fenólicos, índices, edad química y parámetros de copigmentación en los vinos.....	228

---

4.1.3. Parámetros cromáticos del vino .....	253
4.1.4. Componentes volátiles procedentes de la madera de roble.....	266
4.1.5. Compuestos fenólicos no volátiles de bajo peso molecular.....	286
4.1.6. Compuestos fenólicos antocianos .....	300
4.1.7. Análisis sensorial del vino.....	318
4.1.7.1. Análisis sensorial de los vinos tintos envejecidos con astillas de roble <i>Quercus pyrenaica</i> Willd.....	318
4.1.7.2. Análisis sensorial de los vinos tintos envejecidos con tablonos de roble <i>Quercus pyrenaica</i> Willd.....	328
4.2. Análisis discriminante .....	334
5- Conclusiones.....	347
6- Bibliografía .....	351
Lista de tablas.....	355
Lista de figuras .....	357
Anejo II- Publicaciones .....	363



## **Presentación y justificación**



El envejecimiento de vinos de calidad en barricas de roble es una práctica tradicional en nuestro país, y en otros países de la Unión Europea con alta tradición vitivinícola. El envejecimiento en barricas mejora la calidad del vino, especialmente en sus características de aroma, gusto, color y cuerpo, pero su coste económico es elevado por la necesaria y constante inversión en barricas de roble y por el tiempo de inmovilización del vino elaborado, aspectos que repercuten en el precio final del vino. Esto ha hecho que técnicos de países con una menor tradición vitivinícola, los llamados “países del nuevo mundo vitivinícola” como USA, Chile, Argentina, Sudáfrica y Australia, diseñen métodos alternativos de envejecimiento, más baratos, que reproducen el proceso de envejecimiento oxidativo que tiene lugar en las barricas de roble. Estas prácticas no están permitidas ni por la legislación de la Unión Europea ni por las legislaciones nacionales de los estados miembros, pero sí son prácticas admitidas por la Oficina Internacional de la Vid y el Vino (OIV). Por lo tanto, el incremento en el empleo de estas técnicas de envejecimiento alternativo y la presencia en el mercado de vinos del Nuevo Mundo y del Viejo Mundo, producidos de diferente forma y por ello con distinto precio, obliga a regular la información en la botella para que el consumidor tenga conocimiento del sistema de envejecimiento alternativo o tradicional utilizado.

El roble produce la madera que posee las mejores características físicas y químicas necesarias para la fabricación de barricas, aunque se han estudiado y empleado otras maderas, el roble sigue siendo la más utilizada. Las especies de roble usadas en la industria de la tonelería, pertenecen en su mayoría al grupo de robles blancos, y son *Quercus robur* L. y *Q. petraea* Liebl. procedentes de los bosques de Francia, y *Q. alba* L. de la costa este de los Estados Unidos. Se seleccionan árboles de fuste recto, con diámetro de al menos 35-50 cm, sin nudos, heridas, pudriciones o coloraciones anormales. Los estudios de los últimos años del equipo de investigación del CIFOR-INIA, han puesto de manifiesto que la madera de *Q. pyrenaica*, autóctono de la península Ibérica, tiene una composición química, tanto de polifenoles de bajo peso molecular, como de taninos y componentes volátiles, similar a la de las especies *Q. robur* y *Q. petraea*, tanto en verde como a lo largo de los procesos de secado al aire libre durante tres años y tostado de intensidad media. Sus propiedades estructurales como malla (clasificada como de grano fino), densidad o permeabilidad han sido también idóneas para la fabricación de barricas. Las características sensoriales y químicas (polifenoles y volátiles relacionados con la madera) del vino envejecido en barricas fabricadas con la madera de dicha especie han resultado también en la línea del procedente de la crianza en barricas de *Q. robur* y *Q. petraea*, tanto al finalizar la crianza oxidativa como el envejecimiento en botella.

En España, la masa forestal arbolada de *Q. pyrenaica* se evalúa en 1.090.716 Ha (según el último Inventario Forestal de Castilla y León, 2002), albergando Castilla y León el 50% de los árboles inventariados en España. Además la mayor superficie forestal de roble disponible en Castilla y León es de *Q. pyrenaica*, casi el triple que la correspondiente al conjunto de *Q. robur* y *Q. petraea*. Muchas de estas masas forestales de *Q. pyrenaica* no tienen ningún tipo de tratamiento silvícola por haber desaparecido el aprovechamiento tradicional de su madera para leña, traviesas de tren, barcos, etc. Esto ha llevado a una degradación progresiva de las masas forestales, que presentan un alto porcentaje de los pies con diámetros inferiores a 40 cm, árboles con gran número de nudos, heridas y otro tipo de defectos, lo que reduce notablemente su rendimiento final en madera de calidad, y hace inviable su uso para obtención de madera con rentabilidad a corto plazo. El incremento de las labores selvícolas en

estas masas forestales permitiría, a largo plazo obtener madera de calidad para duelas, y a corto plazo madera para la fabricación de productos alternativos a la barrica.

Conjugando estas características surge la idea de estudiar la valoración enológica de la madera de *Quercus pyrenaica* Willd. para el tratamiento de vinos como una alternativa al envejecimiento tradicional de vinos con las barricas de roble empleadas tradicionalmente. En esta memoria se presentan los resultados obtenidos del envejecimiento de vinos tintos con diferentes productos alternativos a la barrica de roble, todos ellos fabricados con madera *Quercus pyrenaica* de Castilla y León. En todos los casos el envejecimiento se ha realizado en depósitos de acero inoxidable a los que además de añadir cantidades conocidas de madera, se han adicionado pequeñas cantidades controladas de oxígeno. El primer capítulo recoge la evaluación de la viabilidad enológica de estos productos, y para ello se ha realizado la caracterización de los vinos envejecidos con productos alternativos de madera de rebollo (*Quercus pyrenaica* Willd.) autóctono de Castilla y León, comparándolo con los productos de roble americano y francés más comúnmente utilizados en bodega. Los productos alternativos a la barrica de esta madera permiten elaborar vinos con características especiales de diferenciación frente a otros vinos, y su presencia en el mercado ampliará la oferta de estos productos enológicos tan demandados por algunos países. Este aspecto ya ha sido puesto en marcha por algunas casas comerciales en España, que a día de hoy venden astillas de roble *Quercus pyrenaica* español, aunque el origen de estos productos es cuestionado por algunos técnicos. El segundo capítulo presenta los resultados obtenidos del estudio del efecto de los tratamientos realizados a la madera en tonelería (tostado y secado) para la fabricación de alternativos. Se ha evaluado la influencia de diferentes tipos de secado así como distintos niveles de tostado sobre las características del vino tinto envejecido. En todos los casos se ha analizado la evolución del vino durante su contacto con la madera, así como su evolución posterior durante su permanencia en botella.

Esta investigación se ha podido desarrollar gracias al apoyo económico del CESEFOR y de la Junta de Castilla y León (VA030A60), así como a la colaboración de las Dras. Estrella Cadahía y Brígida Fernández de Simón del CIFOR-INIA, y a la participación de los técnicos del CESEFOR Iñigo Lizarralde y Miguel Broto, a todos ellos expresamos nuestro más sincero agradecimiento.

Además agradecer a la tonelería Intona, la Unidad de Maderas de la E.T.S. de Ingenierías Agrarias de Palencia y al comité de cata por facilitar y contribuir al desarrollo de las experiencias de la presente Tesis Doctoral.

## Acrónimos

- $\alpha$ : Porcentaje de antocianos que se encuentran como ion flavilium
- $\alpha\alpha$ : Porcentaje de antocianos que se encuentran como ion flavilium después de suprimir el efecto decolorante del SO<sub>2</sub>
- Furfural: 2-furfuraldehído
- 5MF: 5 metil furfural
- 5HMF: 5 hidroximetil furfural
- a\*: Componente rojo-verde
- AA: Astillas de roble americano
- Abs: Absorbancia
- Ác.: Ácido
- Ac. Tot.: Acidez total
- Ac. Vol.: Acidez volátil
- AE: Astillas de roble español
- AF: Astillas de roble francés
- AL: Fracción de color debida a los antocianos libres
- Ald.: Aldehído
- ANOVA: Análisis de varianza
- Ant: Antocianos totales
- Ast.: Astillas
- AT: Tablones de roble americano
- Azúc.: Azúcares reductores
- A420%: Componente amarilla
- A520%: Componente roja
- A620%: Componente azul
- b\*: Componente amarillo-azul
- C\*: Croma
- C: Color debido a los antocianos copigmentados
- CAT: Catequinas
- CESEFOR: Centro de Servicios y Promoción Forestal y de su industria de Castilla y León
- Ci-3-gl: Cianidín 3 *o*-glucósido
- Ci-3-gl-Cm: Cianidín 3 *o*- cumarilglucósido
- CIFOR: Centro de investigación forestal
- COP: Fracción de color debida a la copigmentación
- GC: Cromatografía de gases
- %dA: Aspecto del color
- DAD: Detector de fotodiodos alienados
- Densidad: Densidad relativa
- Df-3-gl: Delfinidín 3 *o*-glucósido
- Df-3-gl- Cm: Delfinidín 3 *o*- cumarilglucósido
- EECyL: Estación Enológica de Castilla y León
- Ep: Color debido al pigmento polimérico
- EtIn: Índice de etanol
- ETSIIAA: Escuela Técnica Superior de Ingenierías Agrarias
- Ex. Seco: extraccto seco
- FA: Fermentación alcohólica
- FC: Estimación del contenido de cofactores flavonoles

- FML: Fermentación maloláctica
- FMOX: Micro-oxigenación flotante
- Gln: Índice de gelatina
- Glicer.: Glicerina
- Grado: Grado alcohólico probable
- H\*: Tono
- ha: Hectáreas
- HAP: hidrocarburos aromáticos policíclicos
- HPLC: Cromatografía líquida de alta eficacia
- i: Relación de los pigmentos poliméricos con respecto a los antocianos del vino
- ii: Relación de los pigmentos poliméricos con respecto a los antocianos del vino en forma de ion flavilium
- i/ii: Relación de los antocianos del vino en forma de ion flavilium con respecto a los antocianos del vino
- I.Aromática: Intensidad aromática
- IC: Intensidad colorante
- IIn: Índice de ionización
- INIA: Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria
- IPT: Índice de polifenoles totales
- I. Tánica: Intesidad tánica
- K: Potasio
- L\*: Claridad
- LC: Límite de cuantificación
- LD: Límite de detección
- LSD: Least Significant Difference
- MH<sub>2</sub>: Ácido málico
- Mv-3-gl: Malvidín 3 *o*-glucósido
- Mv-3-gl-Ac: Malvidín 3 *o*-acetilglucósido
- Mv-3-gl- etil-epica: Malvidín 3 *o*-glucósido etil epicatequina
- Mv-3-gl- Cm Cis: Malvidín 3 *o*- cumarilglucósido isómero Cis
- Mv-3-gl- Cm Trans: Malvidín 3 *o*- cumarilglucósido isómero Trans
- MOX: Micro-oxigenación
- Pe-3-gl: Peonidín 3 *o*-glucósido
- Pe-3-gl-Ac: Peonidín 3 *o*-acetilglucósido
- Qba: Qualitätswein bestimmter Anbaugebiete
- OIV: Oficina Internacional de la Vid y el Vino
- PAB: Productos alternativos a las barricas
- PCA: Análisis de componentes principales
- PMP: Polifenoles muy polimerizados
- PP: Fracción de color debida al pigmento polimérico
- ppb: Partes por billón
- ppm: Partes por millón
- PPP: polifenoles poco polimerizados
- Q.: *Quercus*
- rpm: revoluciones por minuto
- PT: Polifenoles totales
- Pt-3-gl: Petunidín 3 *o*-glucósido
- Pt-3-gl-Cm: Petunidín 3 *o*- cumarilglucósido

- SCum.: Suma derivados cumarilados
- S.D.: Desviación estándar
- SO<sub>2</sub>L: Sulfuroso libre
- SO<sub>2</sub>T: Sulfuroso total
- T: Tonalidad
- Tabl.: Tablones
- TA: Color debido a los antocianos libres
- TAN: Taninos
- Tan. redondo: Tanino redondo
- Tan. seco: Tanino seco
- Tan. verde: Tanino verde
- TCO: Consumo total de oxígeno
- TE: Tablones de roble francés
- TF: Tablones de roble francés
- TH<sub>2</sub>: Ácido tartárico
- TP: Estimación del contenido de fenoles totales
- Tr: Tiempo de retención
- Valor. Global: Valoración global
- W-lactonas: β-metil- γ octolactona



**Capítulo 1- Posicionamiento del roble  
*Quercus pyrenaica* Willd. frente a otros  
robles empleados en tonelería**



**CAPÍTULO 1-** Posicionamiento del roble *Quercus pyrenaica* Willd. frente a otros robles en tonelería.

Resumen .....	11
1- Introducción .....	11
1.1-El roble en el envejecimiento de vinos .....	11
1.1.1. Propiedades de la madera de roble .....	12
1.1.2. Procesado de la madera en tonelería .....	14
1.1.3. Los compuestos de la madera .....	16
1.1.3.1. Compuestos fenólicos procedentes de la madera de roble .....	16
1.1.3.2. Sustancias volátiles procedentes de la madera de roble .....	20
1.2-El roble <i>Quercus pyrenaica</i> Willd.....	23
1.2.1. El rebollo de Castilla y León .....	23
1.2.2. El rebollo para el envejecimiento de vinos en barricas.....	25
1.3-Productos alternativos a las barricas.....	27
1.3.1. Descripción y fabricación de los productos alternativos a las barricas.....	27
1.3.2. Situación legal de los productos alternativos a las barricas .....	29
1.3.3. Composición de los productos alternativos a las barricas .....	31
1.3.4. Envejecimiento de vinos con productos alternativos a las barricas .....	36
1.4-La micro-oxigenación durante el envejecimiento de vinos.....	44
1.4.1. Técnica de la micro-oxigenación.....	47
1.4.2. Efectos de la micro-oxigenación durante el envejecimiento de vinos.....	50
1.5-Los compuestos fenólicos del vino.....	55
1.5.1. Compuestos fenólicos no flavonoideos.....	56
1.5.1.1. Ácidos fenólicos.....	56
1.5.1.2. Estilbenos.....	56
1.5.2. Compuestos fenólicos flavonoideos .....	57
1.5.2.1. Flavonoles .....	57
1.5.2.2. Flavononoles y flavonas.....	57
1.5.2.3. Antocianos .....	58
1.5.2.4. Flavanoles .....	58
1.6-Evolución de los compuestos fenólicos durante la crianza.....	59
1.6.1. Degradación de los antocianos .....	59
1.6.2. Polimerización de los flavanoles.....	59
1.6.3. Reacciones de complejación de la procianidinas.....	60
1.6.4. Combinaciones entre antocianos y flavanoles .....	60
1.6.5. Formación de nuevos pigmentos.....	61
1.7-Estudio del envejecimiento de vinos con diferentes maderas.....	62

---

1.8-Crianza en botella.....	68
2- Objetivos .....	75
3- Materiales y métodos .....	77
3.1- Vino.....	77
3.2- Preparación de la madera .....	77
3.3- Micro-oxigenación en los depósitos .....	77
3.4- Diseño del experimento.....	78
3.5- Muestreos de los vinos envejecidos .....	80
3.6- Métodos de análisis.....	80
3.6.1. Determinación de los parámetros básicos .....	80
3.6.2. Análisis de familias de compuestos fenólicos e índices .....	81
3.6.2.1. Determinación de polifenoles totales.....	81
3.6.2.2. Determinación de polifenoles poco polimerizados.....	82
3.6.2.3. Determinación de polifenoles muy polimerizados .....	83
3.6.2.4. Determinación de antocianos totales .....	83
3.6.2.5. Determinación del índice de ionización.....	84
3.6.2.6. Determinación de taninos condensados o proantocianidinas .....	85
3.6.2.7. Determinación del índice de etanol .....	86
3.6.2.8. Determinación del índice de gelatina.....	87
3.6.2.9. Determinación de catequinas .....	88
3.6.3. Determinación de la edad química del vino .....	89
3.6.4. Determinación de los parámetros de copigmentación.....	90
3.6.5. Determinación de los parámetros cromáticos .....	92
3.6.5.1. Parámetros estándar .....	92
3.6.5.2. Coordenadas cromáticas .....	93
3.6.6. Determinación de los compuestos de bajo peso molecular mediante HPLC.....	94
3.6.6.1. Validación del método.....	95
3.6.6.2. Preparación de la muestra.....	96
3.6.6.3. Análisis HPLC y reactivos empleados.....	97
3.6.6.4. Condiciones de detección .....	98
3.6.6.5. Cuantificación.....	99
3.6.7. Determinación de antocianos pormenorizados mediante HPLC.....	101
3.6.7.1. Preparación de la muestra.....	102
3.6.7.2. Análisis HPLC y reactivos empleados.....	102
3.6.7.3. Condiciones de detección .....	103
3.6.7.4. Cuantificación.....	103

---

3.6.8. Equipamiento común empleado en las distintas determinaciones.....	104
3.7- Análisis sensorial del vino .....	105
3.8- Análisis estadístico.....	108
4- Resultados y discusión .....	109
4.1. Evolución del vino en madera y en botella .....	109
4.1.1. Estudio de la composición fenólica y sensorial de un vino tinto envejecido con astillas y tablonos de roble español .....	109
4.1.1.1. Análisis de la varianza.....	109
4.1.1.2. Análisis discriminante.....	114
4.1.1.3. Análisis sensorial .....	117
4.1.2. Efecto del origen y tamaño del producto alternativo en la gestión del oxígeno durante el envejecimiento .....	123
4.1.2.1. Estrategia de micro-oxigenación y evolución del consumo de oxígeno en los vinos.....	124
4.1.2.2. Correlaciones entre los compuestos del vino y el oxígeno consumido.....	126
4.1.3. Compuestos fenólicos no volátiles de bajo peso molecular .....	132
4.2. Análisis discriminante .....	148
5- Conclusiones.....	153
Anejo I.....	157
6- Bibliografía .....	163
Lista de tablas.....	173
Lista de figuras .....	175



## **Capítulo 1- Introducción**



## Resumen

Durante los últimos años la madera de *Quercus pyrenaica* Willd. ha sido estudiada por diferentes grupos de investigación en España y Portugal, destacando los trabajos realizados por las Dras. Cadahía y Fernández de Simón (CIFOR-INIA, España) para el envejecimiento de vinos. Los resultados muestran que esta madera presenta unas propiedades estructurales (grano, porosidad, densidad) aptas para la fabricación de barricas y unas características químicas muy similares a otros robles empleados tradicionalmente en tonelería. Considerando por lo tanto que la madera de *Quercus pyrenaica* Willd. es válida para el envejecimiento de vinos de calidad (Cadahía y col., 2008). Sin embargo, la escasez de madera apta para la fabricación de barricas hace pensar en la oportunidad de emplear esta madera para la fabricación de productos alternativos a las barricas (PAB).

Por ello, en este primer capítulo de la Tesis Doctoral se realiza un estudio del posicionamiento de esta madera frente a las más usadas en tonelería para la fabricación de alternativos. Se presenta el estudio de la evolución de un mismo vino envejecido con productos alternativos a las barricas (astillas y tablones) de roble americano (*Quercus alba*), francés (*Quercus petraea*) y español (*Quercus pyrenaica* Willd.), la madera ha sido sometida a un secado tradicional y un tostado medio realizado por la misma tonelería. Se han estudiado las características fenólicas y organolépticas de los vinos durante aproximadamente 2 años y medio, a lo largo de seis meses y medio de envejecimiento con la madera, y de 25 meses tras su embotellado.

## 1- Introducción

### 1.1. El roble en el envejecimiento de vinos

El tonel de madera constituye desde hace siglos un recipiente que puede emplearse para la vinificación, crianza, conservación de vinos y para su transporte. Fue utilizado para reemplazar los antiguos recipientes de barro usados para la conservación y transporte del vino. El tonel de madera empleado para conservación de los vinos se utilizó a partir del siglo I d.C., durante siglos su principal utilidad fue ser el medio de transporte de los vinos. Sin embargo, con el tiempo se observó que durante el transporte y almacenamiento de los vinos en toneles tenía lugar una mejora de las características sensoriales del vino, al conferir al vino cualidades que complementaban su sabor y aroma, incluso además se producía una estabilización de la materia colorante. Pero además se constató que a medida que el vino era consumido y por tanto el tonel se vaciaba, el vino adquiría notas acéticas, las cuales le hacían inadecuado para el consumo (Vivas, 2005; Zamora, 2003).

Es importante tener en cuenta que la madera es un material poroso, el cual permite una leve oxigenación, favoreciéndose los intercambios gaseosos entre el vino y la atmósfera. También permite la disolución de compuestos, algunos odorantes los cuales participan de la misma forma en las características organolépticas del vino. La intensidad de las reacciones que tienen lugar durante el almacenamiento de los vinos depende, en gran medida, del tiempo de permanencia del vino en la bodega (Vivas, 2005; Zamora, 2003).

En resumen, el vino en contacto con la madera experimenta profundas modificaciones, el aroma del vino se desarrolla, siendo más complejo ya que la madera cede al vino numerosas

sustancias específicas o formadas durante el proceso de tostado de la madera. Además, la madera al ser un material poroso permite experimentar al vino una serie de transformaciones que se conoce como oxidación controlada. Así pues el envejecimiento en barrica constituye la etapa que modifica radicalmente la composición y calidad de los vinos (Vivas, 2005).

### 1.1.1. Propiedades de la madera de roble

Diferentes maderas se han empleado para la fabricación de recipientes utilizados para el almacenamiento de alimentos, como las de castaño, acacia, roble, cerezo, fresno, eucalipto, pino, etc. (Hidalgo, 2003; Sanz y col., 2012; Alañon y col., 2013a-b).

Sin embargo, la madera empleada para la fabricación de barricas debe cumplir una serie de requisitos, como su impermeabilidad a los líquidos pero no a los gases, baja porosidad, densidad y tamaño del anillo adecuado, alta resistencia mecánica, facilidad de hendido y alta durabilidad. Además esta madera debe presentar las propiedades adecuadas para que comunique al vino una serie de aromas que lo enriquezcan positivamente.

Entre todos los tipos de madera empleados, la madera de roble presenta la mejor combinación de estas propiedades (Hidalgo, 2003):

- **Color:** Se debe a sustancias que la impregnan, variando según la especie, edad y condiciones de crecimiento. El color de la madera puede verse modificado con el tiempo debido a que contiene sustancias susceptibles de ser oxidadas en presencia de luz.
- **Estructura, textura y grano:** Dependen de la ordenación o distribución de los elementos anatómicos de la madera seca.
- **Densidad:** Es la cantidad de masa contenida en un determinado volumen de una sustancia.
- **Porosidad:** Es el volumen de huecos presentes en un volumen aparente unitario de la madera seca. La madera de roble es considerada como porosa, siendo bastante permeable en sentido longitudinal y poco en el sentido radial y tangencial.
- **Permeabilidad:** Es la capacidad que presenta un material de permitir ser atravesado por un fluido sin alterar su estructura interna. Va a depender de la posición de la madera, siendo superior la permeabilidad longitudinal que la transversal. Para la construcción de las barricas, la madera debe situarse de forma que la permeabilidad frente al vino sea nula, debiendo cortar las duelas en sentido radial.
- **Conductividad térmica:** Debido a su porosidad, la madera de roble no es considerada como un buen conductor térmico.
- **Propiedades mecánicas:** Presenta una elevada resistencia mecánica, lo que le permite resistir fuertes golpes, además presenta buena aptitud para el curvado, sin presentar fisuras o micro fisuras durante este proceso.

También es importante destacar la composición química de la madera de roble, ya que condiciona su calidad enológica debido a sus efectos sensoriales en los vinos envejecidos con ella. La madera de roble está formada principalmente por polímeros, celulosa (40-50%), hemicelulosa (20-35%) y lignina (25-35%), siendo compuestos que aportan a la madera características físicas y mecánicas, como resistencia a la tracción (celulosa) y a la compresión (lignina). Además presenta en un 4-10% de su peso seco compuestos extraíbles, localizados en

el duramen, siendo su naturaleza muy diversa (Cadahía y col., 2008). En los apartados 1.1.3.2, 1.5 y 1.6 del presente capítulo se explica más detalladamente los compuestos fenólicos y volátiles procedentes de la madera de roble.

El roble es una especie arbórea del género *Quercus*, de gran porte y lento crecimiento, se localiza en su mayoría en las regiones templadas, tropicales y subtropicales del hemisferio norte, a lo largo de Europa, América del Norte, América Central, sudeste de Asia, y algo en el norte de África y Sudamérica. Está formada por más de 600 especies, aunque sólo unas pocas cumplen los requisitos y son elegidas para la fabricación de barricas. Las especies de roble empleadas clásicamente en la industria tonelera, pertenecen al grupo de los robles blancos, y son *Quercus robur* L. y *Quercus petraea* Liebl. de Francia y Este de Europa, y *Quercus alba* L. de América (Fernández de Simón y col., 2007) (figuras 1 y 2).



Figura 1- Distribución de *Quercus petraea* Liebl. en Europa (fuente: Fernández de Simón y col., 2007)



Figura 2- Distribución de *Quercus robur* L. en Europa (fuente: Fernández de Simón y col., 2007)

El principal país productor de roble europeo es Francia, y ante la creciente demanda de barricas de roble francés (*Quercus petraea* Liebl.), se hace necesaria la búsqueda de nuevas fuentes de suministro para la realización de barricas. Durante los últimos años se están fabricando barricas con madera de Europa del Este ( Hungría, Rusia o Rumanía) y utilizando el roble español como una alternativa al roble francés. En España se explota *Quercus petraea* Liebl. y *Quercus robur* L., las cuales se localizan principalmente en el norte y noreste de la península, en general se encuentran en buen estado y se está realizando su aprovechamiento

forestal en muchas zonas. Además de estas dos especies, en España se encuentra el *Quercus pyrenaica* Willd, con una localización mayoritariamente en Castilla y León.

Hay una serie de factores que van a influir en la estructura y composición química de la madera de roble, como el origen botánico y geográfico y los tratamientos selvícolas del árbol, siendo también muy importantes los procesos a los que es sometida la madera para la fabricación de las barricas, como los procesos de hendidido, secado y tostado. Respecto a la especie, el roble americano tiene mayor densidad y resistencia, y menor porosidad y permeabilidad que el roble europeo (*Quercus robur* L., *Quercus pyrenaica* Willd., *Quercus frainetto* Ten, *Quercus petraea* Liebl.), de forma que estas características van a condicionar de forma importante su carácter mecánico. La composición química también es diferente según la especie de roble, de forma que el roble americano es más rico en sustancias volátiles y derivados de la degradación de la lignina, aunque es muy pobre en elagitaninos. Las condiciones edafoclimáticas y el origen geográfico también determinan las propiedades físicas y características químicas de la madera dentro de una misma especie botánica. Los tratamientos selvícolas también van a condicionar las características de la madera, de forma que los tratamientos que provocan cambios bruscos en la densidad de las poblaciones hacen que se produzca un crecimiento rápido de los anillos, lo que va a producir una separación de los anillos muy grande, lo que no es conveniente para su tratamiento en tonelería (Cadaña y col., 2008).

### 1.1.2. Procesado de la madera en tonelería

La elaboración de las barricas es un proceso laborioso, en el que se producen varias etapas: selección y corte de la madera, corte de la madera para la obtención de las duelas, secado de la madera, curvado y tostado de la barrica. Durante este proceso las propiedades físicas y químicas de la madera sufrirán una evolución, lo que condicionará su aptitud enológica (Hidalgo, 2003; Fernández de Simón y col., 2008).

- Selección de los árboles: Se emplean árboles derechos. La selección de la madera se realiza en dos tiempos, de septiembre a noviembre se realiza la selección de los árboles, marcándolos de forma adecuada. Y durante el periodo de noviembre a febrero se realiza la tala, coincidiendo con la parada de la savia en los árboles.
- Corte de la madera y obtención de las duelas en bruto: Se utiliza la parte baja del tronco en la zona libre de ramas y con un diámetro aproximado de 35 a 50 cm. Una vez cortados los árboles, se selecciona la madera según el aspecto exterior, eliminando aquella madera que presente coloraciones anormales, nudos, heridas o pudriciones. Los troncos son cortados en trozos de longitud algo superior al tamaño de las duelas, eliminando la corteza y albura, ya que sólo se emplea el duramen para la fabricación de barricas. Se pueden realizar dos tipos de corte de la madera: el aserrado o el hendidido. En el aserrado el corte se realiza paralelo a las fibras, lo que condiciona un mayor riesgo de fugas del vino de la barrica. En el corte hendidido la madera se fragmenta siguiendo los planos cuyas aristas son paralelas a los radios medulares. La elección entre un sistema y otro depende de los caracteres anatómicos de la madera. El corte que se da a la madera de los robles europeos es de tipo hendidido, al ser una

madera más porosa, de forma que se asegura su hermeticidad, aunque el principal inconveniente de este tipo de corte es su bajo rendimiento. Sin embargo el corte aserrado solo se emplea en la madera americana, debido a su gran densidad y baja porosidad y permeabilidad. Con el corte aserrado hay un mayor rendimiento de la madera, al existir un mayor aprovechamiento del tronco cortado, y obteniéndose por tanto un mayor número de duelas.

El grosor de las duelas suele estar entre 22 y 30 mm, a mayor espesor, la resistencia será mayor y habrá menores pérdidas por evaporación en las barricas.

En las figuras 3 y 4 se puede observar el corte de la madera de roble y un esquema de los tipos de corte de la madera.



Figura 3-Corte de la madera de roble (fuente: elaboración propia)

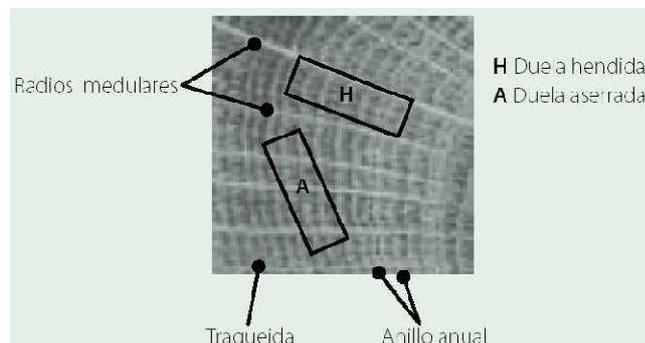


Figura 4- Esquema de cortes de la madera para la obtención de duelas (fuente: Fernández de Simón y col., 2007)

- **Secado de la madera:** Es una etapa clave en el procesado de las barricas, debido a que la madera fresca no puede utilizarse para la fabricación de las barricas. Con el secado de la madera se pasa de una humedad del 35-60% hasta un valor del 12-18%, y tiene lugar una cierta contracción de sus fibras, y una reducción de su volumen. Existen tres tipos de secado de la madera, tradicional o natural, acelerado o artificial y mixto (mezcla de los secados tradicional y acelerado). El secado tradicional se realiza apilando las duelas a la intemperie, quedando la madera expuesta a la acción de la lluvia, sol, frío, viento, etc. En el secado acelerado la madera recibe una corriente de aire caliente, reduciendo la humedad hasta los niveles deseados. El secado mixto consiste en alternar el secado tradicional y el acelerado. En el capítulo 2, apartado 1.1

se explican detalladamente los tipos de secados empleados en el procesado de los productos alternativos a las barricas.

- **Curvado y tostado de la madera:** Después de hacer una transformación de las duelas en forma de huso y curvadas en sentido transversal son seleccionadas y clasificadas. Las duelas son colocadas en forma de campana, siendo sujetadas por su parte superior por dos aros metálicos y a continuación se procede al domado, que consiste en dar la forma definitiva a la barrica, colocándose durante un tiempo en el interior de la barrica un brasero de llama viva. La humedad aplicada al interior de las duelas va facilitar el domado y evitar la formación de ampollas en la superficie de la cara interna de las duelas. La combinación de temperatura y humedad es necesaria para el curvado de las duelas. Una vez realizado el curvado de la barrica, se colocan otros dos aros de trabajo para conservar la forma deseada de la barrica y se someta a la barrica a un segundo calentamiento, que es el llamado tostado de la barrica. La fase del tostado es la etapa que tiene una mayor influencia en la composición química final de la madera, durante este proceso se va a fijar permanentemente la forma de la barrica, además de producirse la formación de nuevos compuestos aromáticos en función de la intensidad del tostado. En función de la duración del tostado, se pueden diferenciar tres tipos de tostado, ligero, medio y fuerte. Es importante tener en cuenta que cada tonelería dispone de unos criterios específicos, con su propio protocolo, de forma que la duración de esta etapa y la temperatura superficial alcanzada de la madera puede ser diferente. La figura 5 muestra el proceso de curvado y tostado de una barrica.

En el apartado 1.2 del capítulo 2 se estudia en profundidad el tostado de la madera de roble.



Figura 5- Procesos de curvado y tostado de las barricas (fuente: elaboración propia)

### 1.1.3. Los compuestos de la madera

La madera de roble enriquece el vino ya que le aporta aromas y compuestos fenólicos que interaccionan con los componentes del vino, mejorando su calidad organoléptica, aunque es importante tener en cuenta que el origen geográfico y la especie de la madera intervienen de forma importante en la cesión de compuestos de la madera al vino.

#### 1.1.3.1. *Compuestos fenólicos procedentes de la madera de roble*

En la tabla 1 se muestran los principales compuestos fenólicos no volátiles aportados al vino por la madera de roble, además se incluyen las apreciaciones gustativas de acidez, astringencia

y amargor, cuya escala va de 0 (inexistencia) a 5 (gran intensidad), según lo publicado por Zamora en el año 2003.

Tabla 1- Compuestos fenólicos procedentes de la madera de roble

Compuestos fenólicos		Acidez	Astringencia	Amargor
Ácidos fenólicos	Ácido gálico	3	1	0
	Ácido elágico	1	0	0
Taninos gálicos	Trigalil-glucosa	4	3	5
	Pentagalil-glucosa	5	3	5
Taninos elágicos	Castalagina	1	4	1
	Roburina D	1	5	1
Cumarinas	Escopoletina	3	0	2
	Aesculina	3	2	2
Flavanoles	(+)-catequina	1	3	2
	Dímero B <sub>3</sub>	1	5	2

- a) **Ácidos fenólicos.** La madera de roble aporta dos ácidos fenoles, el ácido gálico y su dímero, el ácido elágico. En relación a su contribución organoléptica, el ácido gálico va a aportar acidez al vino, mientras que al ácido elágico se le considera bastante neutro. Van a participar en la evolución del color de los vinos tintos al formar copigmentos y por su posible efecto protector de la oxidación de los antocianos (Zamora, 2003) (figura 6).

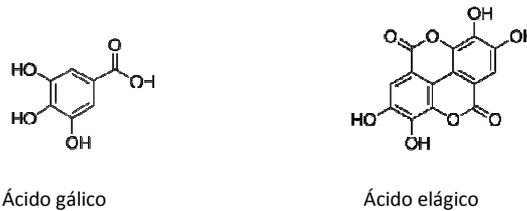


Figura 6- Estructura química de los ácidos gálico y elágico (fuente: www.sigma.com, fecha de consulta: enero 2012)

- b) **Taninos gálicos.** Están formados por una molécula de glucosa donde los grupos OH están esterificados total o parcialmente con moléculas de ácido gálico (figura 7), donde G son las moléculas de ácido gálico). Presentan sabor ácido, ligeramente astringente y muy amargo, aunque la madera de roble no contiene demasiados taninos gálicos por lo que su contribución sobre el sabor del vino final es mínimo. Su hidrólisis en medio ácido produce ácido gálico, siendo por tanto uno de los orígenes del ácido gálico de los vinos envejecidos en madera de roble. El contenido de ácido gálico del vino aumenta en torno a 50 mg/L debido a estas hidrólisis y al contenido de ácidos fenólicos de la madera.

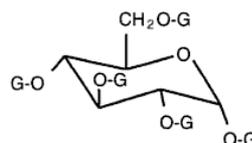


Figura 7- Estructura química taninos gálicos (fuente: Zamora, 2003)

- c) **Taninos elágicos.** Son compuestos muy abundantes en la madera de roble y muy importantes ya que contribuyen al sabor de los vinos. Presentan una estructura

química muy compleja. Participan principalmente en la astringencia del vino, aunque esta sensación desaparece al producirse su hidrólisis en medio ácido, dando lugar a la aparición del ácido elágico. La figura 8 muestra la estructura química de los taninos elágicos.

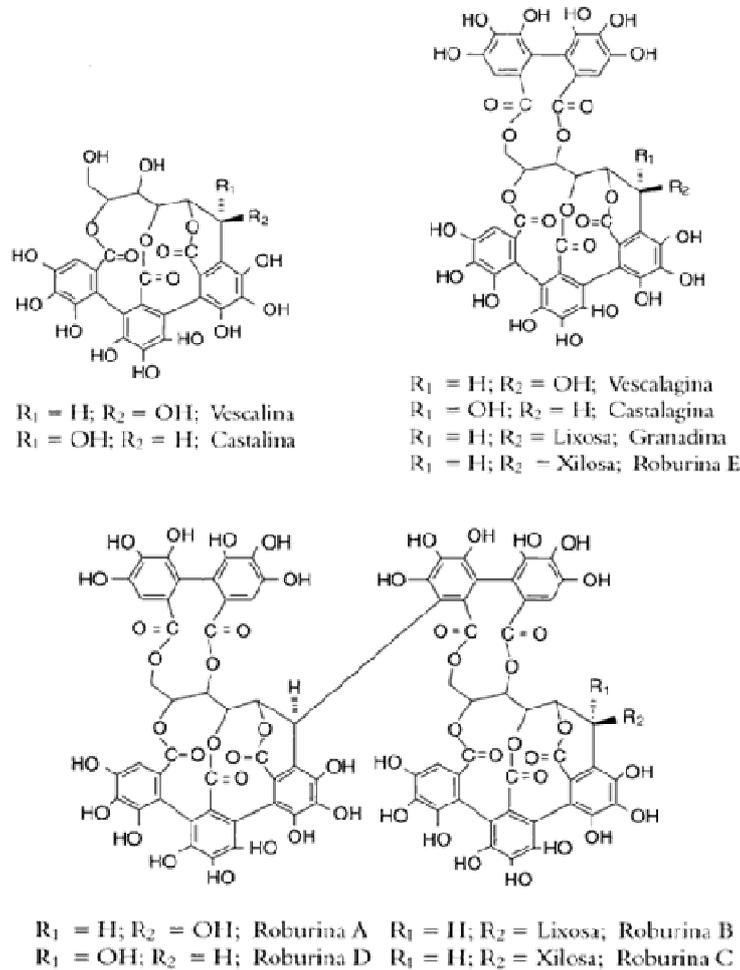


Figura 8- Estructura química de los taninos elágicos (fuente: Zamora, 2003)

- d) **Cumarinas.** Considerados como derivados de los ácidos cinámicos que se forman mediante esterificaciones intramoleculares. Su contenido en el vino depende de la naturaleza y del tipo de secado de la madera. Se pueden presentar disueltas en el vino bajo la forma heterosídica (escopolina, esculina) y bajo la forma de aglicona (escopoletina, esculetina). Su estructura química se muestra en la figura 9.

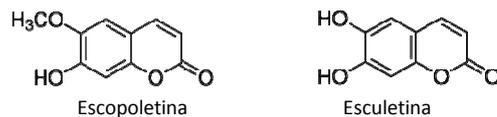


Figura 9- Estructura química de las cumarinas (fuente: www.sigma.com, fecha de consulta: enero 2012)

- e) **Flavanoles.** Compuestos responsables parcialmente del sabor amargo y la astringencia de los vinos. El vino joven presenta un elevado contenido de estos compuestos y por tanto la aportación por parte de la madera de roble es mínima. En la figura 10 se observa la estructura química de la catequina, epicatequina y procianidinas B1 y B2.

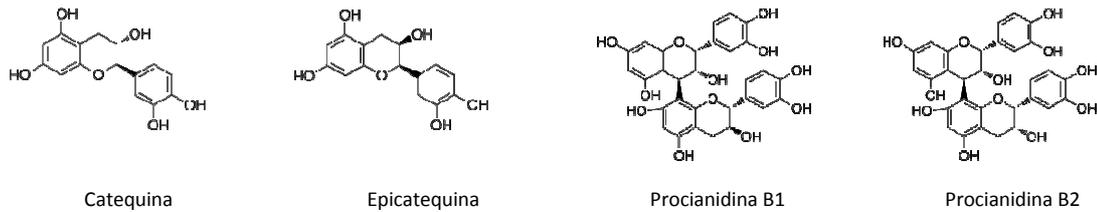


Figura 10- Estructura química de los flavanoles (fuente: www.sigma.com, fecha de consulta: enero 2012)

Durante el envejecimiento se producen reacciones entre aldehídos (acetaldehído, benzaldehído, furfural, 5HMF) y flavanoles como catequinas o antocianos, dando lugar a compuestos como aductos de catequinas alquilantocianos o aductos de catequinas (Es-Safi y *col.*, 1999, 2002a, 2002b). Además los compuestos de la madera también reaccionan con compuestos flavonoideos generándose unos nuevos pigmentos como los siringilcatequinapirilium, sinapaldehído o siringalcatequinapirilium y coniferaldehído o guayacilcatequinapirilium (Sousa y *col.*, 2005; Pissarra y *col.*, 2003).

Se debe tener en cuenta que la dosificación de pequeñas cantidades de oxígeno al vino, hace que los componentes de la madera interactúen con esas pequeñas cantidades generando nuevos compuestos llamados "oaklinks". Son pigmentos en los que participan diferentes compuestos como catequina y aldehídos de la madera (Sousa y *col.*, 2005) (figura 11).

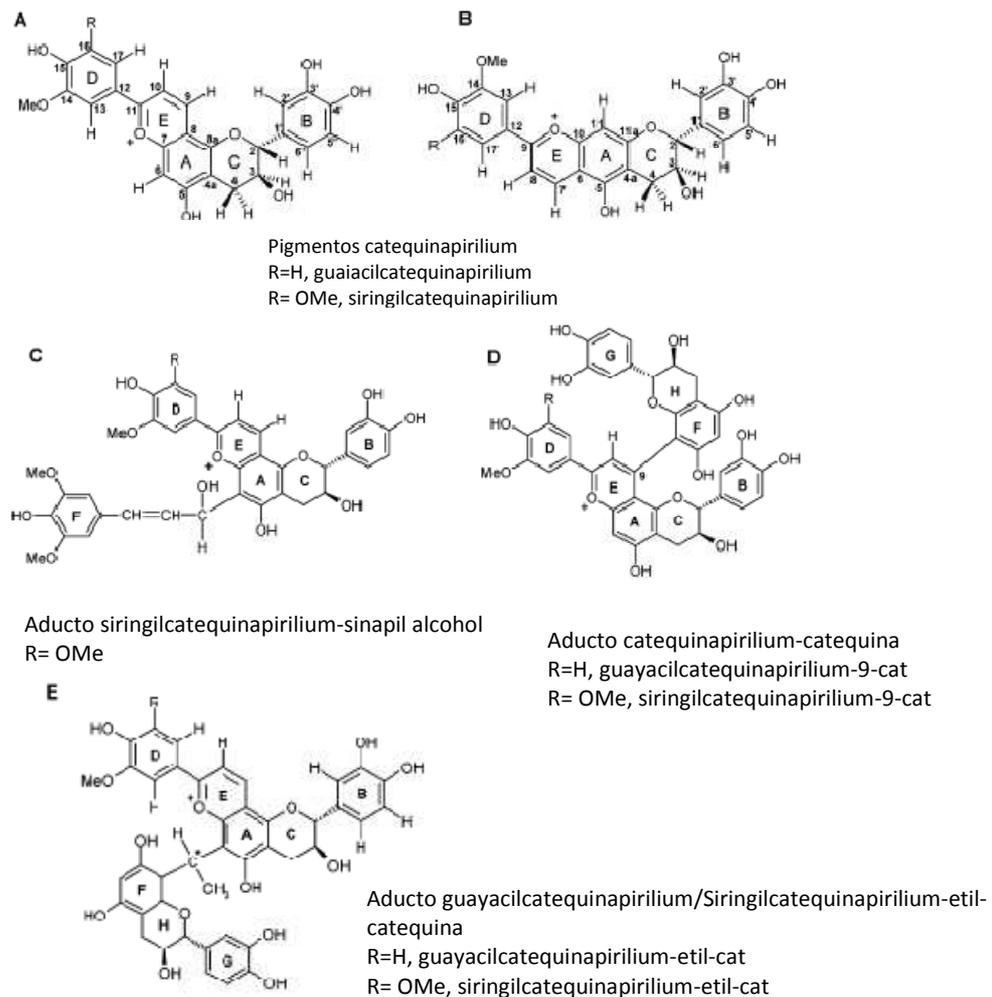


Figura 11- Estructura de los pigmentos catequinapirilium resultantes de la reacción entre catequina y coniferaldehído (R=H, guayacilcatequinapirilium) o sinapaldehído (R=OMe, siringilcatequinapirilium) (Fuente: Sousa y *col.*, 2005)

### 1.1.3.2. Sustancias volátiles procedentes de la madera de roble

El envejecimiento en madera de roble aporta a los vinos además de los compuestos fenólicos mencionados, sustancias volátiles que pueden ser liberadas directamente al vino y otras formadas durante el procesado de la madera (el secado y el tostado de la madera). En la tabla 2 se muestran las diferentes sustancias volátiles procedentes de la madera de roble, su descriptor aromático y su origen (Zamora, 2003; Fernández de Simón y *col.*, 2007).

Tabla 2- Compuestos volátiles procedentes de la madera de roble

Familia	Compuesto	Descriptor	Origen
Compuestos furánicos	Furfural		Hemicelulosa
	5MF	Almendras tostadas y caramelo	
	5HMF		
Cetonas cíclicas	Maltol	Caramelo, tostado	Glúcidos
Heterociclos nitrogenados	Dimetilpirazinas	Café, cacao, pan tostado	
Alcoholes y aldehídos de cadena lineal	1 hexanol	Serrín, nuez verde, rancio, tierra	Ácidos grasos
Ácido acético		Vinagre	Polisacáridos
Aldehídos fenoles	Vainillina	Vainilla, café, chocolate negro	Lignina
	Siringaldehído	--	
	Sinapaldehído	--	
	Coniferaldehído	--	
Fenil cetonas	Acetofenona		Lignina
	Acetovainillona	Vainilla	
	Propiovainillona		
	Butirivainillona		
Fenoles volátiles	Guayacol	Quemado	Lignina
	Siringol	Quemado	
	Fenol	Quemado	
	Eugenol	Clavo, especias	
$\beta$ -metil $\gamma$ -octolactona	Isómero cis	Madera, coco, roble	Lípidos
	Isómero trans		

a) **Furanos y otros heterociclos volátiles.** Compuestos procedentes de los polisacáridos de la madera de roble (figuras 12 y 13). Gracias a la energía producida durante el proceso de tostado de la madera se produce la reacción de Maillard a partir de los polisacáridos de la madera (celulosa y hemicelulosa), lo que dará lugar entre otros compuestos a los furanos y otros heterociclos volátiles (figura 14).

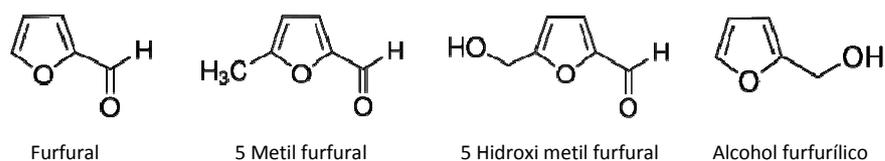


Figura 12- Estructura química de los furanos (fuente: [www.sigma.com](http://www.sigma.com); [www.merck-chemicals.com](http://www.merck-chemicals.com), fecha de consulta: marzo 2012)



Figura 13- Estructura química heterociclos nitrogenados (fuente: www.sigma.com; www.merck-chemicals.com, fecha de consulta: marzo 2012)



Figura 14- Origen de los compuestos furánicos y otros heterociclos (fuente: adaptado de Zamora, 2003)

El furfural se forma por hidrólisis de la hemicelulosa de la madera, concretamente a partir de la xylosa y arabinosa, en reacción catalizada por el ácido acético formado durante el tostado. La formación de los derivados metil e hidroximetil furfural está relacionada con la degradación térmica de la celulosa, por degradación hidrolítica de la fracción cristalina.

Es importante resaltar que la formación de estos compuestos en la madera tiene lugar durante el proceso de tostado de la madera y por tanto su concentración y presencia dependerá del grado de tostado al que se someta a la madera.

- b) Ácido acético.** Su origen está en la hemicelulosa de la madera, ya que puede presentar grupos acetilos, los cuales mediante hidrólisis durante el tostado de la madera pueden dar lugar a moléculas de ácido acético libre, lo que dará lugar a un incremento en la acidez volátil de los vinos envejecidos con madera. Aunque es importante considerar que el aporte de ácido acético al vino no procede principalmente de la madera, sino que es de índole microbiológico (levaduras, bacterias acéticas y bacterias lácticas).
- c) Aldehídos fenoles y fenil cetonas.** Son compuestos de gran interés aunque están presentes en cantidades relativamente bajas. La vainillina y siringaldehído son aldehídos benzóicos y el coniferaldehído y sinapaldehído son aldehídos cinámicos. Hay que destacar la vainillina, siendo un compuesto muy importante ya que participa activamente en los aromas amaderados y avainillados comunicados al vino por la madera. Estos compuestos proceden de la lignina de la madera y presentan una estructura química muy compleja (figuras 15 y 16).

La formación de los aldehídos benzóicos (vainillina, siringaldehído) resulta de la ruptura oxidativa del doble enlace conjugado, seguido por una descarboxilación por termorregulación. Una prolongada estancia del vino en la bodega permite mediante la oxidación transformar parte del aldehído en el correspondiente ácido, y una eventual descarboxilación daría lugar a un fenol volátil.

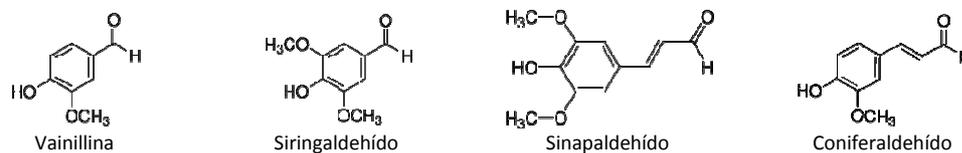


Figura 15- Estructura química de aldehídos fenólicos(fuente: www.sigma.com; www.merck-chemicals.com, fecha de consulta: marzo 2012)

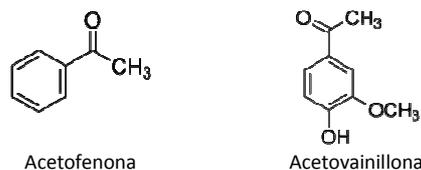


Figura 16- Estructura química de las fenil cetonas (fuente: www.sigma.com; www.merck-chemicals.com, fecha de consulta: marzo 2012)

**d) Fenoles volátiles.** Grupo de compuestos que participan en el aroma del vino, aportando diversos aromas, son moléculas fuertemente aromáticas. Están presentes en forma de derivados mono-metoxilados (serie guayacólica) y di-metoxilados (serie siríngica) del fenol. Su origen es múltiple, pueden proceder de la uva, de una serie de transformaciones microbiológicas, y del contacto del vino con la madera (figura 17).

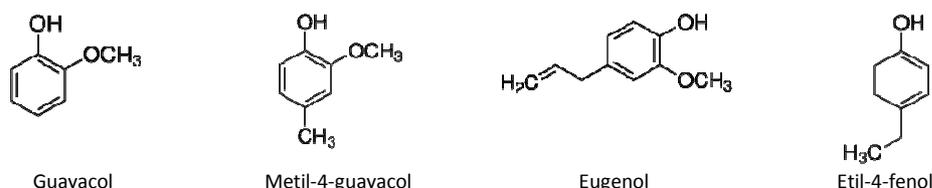


Figura 17- Estructura química fenoles volátiles (fuente: www.sigma.com, fecha de consulta: abril 2012)

**e)  $\beta$ -metil  $\gamma$ -octolactona.** Son los compuestos encargados de transmitir el aroma a nuez de coco en los vinos envejecidos. Su origen está relacionado con la degradación térmica de los lípidos de la madera durante el proceso de tostado (figura 18).

El contenido de  $\beta$ -metil- $\gamma$ -octolactona de la madera va a depender del grado de tostado empleado en el proceso. El isómero cis (menor umbral de percepción) va a ser el que mayor contribución al aroma presente.

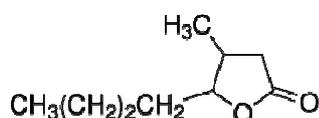


Figura 18- Estructura química de  $\beta$ -metil- $\gamma$ -octolactona (fuente: www.sigma.com, fecha de consulta: abril 2012)

Así pues la crianza del vino en madera de roble aporta sustancias volátiles y compuestos fenólicos que van a enriquecer organolépticamente a los vinos, adquiriendo así una complejidad aromática ligada a estas sustancias volátiles extraídas. Aunque es importante tener en cuenta que tanto el secado de la madera como el tipo de tostado a que ha sido sometida la madera van a hacer que las concentraciones de estas sustancias y compuestos fenólicos sean diferentes, también lo es el origen y la especie del roble.

## 1.2. El roble *Quercus pyrenaica* Willd.

El rebollo (*Quercus pyrenaica* Willd.) se distribuye por Francia, España, Portugal y Marruecos (figura 19). En España es donde ocupa las mayores extensiones, su masa forestal arbolada se evalúa en 1.090.716 ha y está muy extendido en la mayor parte de las comunidades, pero sobre todo en la de Castilla y León (figura 20).

Desde el año 2009, la empresa española Pyrenaica comercializa productos para el envejecimiento de vinos: virutas y astillas de madera de roble de rebollo (*Quercus pyrenaica*) de los robledales de Las Villuercas (Extremadura), siendo comercializados estos productos a través de la empresa Agrovín. La madera empleada es seleccionada cuidadosamente y sometida a un proceso natural de secado al sol y al aire, siendo el agua empleada para este curado procedente de la cuenca hidrográfica de la montaña. Una vez terminado este proceso, estos productos son tostados en un horno de convección, asegurando la calidad y los resultados, adecuándose a los gustos del enólogo al poder personalizar el producto a petición ([www.pyrenaica.es](http://www.pyrenaica.es), fecha de consulta: enero 2013).

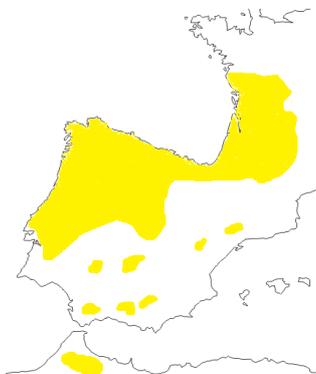


Figura 19- Distribución mundial de *Q. pyrenaica* Willd. (fuente: adaptado de [www.silvicultura.wikispaces.com](http://www.silvicultura.wikispaces.com), fecha de consulta: abril 2012)



Figura 20- Distribución de *Quercus pyrenaica* Willd. en España (fuente: [wwwsp.inia.es](http://wwwsp.inia.es), fecha de consulta: abril 2012)

### 1.2.1. El rebollo de Castilla y León

Castilla y León dispone de 722.773 ha (Dato del tercer inventario Forestal Nacional en Castilla y León IFN 3 el año 2002) ([www.jcyl.es](http://www.jcyl.es), fecha de consulta: enero 2013), con 961 millones de árboles y más de 20 millones de m<sup>3</sup>, lo que hace que sea el territorio que más rebollo posee en el mundo. Ha crecido un 146 % en 10 años (de 1992 a 2002), multiplicando su volumen en 2,46, el mayor incremento después del castaño. Actualmente crece 807.326 m<sup>3</sup>/año. En la figura 21 se muestra la distribución en porcentaje de la superficie de *Quercus pyrenaica* Willd.

en Castilla y León, se observa que está distribuido por todas las provincias excepto en Valladolid, y destacan León y Salamanca con 222.170 y 174.950 ha, y 6.619.396 y 3.992.597 m<sup>3</sup> respectivamente. En la tabla 3 se presenta la superficie (ha) y volumen (m<sup>3</sup>) de *Quercus pyrenaica* Willd. en las provincias de Castilla y León.

Tabla 3- Superficie y volumen de *Quercus pyrenaica* Willd. en Castilla y León

	Superficie (ha)	Volumen (m <sup>3</sup> )
Ávila	30.286	1.173.372
Burgos	69.913	3.511.522
León	222.17	6.619.396
Palencia	67.365	1.758.363
Salamanca	174.95	3.992.597
Segovia	30.213	655.192
Soria	34.739	1.277.181
Valladolid	0	0
Zamora	93.138	1.743.793

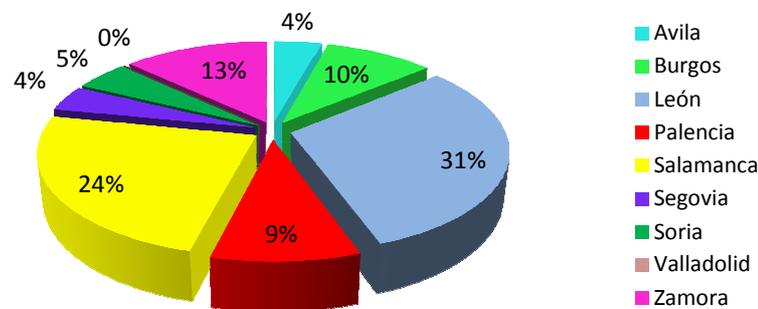


Figura 21- Superficie de *Quercus pyrenaica* Willd. en Castilla y León (%)

En la actualidad hay masas forestales de *Quercus pyrenaica* Willd. en buen estado, las cuales se sitúan en montes altos, con buena espesura y gruesos fustes. La madera de rebollo ha sido empleada tradicionalmente para leña y carbón, y los mejores árboles se han empleado para realizar traviesas de tren, barcos, vigas, ventanas y puertas, incluso en muchas zonas se ha empleado para la alimentación del ganado en dehesas.

Durante los últimos años no se ha realizado ningún tratamiento selvícola en los montes con *Quercus pyrenaica* Willd., por lo que las posibilidades para su aprovechamiento en el envejecimiento de vinos son bajas. Actualmente existen árboles de *Quercus pyrenaica* Willd. de buena calidad, los cuales se encuentran dispersos entre otros árboles de mala calidad, de forma que su localización y aprovechamiento son complicados.

La degradación progresiva que ha tenido lugar a causa de quedar en desuso el aprovechamiento tradicional de esta madera ha producido un gran número de árboles de pequeño diámetro (< 40 cm), los cuales presentan diversos defectos como nudos, heridas, etc., lo que hace que se reduzca su rendimiento para la obtención de madera de calidad, siendo inviable la obtención de esta madera con rentabilidad.

Numerosos estudios han sido realizados durante los últimos años sobre el empleo de la madera de *Quercus pyrenaica* Willd. para el envejecimiento de vinos, y gracias a los excelentes resultados obtenidos se ha planteado realizar un aprovechamiento de estas masas forestales

para obtener madera de calidad para la obtención de duelas a medio-largo plazo (Cadahía y col., 2004, 2008; Fernández de Simón y col., 2007).

### 1.2.2. El rebollo para el envejecimiento de vinos en barricas

Durante los últimos años numerosos estudios de investigación se han llevado a cabo, de forma que los resultados obtenidos han puesto de manifiesto que la barricas de *Quercus pyrenaica* Willd. son aptas para el envejecimiento de los vinos. Esta madera presenta una composición química similar a las especies empleadas tradicionalmente en tonelería (*Quercus robur* L. y *Quercus petraea* Liebl.), tanto en la madera verde, como después de su secado y tostado. Los vinos envejecidos con esta madera presentan una calidad similar que los vinos envejecidos con barricas de *Quercus robur* L. y *petraea* Liebl. (Cadahía y col., 2004, 2008).

Destaca el grupo del CIFOR de las Dras. Cadahía y Fernández de Simón con diversos trabajos desde el año 2003 sobre el envejecimiento de vinos con barricas de madera de rebollo (Cadahía y col., 2004, 2008; Fernández de Simón y col., 2003, 2006a, 2008; Hernández y col., 2007), en Portugal el grupo de la Dra. Caldeira por sus estudios sobre el envejecimiento de brandies con madera de *Quercus pyrenaica* de Portugal (Caldeira y col., 2002, 2006), y en Galicia el grupo de Alañón por sus investigaciones con la madera de rebollo para la crianza de los vinos (Alañón y col., 2011).

La tabla 4 presenta diversos trabajos sobre el envejecimiento de vinos con barricas de roble español en comparación con la madera de roble francés y americano.

El tipo de madera empleada para el envejecimiento de los vinos en barrica ejerce una influencia importante en la composición volátil y en las características sensoriales de los vinos. Según los resultados obtenidos por los grupos de investigación de Fernández de Simón, Hernández y Cadahía, la madera de roble español (*Quercus pyrenaica*, *Quercus petraea* Liebl. y *Quercus robur* L.) puede ser considerada apta para la producción de barricas para el envejecimiento de vinos, ya que los vinos envejecidos con roble español presentaron características similares o intermedias a las del mismo vino envejecido con roble francés o americano (Fernández de Simón y col., 2003; Hernández y col., 2007; Cadahía y col., 2004, 2008). Las concentraciones de los derivados furánicos de los vinos envejecidos con madera de *Quercus pyrenaica* Willd. eran más similares al emplear madera francesa que americana. *Quercus petraea* Liebl. (español) destacaba por sus mayores concentraciones en alcohol furfurílico (Fernández de Simón y col., 2003).

Los vinos envejecidos con *Quercus pyrenaica* Willd. se caracterizaron por presentar altos niveles de ácidos benzóicos, ácido elágico, guayacol, eugenol y otros fenoles volátiles, presentando un comportamiento similar a los vinos envejecidos con madera de roble americano por sus concentraciones de maltol y cis W-lactona, y unos niveles intermedios de aldehídos fenólicos a los obtenidos por los vinos con madera francesa y americana, y dependiendo en gran medida del tipo de vino. En el análisis sensorial, las mayores diferencias se encontraron en la fase olfativa, destacaron los vinos con madera de *Quercus pyrenaica* por sus notas de madera, tostado, café y especias, estando muy bien valorados y siendo los preferidos que los vinos obtenidos al emplear roble americano y francés (Cadahía y col., 2008; Fernández de Simón y col., 2008).

Tabla 4- Estudios del envejecimiento de vinos con barricas de roble español

Autores	Vino	Origen	Tiempo crianza	Parámetros estudiados	Periodo de estudio
Fernández de Simón y col. (2003)	Vino tinto D.O. Rioja	Roble francés ( <i>Q. robur</i> y <i>Q. petraea</i> ), americano ( <i>Q. alba</i> ) y español ( <i>Q. robur</i> , <i>Q. petraea</i> , <i>Q. pyrenaica</i> y <i>Q. faginea</i> )	21 meses	Compuestos volátiles procedentes de la madera y análisis sensorial	Vino envejecido en barricas de roble tras 12 y 24 meses de crianza
Cadahía y col. (2004)	Vino tinto D.O. Rioja	Roble francés ( <i>Q. robur</i> , <i>Q. petraea</i> ), americano ( <i>Q. alba</i> ) y español ( <i>Q. petraea</i> , <i>Q. faginea</i> , <i>Q. pyrenaica</i> , <i>Q. robur</i> )	21 meses	Color, compuestos fenólicos globales y pormenorizados y compuestos volátiles procedentes de la madera	Madera verde. Madera tras un año de secado natural. Madera tras finalizar el proceso de secado. Vino envejecido con barricas tras 12 y 21 meses
Fernández de Simón y col. (2006a)	Vino tinto D.O. Rioja	Roble francés ( <i>Q. robur</i> , <i>Q. petraea</i> ), americano ( <i>Q. alba</i> ) y español ( <i>Q. petraea</i> , <i>Q. robur</i> , <i>Q. pyrenaica</i> , <i>Q. faginea</i> )	21 meses	Compuestos volátiles procedentes de la madera	Vino embotellado tras 12 y 24 meses
Hernández y col. (2007)	Vino tinto D.O. Rioja	Roble francés ( <i>Q. robur</i> , <i>Q. petraea</i> ), americano ( <i>Q. alba</i> ) y español ( <i>Q. petraea</i> , <i>Q. faginea</i> , <i>Q. pyrenaica</i> , <i>Q. robur</i> )	21 meses	Familias de polifenoles, color, compuestos fenólicos pormenorizados	Vino embotellado tras 12 y 24 meses de crianza
Cadahía y col. (2008)	Vino tinto D.O. Rioja, Bierzo, Ribera del Duero y Toro	Roble francés ( <i>Q. petraea</i> ), americano ( <i>Q. alba</i> ) y español ( <i>Q. pyrenaica</i> )	12 meses	Color, compuestos fenólicos globales y pormenorizados y compuestos volátiles procedentes de la madera	Madera verde. Madera durante el proceso de secado natural. Madera antes y tras finalizar el proceso de tostado. Vino envejecido con barricas tras 12 meses
Fernández de Simón y col. (2008)	Vino tinto D.O. Rioja, D.O. Bierzo, D.O. Ribera del Duero y D.O. Toro	Roble español ( <i>Q. pyrenaica</i> ), roble francés ( <i>Q. petraea</i> ) y roble americano ( <i>Q. alba</i> )	12 meses	Compuestos volátiles procedentes de la madera y análisis sensorial	Vino envejecido con barricas de roble tras 6 y 12 meses
Cadahía y col. (2009b)	Vino tinto D.O. Navarra	Roble español ( <i>Q. petraea</i> ), roble francés ( <i>Q. petraea</i> )	12 meses	Color, compuestos fenólicos de bajo peso molecular y volátiles	Vino envejecido con barricas de roble tras 3, 6, 9 y 12 meses

Al final del envejecimiento se observaron escasas diferencias en las características químicas y cromáticas de los vinos, cada tipo de madera aportó al vino características especiales que dependían de la especie. Las barricas de roble español (*Quercus petraea* Liebl.) y francés (*Quercus petraea*) presentaron una calidad enológica bastante similar, encontrando

diferencias insignificantes en el contenido de flavonoides (catequina y epicatequina), derivados furánicos y aldehídos fenólicos (vainillina, siringaldehído y acetovainillona). Los vinos envejecidos con madera de roble español (*Quercus petraea*) destacaron por sus mayores niveles de cis W-lactona, los cuales eran comparables a los del roble americano (*Quercus alba* L.) (Cadahía y col., 2004, 2009b).

Además, los grupos de Fernández de Simón y Hernández en 2006 y 2007 estudiaron la composición volátil, las familias de compuestos fenólicos, la composición antociánica, el color y la composición fenólica de bajo peso molecular de vinos envejecidos en barricas de roble francés (*Quercus robur* L.), americano (*Quercus alba* L.) y español (*Quercus pyrenaica*, *Quercus petraea* Liebl, *Quercus faginea* Lam. y *Quercus robur* L.) tras 12 y 24 meses de botella.

Tras 2 años de botella, los vinos envejecidos con roble español (*Quercus pyrenaica*, *Quercus petraea* Liebl. y *Quercus robur* L.) y francés (*Quercus robur* L.) presentaron una composición fenólica y volátil y unas características cromáticas similares. Durante el periodo de botella se observó, un descenso en la composición volátil de los vinos en la mayoría de los compuestos volátiles estudiados, que dependía del tipo de madera empleada. Los vinos con roble americano destacaron por su mayor contenido en cis W-lactona, derivados furánicos y menor concentración de antocianos pormenorizados y menor tonalidad que los vinos envejecidos con robles europeos (Fernández de Simón y col., 2006a; Hernández y col., 2007).

### 1.3. Productos alternativos a las barricas

El envejecimiento de vinos con productos alternativos es una antigua técnica, cuyo objetivo consiste en conseguir vinos envejecidos que recuerden a los obtenidos con métodos tradicionales, empleando para ello madera de roble con formas diferentes.

#### 1.3.1. Descripción y fabricación de los productos alternativos a las barricas

La normativa europea en vigor (CEE 1507/2007) especifica que los trozos de madera empleados para el envejecimiento de los vinos deben tener una dimensión superior a 2 mm. Actualmente en el mercado se encuentran diferentes tipos de fragmentos de roble (Fernández de Simón y col., 2007):

- Granulado de roble: Son pequeños gránulos de madera de roble, los cuales se introducen en bolsas tipo infusión, que son sujetadas en la parte inferior de los depósitos (figura 22).



Figura 22- Polvo y granulado de madera de roble (fuente: elaboración propia)

- Astillas de roble o chips: Fragmentos de madera de aspecto astilloso, con un tamaño próximo a 10 mm. Al igual que con el granulado de roble, su inmersión en el depósito se realiza mediante bolsas de tipo infusión ancladas en el depósito (figura 23).



Figura 23- Astillas de roble (fuente: elaboración propia)

- Fragmentos de roble: Son elementos de mayor tamaño que las astillas, los cuales se producen a partir de tablillas de un grosor determinado mediante un corte aserrado. Pueden ser de forma cúbica de 1 cm de arista, también conocidos como oak beans, de forma cuadrada (bloques) con 1 cm de grosor y 5-8 cm de lado aproximadamente o con forma rectangular, como piezas de dominó. Al igual que con los dos tipos de productos alternativos anteriores, su empleo se realiza con bolsas ancladas en el depósito (figura 24).



Figura 24- Fragmentos de madera de roble, cubos y bloques (fuente: elaboración propia)

- Tablillas, listones o travesaños de roble: Son piezas de roble de forma más o menos rectangular, las cuales son sumergidas y ancladas en el fondo de los depósitos, o adosadas a las paredes mediante bastidores de acero inoxidable. Las medidas son muy variables. Su gran ventaja es que es fácil mezclar varios tipos de maderas y tostados, consiguiendo los matices deseados en el vino envejecido (figura 25).



Figura 25- Tablones de roble y sistema mediante bastidores de acero (fuente: elaboración propia)

En la fabricación de productos alternativos a las barricas es importante el tipo de corte y la selección de la madera realizada para la obtención de duelas. El corte tipo hendido que se realiza en el roble europeo, hace que en el mejor de los casos solo una cuarta parte del volumen de la madera se aproveche para la obtención de duelas, quedando un 75% de residuo (corteza, albura, el duramen externo y duramen no utilizado). El duramen alrededor de los cuartos, los cuales darán lugar a las tablas para las duelas puede utilizarse para la fabricación de los productos alternativos de calidad. Como se ha mencionado antes es muy importante separarlo perfectamente de la albura y la corteza, ya que estas partes presentan composiciones muy distintas y son susceptibles de comunicar gustos desagradables (figura 26). En el caso del roble americano, el corte aserrado realizado a esta madera, hace que el rendimiento sea del 50-55%. En este caso, la selección del duramen para la producción de productos alternativos a las barricas es más fácil, aunque es importante realizar esta operación de forma correcta (Chatonnet, 2007).

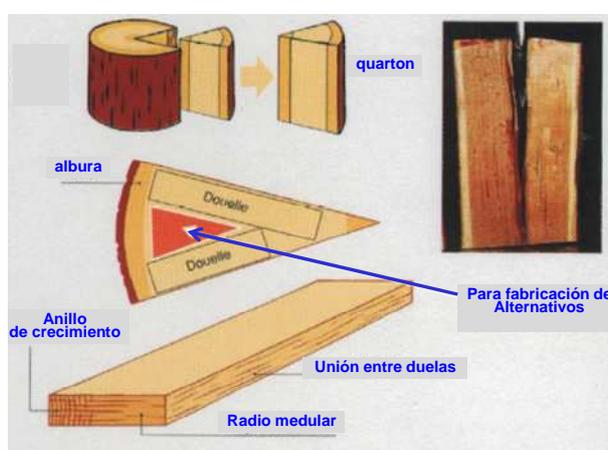


Figura 26- Partes de la madera en un tronco de roble para la fabricación de productos alternativos a las barricas, fuente: adaptado de Chatonnet, 2007)

Los productos alternativos a las barricas deben ser sometidos, al igual que las barricas, a un proceso de secado y tostado de la madera. En el capítulo 2, apartados 1.1 y 1.2 se explica con detalle el proceso de secado y tostado en los productos alternativos a las barricas.

### 1.3.2. Situación legal de los productos alternativos a las barricas

La madera de roble ha sido empleada desde el siglo XVII para envejecer artificialmente vinos y aguardientes. El uso más importante de los productos alternativos a las barricas se ha producido en Norteamérica a partir de los años 60-70, generalizándose más tarde el empleo de estos productos en los llamados países del nuevo mundo, y particularmente en Estados Unidos y Australia. En Europa, el empleo de los productos alternativos a las barricas no ha sido una práctica bien vista por el marco legislativo. Desde el punto de vista normativo, la crianza de vinos y espirituosos en recipientes de madera no es un tratamiento enológico, sino una forma de conservación previa a la normativa sobre materiales de contacto (RCE 2392/89, de 24 de julio de 1989). Desde 1993, se podía utilizar “a título experimental” virutas y otros granulados de roble, respetando las obligaciones del reglamento CEE 822/87, es decir con un límite de 50.000 hl/año, como máximo durante 3 años, y con la imposibilidad de exportar fuera del país de producción (Chatonnet, 2007).

A partir de 2006 la normativa evolucionó, y el reglamento CEE 1507/2007 del 11 de octubre de 2006 modificó el anterior reglamento vigente hasta esa fecha (CEE 1622/2000), permitiendo el empleo de trozos de madera de roble para la elaboración de vinos, los cuales transmiten al vino ciertos constituyentes provenientes de la madera de roble. Estos trozos de madera deben provenir exclusivamente de las especies de *Quercus sp.*, que podrán dejarse al natural o tostarse de manera ligera, media o fuerte sin sufrir combustión incluso en la superficie, y no deben ser carbonosos ni friables al tacto. No deben haber sufrido ningún tratamiento químico, enzimático o físico aparte del tostado, ni añadirles ningún producto para aumentar su poder aromatizante natural o sus compuestos fenólicos extraíbles. Respecto al etiquetado del producto, deben figurar en la etiqueta el origen de la especie(s) botánica(s) de roble, la intensidad de tostado si procede, condiciones de conservación y consignas de seguridad. La dimensión de las partículas de madera deben ser tales que al menos el 95% de ellas en peso sean retenidas por un tamiz con mallas de 2 mm. Los trozos de madera de roble no deben liberar sustancias en concentraciones que puedan acarrear riesgos para la salud.

A partir de esta normativa, el Boletín Oficial del Estado determinó las normas a seguir en España. Según el Real Decreto 1365/2007 del 19 de octubre publicado en el BOE nº 272 con fecha del 13 de noviembre de 2007 se dictó que mediante la disposición adicional única se habilita que en las normas reglamentarias de los vinos de calidad producidos en regiones determinadas y de los vinos con indicación geográfica cuyo ámbito geográfico sea superior al de una comunidad autónoma se pueda prohibir la práctica enológica de empleo de trozos de madera de roble en la elaboración de sus vinos. Para el caso de que el ámbito geográfico no exceda de una comunidad autónoma, será la propia comunidad competente la que decida sobre esta cuestión.

Hasta el momento sólo la Denominación de Origen Calificada «Rioja» y su Consejo Regulador han hecho uso de esta normativa del BOE. Así en el BOE nº 275 de 16 de noviembre de 2007 señala que El Consejo Regulador de la Denominación de Origen Calificada Rioja ha propuesto la prohibición de la utilización de trozos de madera de roble en la elaboración de los vinos de esa Denominación.

El resto de Europa tiene unas normativas diferentes en función de cada país, siendo distintas a la normativa española. Los países no comunitarios como Australia, EEUU, América del Sur o Sudáfrica, los cuales fueron los artífices del empleo de productos alternativos a las barricas para el envejecimiento de vinos, no tienen regulaciones restrictivas en la industria del vino.

La situación legal en la Unión Europea es confusa debido a las diferentes normativas de cada país ([www.mivino.es](http://www.mivino.es), fecha de consulta: julio 2012):

- Suiza: El consejo federal ha decretado la adecuación a la reglamentación alimentaria de la Unión Europea, para que los viticultores empleen astillas de roble para el envejecimiento de vinos. Está en preparación su inserción en las disposiciones AOC de la nueva reglamentación agraria. Además se define la calidad de las astillas de madera.
- Francia: Las astillas de roble están prohibidas para todos los vinos con Denominación de Origen controlada (AOC). No obstante, en las regiones AOC Côtes du Rhône, Médoc, Haut-Médoc, Burdeos, Burdeos Superior, Muscadet y Anjou se podrán seguir realizando experimentos puntuales con astillas.

- Italia: Sólo está autorizado el empleo de astillas de roble en el vino <<da tavola>>. Los vinos con Denominación de Origen declarada (DOC y DOGC) no podrán ser envejecidos con astillas de roble.
- Portugal: No se han elaborado reglamentaciones vinculantes para el empleo de astillas de madera en el envejecimiento de vinos.
- Alemania: En los vinos Prädikat a partir del nivel de calidad Kabinet se prohíbe la utilización de astillas de roble. Para los niveles de calidad más sencillos se puede emplear de modo ilimitado los productos alternativos a las barricas para el envejecimiento de vinos. Esto afecta sobre todo a los vinos embotellados como Qualitätswein bestimmter Anbaugebiete (Qba).
- Austria: Todos los viticultores están autorizados a emplear astillas de roble para el envejecimiento de vinos.

### 1.3.3. Composición de los productos alternativos a las barricas

Numerosos autores han estudiado la composición química de diferentes tipos de madera empleadas para la fabricación de alternativos (tabla 5). El proceso de preparación de la madera para la extracción y posterior determinación de compuestos fenólicos y volátiles en astillas de roble han sido estudiadas por Puech en 1987 y por Matějček en 2005. Respecto al proceso de preparación de la madera, durante el año 2005 el grupo de investigación de Matějček determinó que una extracción con HCl permitía una mejor extracción de los compuestos fenólicos y derivados furánicos que al emplear etanol. Sus resultados indicaron que la madera tostada presentaba mayor concentración de ácido elágico cuando la extracción se realizaba con etanol, y en el caso de la madera sin tostar la extracción con HCl permitía obtener el doble de la concentración de ácido elágico y otros compuestos, excepto en los ácidos gálico y vainillínico. Respecto a la especie de roble empleada, *Quercus robur* presentaba mayor contenido de furfural, 5 metil furfural (5MF) y ácido elágico, y *Quercus alba* mayor presencia de vainillina y siringaldehído, siendo significativas las diferencias (Matějček y col., 2005). Por otro lado, Puech y su grupo determinaron en 1987 que una extracción con una solución hidroalcohólica al 10% con ácido tartárico (similar al contenido en un vino) permitía una mayor extracción de aldehídos y ácidos volátiles, siendo el contenido de los ácidos siríngico y vainillínico de 2 a 3 veces superior que al hacer la extracción en un medio no ácido (Puech y col., 1987).

Respecto a la composición química de la madera verde de roble español de diferentes zonas, se encontró que la composición tánica, fenólica y volátil de la madera de *Quercus pyrenaica* era similar a otras especies de roble comúnmente usadas en tonelería, mostrando sólo pequeñas diferencias cuantitativas, las cuales eran más significativas con respecto al roble americano que francés (Fernández de Simón y col., 2006b, 2009). Por lo que la madera de *Quercus pyrenaica* ha sido considerada apta para el envejecimiento de vinos, coincidiendo con lo estudiado en 2001 y 2003 por el grupo de investigación de Cadahía, que compararon la composición volátil, elagitaninos y compuestos de bajo peso molecular de la madera de roble español (*Q. faginea*, *Q. robur*, *Q. petraea* y *Q. pyrenaica*) con el roble americano (*Q. alba*) y el roble francés (*Q. robur* y *Q. petraea*) (Cadahía y col., 2001, 2003). La madera de *Quercus pyrenaica* Willd. de diferentes regiones de procedencia presentó una composición química

similar, con una alta variabilidad entre individuos, al igual que ocurría con las maderas de roble europeas y americanas (Fernández de Simón y col., 2006b).

Tabla 5- Estudios de la composición química de diferentes tipos de madera

Autores	Tamaño de madera	Origen	Tiempo de maceración	Compuestos
Puech (1987)	Astillas	Roble búlgaro ( <i>Q. sessilis</i> )		Ácidos y aldehídos volátiles
Fernández de Simón y col. (1996a)	Trozos	Roble español ( <i>Q. robur</i> , <i>Q. petraea</i> , <i>Q. pyrenaica</i> , <i>Q. faginea</i> )	24 horas	Compuestos de bajo peso molecular
Fernández de Simón y col. (1999a)	Trozos	Roble español ( <i>Q. robur</i> , <i>Q. petraea</i> , <i>Q. pyrenaica</i> , <i>Q. faginea</i> )	24 horas	Compuestos de bajo peso molecular y elagitaninos
Cadahía y col. (2001a)	Duelas	Roble francés ( <i>Q. robur</i> y <i>Q. petraea</i> ), americano ( <i>Q. alba</i> ), y español ( <i>Q. robur</i> , <i>Q. petraea</i> , <i>Q. pyrenaica</i> y <i>Q. faginea</i> )	24 horas	Compuestos fenólicos de bajo peso molecular
Cadahía y col. (2001b)	Duelas	Roble francés ( <i>Q. robur</i> y <i>Q. petraea</i> ), americano ( <i>Q. alba</i> ), y español ( <i>Q. robur</i> , <i>Q. petraea</i> , <i>Q. pyrenaica</i> y <i>Q. faginea</i> )	24 horas	Elagitaninos
Giménez y col. (2001)	Astillas	Roble americano	3 horas	Vainillina, siringaldehído y ácido gálico
Cadahía y col. (2003)	Duelas	Roble francés ( <i>Q. robur</i> y <i>Q. petraea</i> ), americano ( <i>Q. alba</i> ), y español ( <i>Q. robur</i> , <i>Q. petraea</i> , <i>Q. pyrenaica</i> y <i>Q. faginea</i> )	15 días	Composición volátil
Matějček y col. (2005)	Astillas	Roble francés ( <i>Q. robur</i> y <i>Q. alba</i> )	1 hora	Compuestos furánicos y derivados de los ácidos cinámicos y benzóicos
Caldeira y col. (2006)	Madera molida	Castaño portugués ( <i>Castanea sativa</i> ), roble portugués ( <i>Q. pyrenaica</i> ), roble americano ( <i>Q. alba</i> / <i>Q. stellata</i> ) y francés ( <i>Q. sessiflora</i> y <i>Q. robur</i> )	180 minutos	Composición volátil
Fernández de Simón y col. (2006b)	Trozos	Roble español ( <i>Q. pyrenaica</i> )	24 horas	Elagitaninos, compuestos de bajo peso molecular y composición volátil
Canas y col. (2007)	Madera molida	Castaño portugués ( <i>Castanea sativa</i> ), roble americano ( <i>Q. alba</i> ) y rumano ( <i>Q. robur</i> )	180 minutos	Composición volátil
Fernández de Simón y col. (2009)	Trozos	Roble español ( <i>Q. pyrenaica</i> )		Elagitaninos, compuestos de bajo peso molecular y composición volátil
Fernández de Simón y col. (2010)	Trozos	Roble americano, francés y español ( <i>Q. pyrenaica</i> )	15 días	Composición volátil
Alañón y col. (2011)	Bloques	Roble español ( <i>Q. pyrenaica</i> )		Composición volátil
Sanz y col. (2012)	Duelas	Acacia ( <i>R. pseudoacacia</i> ), castaño ( <i>C. sativa</i> ), cerezo ( <i>P. avium</i> ) y fresno ( <i>F. excelsior</i> L. y <i>F. americana</i> L.)	24 horas	Compuestos de bajo peso molecular, taninos hidrolizables y condensados y otros flavonoides y compuestos fenólicos

La importancia del **tamaño del producto alternativo a la barrica y la especie de la madera** ha sido estudiada por diversos autores. Fernández de Simón y su grupo de investigación desde el año 1996 estudiaron la composición volátil, compuestos de bajo peso molecular, familias de compuestos fenólicos y elagitaninos de trozos de madera de roble de distinta especie (*Quercus pyrenaica*, *Quercus alba*, *Quercus faginea*, *Quercus robur* y *Quercus petraea*) (Fernández de Simón y col., 1996a, 1999b, 2006b, 2009, 2010). La madera de *Quercus pyrenaica* contenía las mayores cantidades de furfural, 5MF, 5HMF, eugenol y cis W-lactona, la madera *Quercus alba* destacó por su mayor nivel de *o*-cresol, *m*-cresol y siringol, y las mayores concentraciones de vainillina y siringaldehído las presentó el roble francés (Fernández de Simón y col., 2010). Sin embargo, Alañón y col. en el año 2011 encontraron que además de estos compuestos, la madera de *Quercus pyrenaica* también presentaba altas concentraciones de isoeugenol, vainillina, sinapaldehído, siringaldehído y  $\beta$ -sitosterol (semi-volátil) (Alañón y col., 2011). Otro estudio sobre el tamaño de las astillas fue realizado por Giménez y su equipo en el año 2001, describían concentraciones de vainillina y siringaldehído ligeramente superiores al aumentar el tamaño de las astillas. Con un tamaño medio de astillas (3-5 mm de diámetro) se favorecía una adecuada extracción del ácido gálico, vainillina y siringaldehído, mientras que tamaños más pequeños o más grandes interferían en su extracción. La duración del tostado de la madera influía en la concentración de estos compuestos, si el tostado excedía de las 15 horas a 185°C se producía una excesiva descomposición, la cual estaba marcada por un descenso en el contenido de ácido gálico y siringaldehído (Giménez y col., 2001).

Respecto al **efecto del tostado de la madera**, diversos autores encontraron que la madera de roble español sin tostar presentaba mayor contenido de compuestos extraíbles de la madera y elagitaninos que la madera de roble francés (*Quercus petraea*) y americana (*Quercus alba*). Durante el procesado de la madera (secado y tostado), las concentraciones de los elagitaninos de la madera de roble español descendieron, especialmente los monoméricos castalagina, roburinas A-E, grandinina y vescalagina, al igual que en la madera de roble francés y americano. Respecto al efecto del tostado de la madera de diferente origen, Cadahía y col. en el año 2001 describieron que las concentraciones de elagitaninos en la madera tostada de roble español eran intermedias a las de roble americano y francés (Cadahía y col., 2001b). Los contenidos medios de la mayoría de los compuestos volátiles estudiados aumentaron con el tostado, especialmente isoeugenol, siringol, 4 metil siringol y alilsiringol. El efecto del tostado en el contenido de eugenol y W-lactonas era diferente según la especie y origen de la madera, aunque en general no se observaron cambios drásticos, siendo el roble americano el que mayor contenido de eugenol presentaba, destacando también por su contenido en guayacol, y respecto a las W-lactonas, la concentración de los isómeros cis y trans W-lactonas aumentaba con el tostado en la madera de roble francés (*Quercus petraea*) y americano, mientras que en la madera de roble español y francés (*Quercus robur*) el isómero cis sufría un descenso (Cadahía y col., 2003).

Respecto a las concentraciones de compuestos fenólicos de bajo peso molecular en maderas de roble español de diferentes especies, el grupo de Fernández de Simón y Cadahía encontró que la concentración era diferente según la especie (Fernández de Simón y col., 1996a, 1999a, 2009; Cadahía y col., 2001). Siendo *Quercus robur* y *Quercus petraea* las especies con mayor riqueza de siringaldehído, sinapaldehído, ácidos vainillínico, siríngico y ferúlico, aesculetina,

vainillina, escopoletina, y *Quercus faginea* con mayor contenido de los ácidos gálico y eláxico y coniferaldehído (Fernández de Simón y col., 1996a).

La concentración de los compuestos de bajo peso molecular aumentó con el secado y el tostado de la madera, excepto en *Quercus petraea* donde el ácido ferúlico descendió significativamente, además con el secado de la madera se consiguió un descenso en el contenido de elagitaninos de la madera y el incremento de los compuestos de bajo peso molecular era significativo en algunos aldehídos fenólicos (vainillina, siringaldehído y coniferaldehído). La madera secada de *Quercus pyrenaica* destacó por su contenido en los ácidos gálico, eláxico, vainillínico, y siríngico, y en escopoletina. La madera de *Quercus robur* por su mayor contenido en ácido ferúlico, vainillina, siringaldehído, coniferaldehído y aesculetina, y la madera de *Quercus faginea* por su concentración de ácido eláxico, sinapaldehído y castalagina. La modificación en la composición química de las especies de roble español, americano y francés durante el proceso de secado y tostado era similar, aunque pequeñas diferencias cuantitativas fueron observadas, siendo especialmente importantes en las especies de roble americano (*Quercus alba*) con respecto a las maderas de roble francés y español (Fernández de Simón y col., 1996a, 1999a, 2009; Cadahía y col., 2001a-b, 2003).

Además, el grupo de investigación de Sanz estudió los cambios que la intensidad del tostado de la madera producía en el perfil fenólico de las maderas de acacia, castaño, fresno y cerezo, las cuales presentaron claras diferencias con respecto a las maderas de roble americano (*Q. alba*) y europeo (*Q. robur*, *Q. petraea*, *Q. pyrenaica*, etc.) empleadas tradicionalmente en tonelería, siendo una herramienta para poder diferenciar el origen botánico de la madera empleada en las tonelerías. El tostado de la madera cambió notablemente estos perfiles, siendo de forma general proporcionales a la intensidad del tostado, y dando lugar a una menor diferenciación entre las especies de las maderas tostadas, sin embargo encontraron marcadores fenólicos en las maderas tostadas estudiadas. Los compuestos metil siringato, metil vainillato, 3,4,5-trimetilfenol, los ácidos, *p*-hidroxibenzóico, *p*-cumárico y benzóico, los taninos condensados del tipo procianidin y los flavonoides naringenina, aromadendrin, isosakuranetin y taxifolin serán una buena herramienta para la identificación de madera de cerezo. En la madera de acacia, los marcadores químicos serán los aldehídos  $\beta$ -resorcílico y gálico, dos compuestos hidroxicinámicos no identificados plenamente, los taninos condensados del tipo prorobinetin, y al emplear madera sin tostar el dihidrorobinetin, y en madera tostada de acacia el robinetin. En la madera tostada de fresno, el tirosol, siringaresinol, ciclovil, verbascósido y olivil podrían emplearse para identificar el origen botánico. Además en la madera de fresno secada y tostada no se detectaron taninos condensados ni hidrolizables. Por último, en la madera de castaño los ácidos gálico y eláxico, y los taninos hidrolizables del tipo galotaninos y elagitaninos (vescalagina y castalagina) podrían utilizarse como marcadores químicos. El tostado de la madera provocó en todas las maderas estudiadas un progresivo aumento de los compuestos derivados de la lignina, especialmente los aldehídos fenólicos, se observaron diferencias significativas entre el tostado ligero y medio para la mayoría de los compuestos estudiados. Respecto a la intensidad del tostado de la madera, el aumento de concentración de sinapaldehído fue particularmente importante en todas las maderas estudiadas (Sanz y col., 2012).

También se ha estudiado conjuntamente la **influencia del secado y del tostado de la madera** en la composición volátil del roble francés, americano y español durante los años 2009 y 2010 por el grupo de investigación de Fernández de Simón (Fernández de Simón y col., 2009, 2010). Los resultados indicaron que el grado de tostado de la madera presentó una gran influencia en la concentración de algunos de los compuestos estudiados, como el fenol, siringol, vainillina, butirolactona, acetovainillona y siringaldehído, cuya concentración aumentó con la intensidad del tostado, coincidiendo con los resultados de Caldeira y col. del año 2006, siendo los derivados furánicos (furfural, 5HMF y 5MF), fenoles volátiles (siringol), vainillina y el ácido propanoico los más afectados por el grado de tostado de la madera (Caldeira y col., 2006; Fernández de Simón y col., 2009, 2010). No se encontraron diferencias significativas en las concentraciones de W-lactonas según el tipo de tostado (Fernández de Simón y col., 2009, 2010), no coincidiendo estos resultados con los de Caldeira y su grupo de investigación del año 2006, cuyos resultados indicaron que el isómero trans tampoco se veía afectado por el grado de tostado de la madera, sin embargo, la concentración del isómero cis en las maderas analizadas si cambió de forma significativa con el grado de tostado, siendo mayor con un tostado fuerte y encontrando el menor contenido de cis W-lactona con un tostado medio de la madera (Caldeira y col., 2006).

Los trabajos sobre las propiedades de las maderas de las diferentes especies de roble español concluyeron que estas especies presentaban características similares a las especies más usadas en tonelería. Con el aumento del grado de tostado de la madera de *Quercus pyrenaica* se producía un incremento de las concentraciones de todos los compuestos fenólicos de bajo peso molecular, destacando los incrementos de los aldehídos cinámicos y una reducción de los elagitánicos, la cual era más acusada al aumentar la intensidad del tostado (Fernández de Simón y col., 2009). Por otro lado, indicar que *Quercus pyrenaica* presentó una concentración de aldehídos benzóicos y ácido vainillínico ligeramente más bajos que otras especies, asemejándose a la madera de roble americano (*Quercus alba*) por su baja concentración de elagitánicos, sobre todo con un tostado medio plus. Además con el proceso de tostado de la madera se observó un descenso en el contenido de W-lactona, especialmente en el isómero cis, lo que benefició la calidad enológica final de esta madera al presentar la madera verde o curada de *Quercus pyrenaica* elevadas concentraciones de cis W-lactona (Fernández de Simón y col., 2009). Por lo tanto, la calidad enológica de la madera de *Quercus pyrenaica* Willd. era muy similar a la de otras maderas de roble empleadas tradicionalmente en el envejecimiento de vinos (Fernández de Simón y col., 2006b, 2009).

Teniendo en cuenta **distintos tipos de maderas**, los grupos de investigación de Caldeira y Canas en los años 2006 y 2007 estudiaron además la composición volátil de las maderas empleadas tradicionalmente en tonelería (francés y americano), de la madera de roble búlgaro y portugués, y de castaño portugués con diferentes grados de tostado. El equipo de Canas en 2007 encontró diferencias significativas en el contenido de los ácidos elágico y ferúlico, y vainillina según el origen de la madera. Siendo la madera de castaño la que presentó mayor contenido de ácido elágico y vainillina, y el roble americano más ácido ferúlico. La madera de castaño también presentó mayores niveles de los ácidos gálico, vainillínico y siringico, y el roble americano mayor contenido de escopoletina. La temperatura durante el proceso de tostado ejerció una gran influencia en el contenido de compuestos de bajo peso molecular, 5HMF, sinapaldehído y coniferaldehído, ya que estos compuestos sufrieron un fuerte descenso

en su concentración al emplear una temperatura de tostado de 150-155 °C, al ser compuestos formados a 120-125 °C y volatilizarse a altas temperaturas. Las concentraciones de los ácidos gálico, ferúlico y vainillínico descendieron con el aumento de la temperatura de tostado (Canas y col., 2007).

Caldeira y su grupo de investigación estudiaron en 2006 el efecto del origen de la madera sobre la composición volátil del vino. La madera de castaño presentó menor contenido de los dos isómeros cis y trans W-lactona que la madera de roble, siendo significativas estas diferencias. El roble americano (*Quercus alba*) presentó mayor contenido de cis W-lactona y eugenol que los robles francés y portugués y la madera de castaño, y la concentración de trans W-lactona en la madera de roble francés era mayor en la especie *Quercus robur* que en *Quercus sessilis* (Caldeira y col., 2006).

#### 1.3.4. Envejecimiento de vinos con productos alternativos a las barricas

La normativa publicada en octubre de 2006 en el Diario Oficial de la UE, que regula el empleo de trozos o virutas de madera de roble en la elaboración de vino, ha impulsado el uso de productos alternativos a la barrica de roble en la industria enológica en los últimos años. Esta técnica de envejecimiento alternativo consiste en la adición de madera que en muchas ocasiones va acompañado de la adición de pequeñas cantidades de oxígeno (MOX) en los tanques de envejecimiento, de forma que se va a imitar la leve micro-oxigenación que sufre el vino en barrica.

Al igual que ocurre en la crianza de los vinos con barricas de roble, las especies más utilizadas son *Quercus petraea* y *Quercus alba*, aunque debido a la gran demanda de madera en tonelería, durante los últimos años se han estudiado otras especies, como el roble español (*Quercus pyrenaica* Willd.).

Actualmente la cantidad de madera de *Quercus pyrenaica* Willd. en los bosques españoles para la realización de barricas es limitada, pero gracias a las buenas aptitudes presentadas por la madera de rebollo en el envejecimiento de vinos de calidad, y a que su comportamiento es similar al de otras especies empleadas tradicionalmente en tonelería, ha surgido la posibilidad de realizar un aprovechamiento de rebollo a corto plazo mediante la fabricación de productos alternativos a las barricas.

Numerosos autores han estudiado el efecto de los productos alternativos a las barricas en vinos o brandy, de forma que la madera de roble va a conferir un carácter amaderado, simplificando y abaratando el proceso de envejecimiento (tabla 6). Se han encontrado trabajos sobre el efecto del tamaño de la pieza de roble para envejecer, el origen de la madera, el tipo de secado y la intensidad de tostado de la madera en el vino o del destilado envejecido.

Respecto a la importancia del **origen de la madera**, los estudios de Ancín en el año 2004 sobre la composición volátil de un vino sintético envejecido con roble americano (*Quercus alba*) y francés (*Quercus sessilis* de 2 regiones), mostraron las mayores diferencias en los compuestos extraíbles de la madera de roble de la misma especie (*Quercus sessilis*) procedentes de distintas regiones geográficas, que entre maderas de especies distintas. La

madera de roble americano aportó al vino más furfural, vainillina y siringaldehído que la madera de roble francés, más cis W-lactona que la madera de Allier (*Quercus sessilis*) y más 5MF que el roble de Nevers (*Quercus sessilis*). Mientras que la madera de roble francés aportó a los vinos más trans W-lactona y guayacol, siendo significativas las diferencias en el caso de la trans W-lactona. Respecto a la concentración de eugenol, se observó una mayor liberación de este compuesto al emplear madera francesa de Nevers para el envejecimiento del vino (Ancín y col., 2004).

Diferentes autores estudiaron el efecto del origen de las astillas de roble para el envejecimiento de vinos. En el trabajo de De Coninck de 2006 se analizaron las características organolépticas de un mismo vino envejecido con astillas de roble francés (*Quercus petraea*) y roble portugués (*Quercus pyrenaica*). El contenido de fenoles totales, flavonoides, no flavonoides y procianidinas no varió significativamente según la especie de roble, pero sí en el análisis sensorial de los vinos. Los vinos tratados con astillas de roble portugués presentaron mayores notas de madera que los vinos con roble francés, lo cual pudo ser debido al mayor contenido de W-lactona en la madera de *Quercus pyrenaica*. En general, los vinos con astillas de *Quercus pyrenaica* presentaron mayores atributos positivos en las propiedades sensoriales que los vinos tratados con roble francés (De Coninck y col. de 2006).

El grupo de investigación de Guchu realizó en 2006 el estudio de la composición volátil y el análisis sensorial de un vino blanco tratado con astillas de roble americano (*Quercus alba*) y húngaro (*Quercus petraea*). Los vinos tratados con astillas (independientemente del origen) presentaron mayor intensidad, apreciación global y notas de tostado, amaderado y de vainilla que el vino control. La madera de roble americano aportó más W-lactonas y eugenol que el roble húngaro, sin embargo las astillas de roble húngaro cedieron más vainilla y furfural. Se observaron diferencias al emplear madera tostada o sin tostar, de forma que las astillas tostadas cedieron mayor contenido de eugenol, vainilla, guayacol y derivados del siringol al vino. El tostado de la madera presentó mayor influencia en las características sensoriales de los vinos que la especie de roble empleada (Guchu y col., 2006).

Varios autores estudiaron el análisis sensorial, los parámetros de color y la composición fenólica de los vinos envejecidos con los robles empleados tradicionalmente en tonelería (francés y americano). El estudio de Guchu de 2006 (Guchu y col., 2006) ha coincidido con el de Gutiérrez del año 2002, al encontrar un mayor aporte de W-lactonas en los vinos tratados con roble americano (*Quercus alba*), destacando los vinos envejecidos con astillas de roble americano por sus notas a coco y vainilla (Gutiérrez y col., 2002).

Según Pérez y su equipo de investigación el grado de tostado y el origen de las astillas de roble influyeron especialmente en la composición antocianica y en los parámetros de color de los vinos envejecidos (Pérez y col., 2009).

En el año 2010, el efecto del envejecimiento de vinos con astillas y con barricas de roble en la composición fenólica y análisis sensorial fue estudiado por el equipo de investigación de Ortega. Encontraron diferencias significativas en la composición fenólica de los vinos según el tipo de envejecimiento, siendo los antocianos totales, poliméricos, acetilados y glucosilados las principales variables que pudieron diferenciar el envejecimiento alternativo con astillas del tradicional con barricas. Los vinos tratados con astillas destacaron por presentar mayores

notas de vegetales y herbáceos y ser más astringentes en boca que al envejecer en barricas (Ortega y col., 2010).

La composición volátil de los vinos envejecidos con astillas de roble francés (*Quercus petraea* + *Quercus robur*), americano (*Quercus alba*) y español (*Quercus pyrenaica* Willd. y *Quercus petraea*) fue estudiada por Rodríguez y col. La concentración volátil de los vinos dependió del origen geográfico de las astillas empleadas, destacaron los vinos envejecidos con astillas de roble español por su riqueza en aldehídos furánicos y eugenol, los vinos con astillas de roble americano (*Quercus alba*) por sus concentraciones en cis W-lactona y vainillina, y los vinos con roble francés (*Quercus petraea* + *Quercus robur*) por su mayor contenido en siringaldehído y acetovainillona. En general, los vinos tratados con astillas de roble español (*Quercus pyrenaica* Willd. y *Quercus petraea*) mostraron una concentración de compuestos volátiles procedentes de la madera más similar a los vinos tratados con astillas de roble francés (*Quercus petraea* + *Quercus robur*) que con roble americano (*Quercus alba*) (Rodríguez y col., 2009). Es importante destacar la maceración realizada por estos autores, la cual tenía una duración de 60 días frente a los periodos de estudio realizados en la presente Tesis Doctoral, además conviene destacar los resultados obtenidos por estos autores al emplear dos tipos de astillas de roble español (*Quercus pyrenaica* Willd. y *Quercus petraea*), los cuales eran muy diferentes entre sí.

En resumen, la madera de roble americano aportó a los vinos mayor contenido de W-lactonas, eugenol, vainillina y siringaldehído, destacando estos vinos por sus notas a coco y a vainilla. Los vinos envejecidos con madera de roble francés presentaron mayor contenido de guayacol, siringaldehído y acetovainillona. Los vinos con astillas de roble español mostraron mayor contenido en aldehídos furánicos y eugenol, y la madera de roble húngaro cedió más furfural a los vinos.

Los vinos envejecidos con astillas de roble español y francés presentaron una concentración en compuestos volátiles procedentes de la madera más similares que al envejecer con roble americano.

Los vinos envejecidos con astillas de roble portugués (*Quercus pyrenaica*) presentaron mayor contenido de W-lactonas y mayores atributos positivos organolépticos, que al envejecer con roble francés. Teniendo en cuenta el tostado de la madera, las astillas tostadas cedieron a los vinos más eugenol, vainillina, guayacol y derivados del siringol. El envejecimiento con astillas de roble aportó a los vinos mayor intensidad y atributos de tostado, amaderado y vainilla.

Respecto a la importancia del **tamaño del producto**, Arapitsas y su grupo de investigación estudiaron en 2004 el efecto del tamaño de las astillas para el envejecimiento de vinos blancos. Encontraron que el tamaño de la madera influía en la extracción de guayacol, aumentando su extracción con el tamaño de las astillas. La extracción de furfural era muy rápida y progresiva al envejecer con astillas en comparación con barricas, observaron que una maceración del vino de sólo 5-6 días con astillas de roble era necesaria para obtener el mismo nivel que al envejecer el vino con barricas. El contenido de siringaldehído permitió la diferenciación del vino con envejecimiento tradicional y alternativo con astillas, ya que la concentración de este compuesto en el vino era mucho mayor al emplear astillas (Arapitsas y col., 2004).

Además de las maderas de roble empleadas tradicionalmente para la crianza de los vinos, los grupos de investigación de Caldeira y Canas estudiaron el efecto de las tablillas y los tablonos de madera de castaño en el envejecimiento de brandies. Durante el año 2010, Caldeira y su equipo estudiaron el envejecimiento de brandies con madera de castaño (*Castanea sativa*) y roble francés (*Quercus petraea*). Los brandies envejecidos con castaño presentaron tonos topacios más intensos, con un color más evolucionado, menor intensidad amarillo-pajizo, mayores notas a vainilla, caramelo, tostado, café, cuerpo y menor amargor que al envejecer con roble francés, siendo éstos más ricos en ácido butanoico, cis W-lactona y siringol. Los parámetros de color, algún atributo gustativo y los compuestos volátiles procedentes de la madera, eran significativamente diferentes en los brandies envejecidos con trozos de madera de castaño de distinto tamaño. El empleo de tablillas caracterizó a los brandies por presentar menos alcohol y amargor, con notas a tostado, café, tonos verdosos y topacio, mayor contenido en acetovainillona, guayacol, siringol y furfural (no significativo para el furfural), y menor concentración de vainillina, eugenol y cis W-lactona que al emplear barricas. Los brandies envejecidos con tablonos presentaron unas características sensoriales intermedias entre los brandies con barricas y tablillas, los cuales mostraron mayor contenido de vainillina (significativo), 5HMF y 5MF (Caldeira y col., 2010).

Campbell y su equipo analizaron en 2006 el efecto del envejecimiento con astillas y tablonos de roble francés (*Quercus sessilis*) y americano (*Quercus alba*). El contenido de vainillina en los vinos era mayor si se empleaba madera de roble americano, sin embargo el origen del roble no afectó a la concentración de guayacol en los vinos. Durante el proceso de tostado de la madera empleada para el envejecimiento, se observó que el tamaño de la madera también influía en el contenido de compuestos volátiles de la madera, de forma que las piezas de menor tamaño de roble francés y americano generaron durante el proceso de tostado el doble de concentración de guayacol, 4 veces de metil guayacol, y de 2 a 4 veces más de vainillina que al tostar piezas de madera de mayor tamaño (Campbell y col., 2006).

Del Álamo y su grupo de investigación desde el año 2004 realizaron diversos estudios sobre el envejecimiento de vinos tintos con productos alternativos a las barricas (astillas y tablonos). En estos trabajos se observó que los vinos envejecidos con astillas presentaron menor extracto seco, acidez total, polifenoles y antocianos totales, y mayor edad química y pH, además presentaron tonalidades pardas significativamente más altas que los vinos envejecidos con barricas.

El empleo de productos alternativos a las barricas para el envejecimiento de vinos hizo que los vinos presentasen mayor componente azul y amarilla (intensidad colorante) que los vinos envejecidos en barricas. En general, los vinos tratados con tablonos presentaron una evolución intermedia entre los vinos con astillas y barricas. También estudiaron el efecto del origen de la madera en el envejecimiento de vinos con astillas de roble. El vino tratado con astillas sufrió un envejecimiento más rápido, con mayor pérdida de antocianos y un mayor número de polimerizaciones que al envejecer en barricas, además el sistema de envejecimiento afectó significativamente al contenido de compuestos de bajo peso molecular, presentando los vinos con astillas menor contenido de vainillina y de los ácidos gálico, protocatéquico y vainillínico, y mayor concentración de los ácidos cumárico, ferúlico y caféico (Del Álamo y col., 2004a, 2006a). Respecto al origen de la madera, los vinos tratados con astillas de roble húngaro (*Quercus robur*) presentaron menor contenido de ácido gálico, los vinos con astillas francesas

(*Quercus sessilis*) menor contenido de ácido vainillínico, y los vinos con astillas de roble americano (*Quercus alba*) menor contenido de vainillina (Del Álamo y col., 2004a), información que difiere con lo mostrado por Rodríguez en 2009, que destacaron la concentración de vainillina y cis W-lactona de los vinos con astillas de roble americano (*Quercus alba*) (Rodríguez y col., 2009).

En otros trabajos analizaron la composición fenólica de bajo peso molecular, antocianica y los parámetros de color de un mismo vino tratado con astillas y tablones de madera de roble americano (*Quercus alba*), húngaro (*Quercus robur*) y francés (*Quercus sessilis*) (Del Álamo y col., 2004b, 2006b, 2008). La pérdida de antocianos sufrida por los vinos envejecidos con productos alternativos a las barricas y el aumento de la tonalidad parda era mayor en el vino tratado con astillas que en el de tablones, tanto durante el periodo de contacto del vino con la madera como durante el periodo de botella (Del Álamo y col., 2004b, 2006b, 2008). Tras dos años de permanencia en botella, las diferencias entre los diferentes vinos aumentaron, resultando vinos diferentes según el sistema de envejecimiento empleado, independientemente del origen del roble (Del Álamo y col., 2008).

Respecto al origen de roble empleado, los vinos con madera de roble francés (*Quercus sessilis*) y americano (*Quercus alba*) presentaron una concentración similar de antocianos, siendo los vinos con madera de roble húngaro (*Quercus robur*) los que mostraron menor contenido de antocianos. Respecto a los parámetros de color, los vinos más intensos eran los tratados con tablones de roble francés (*Quercus sessilis*) y astillas de roble húngaro (*Quercus robur*) (Del Álamo y col., 2004b).

En resumen, según el tamaño de las astillas para el envejecimiento de los vinos se observó mayor extracción de guayacol al aumentar el tamaño de las astillas de madera. La extracción de furfural y siringaldehído era mayor al envejecer los vinos con astillas que con barricas.

El envejecimiento con tablillas de madera caracterizó a los brandies por presentar menor contenido de alcohol y amargor, definiéndose por notas de tostado, café, con tonos verdosos y topacio, y presentar mayor contenido en acetovainillona, guayacol, siringol y furfural, y menor concentración de vainillina, eugenol y cis W-lactona que al emplear barricas. Los brandies tratados con tablones mostraron mayor contenido de vainillina, 5HMF y 5MF que al emplear barricas o tablillas.

Durante el proceso de tostado, las astillas generaron el doble de guayacol, 4 veces de metil guayacol, y de 2 a 4 veces más vainillina que los tablones. Los vinos con astillas sufrieron un envejecimiento más rápido que al envejecer con tablones o barricas.

El envejecimiento con astillas de roble aportó a los vinos menor extracto seco, acidez total, polifenoles totales, antocianos totales, y mayor edad química y pH, tonalidades más pardas, menor contenido de vainillina, y de los ácidos gálico, protocatéquico y vainillínico, y mayor contenido de los ácidos caféico, *p*-cumárico y ferúlico. Según el análisis sensorial, los vinos con astillas mostraron mayores notas herbáceas y vegetales, y mayor astringencia que al emplear barricas. Los vinos envejecidos con tablones mostraron una evolución intermedia entre los vinos con astillas y barricas de roble.

Tabla 6- Estudios del envejecimiento de vinos y brandies con productos alternativos a las barricas

Autores	Vino	Tamaño madera	Tostado madera	Dosis	Origen	Tiempo de crianza	Compuestos	MOX
Gutiérrez (2002)	Vino blanco	Astillas de roble		4 y 8 g/L	Roble americano y francés		Análisis sensorial	
Ancín y col. (2004)	Vino modelo/ Sintético	Tablillas de roble	Medio		Roble francés ( <i>Q. sessilis</i> ) y americano ( <i>Q. alba</i> )	3,5 meses	Composición volátil	
Arapitsas y col. (2004)	Vino blanco	Astillas de roble	200°C (2 horas)	5 y 40 g/L		14 días	Composición volátil	
Del Álamo y col. (2004a)	Vino tinto D.O. Cigales	Astillas de roble	Medio		Roble americano ( <i>Q. alba</i> ), francés ( <i>Q. sessilis</i> ) y húngaro ( <i>Q. robur</i> )	5 meses	Familias de compuestos fenólicos, edad química, color y compuestos de bajo peso molecular	
Del Álamo y col. (2004b)	Vino tinto D.O. Cigales	Astillas y tablonés de roble	Medio		Roble americano ( <i>Q. alba</i> ), francés ( <i>Q. sessilis</i> ) y húngaro ( <i>Q. robur</i> )	12 meses	Color y composición antociánica	
Campbell y col. (2006)	Vino modelo/ Sintético	Astillas y tablonés de roble	Ligero, medio y fuerte	10 g/L	Roble americano ( <i>Q. alba</i> ) y francés ( <i>Q. sessilis</i> )	24 horas	Composición volátil	
De Coninck y col. (2006)	Vino tinto	Astillas de roble	Medio	4 g/L	Roble portugués ( <i>Q. pyrenaica</i> ) y francés ( <i>Q. petraea</i> )	13 semanas	Familias de compuestos fenólicos, proantocianidinas y antocianos pormenorizados y análisis sensorial	
Del Álamo y col. (2006a)	Vino tinto D.O. Cigales	Astillas y tablonés de roble			Roble americano ( <i>Q. alba</i> )	12 meses	Parámetros básicos y edad química	
Del Álamo y col. (2006b)	Vino tinto D.O. Cigales	Astillas y tablonés de roble	Medio		Roble americano ( <i>Q. alba</i> ), francés ( <i>Q. sessilis</i> ) y húngaro ( <i>Q. robur</i> )	12 meses	Composición antociánica	

Tabla 6- Continuación

Autores	Vino	Tamaño madera	Tostado madera	Dosis	Origen	Tiempo de crianza	Compuestos	MOX
Guchu y col. (2006)	Vino blanco D.O. Mancha	Astillas de roble	Medio	4 g/L	Roble americano ( <i>Q. alba</i> ) y húngaro ( <i>Q. petraea</i> )	25 días	Composición volátil y análisis sensorial	
Del Álamo y col. (2008)	Vino tinto D.O. Cigales	Astillas y tabloncillos de roble	Medio		Roble americano ( <i>Q. alba</i> ), francés ( <i>Q. sessilis</i> ) y húngaro ( <i>Q. robur</i> )	12 meses	Parámetros diferenciadores entre en el envejecimiento tradicional en bodega y el envejecimiento alternativo	
Canas y col. (2009a)	Brandy	Tablillas de roble	Fuerte		Castaño portugués ( <i>Castanea sativa</i> )	360 días	Color y compuestos de bajo peso molecular	3-5 mL/L
Koussissi y col. (2009)	Vino tinto	Astillas de roble	Ligero, medio y fuerte		Roble americano ( <i>Q. alba</i> )	32 días	Composición volátil y análisis sensorial	
Pérez y col. (2009)	Vino tinto D.O. Bierzo y D.O. Ribera del Duero	Astillas de roble	Medio y medio +	4 g/L	Roble francés ( <i>Q. petraea</i> , <i>Q. robur</i> ) y americano ( <i>Q. alba</i> )	30 días	Color, familias de compuestos fenólicos y composición antocianica	2 mL/L-mes
Rodríguez y col. (2009)	Vino tinto	Astillas de roble	Medio y medio +	4 g/L	Roble francés ( <i>Q. petraea</i> y <i>Q. robur</i> ), americano ( <i>Q. alba</i> ) y español ( <i>Q. pyrenaica</i> y <i>Q. petraea</i> )	60 días	Composición volátil	
Caldeira y col (2010)	Brandy	Tabloncillos y tablillas de castaño y roble	Fuerte		Castaño portugués ( <i>Castanea sativa</i> ) y roble francés ( <i>Q. robur</i> )	6 meses	Composición volátil y análisis sensorial	
Ortega y col. (2010)	Vino tinto D.O. Bierzo y D.O. Ribera del Duero	Astillas de roble	Medio y medio +	4 g/L	Roble francés ( <i>Q. petraea</i> + <i>Q. robur</i> ) y americano ( <i>Q. alba</i> )	30 días	Composición fenólica y análisis sensorial	2 mL/L-mes

Tabla 6- Continuación

<b>Autores</b>	<b>Vino</b>	<b>Tamaño madera</b>	<b>Tostado madera</b>	<b>Dosis</b>	<b>Origen</b>	<b>Tiempo de crianza</b>	<b>Compuestos</b>	<b>MOX</b>
Cejudo y col. (2011a)	Vino tinto D.O. Castilla la Mancha	Astillas de roble	Sin tostar	7 g/L	Roble americano ( <i>Quercus alba</i> )	25 días	Composición fenólica y volátil, parámetros cromáticos y análisis sensorial	45 mL/L·mes
Cejudo y col. (2011b)	Vino tinto D.O. Castilla la Mancha	Astillas de roble	Sin tostar	7 g/L	Roble americano ( <i>Quercus alba</i> )	25 días	Composición fenólica y volátil, parámetros cromáticos y análisis sensorial	30 mL/L·mes
Gómez y col. (2012)	Vino tinto D.O. Castilla La Mancha	Astillas de roble	Medio	3 y 6 g/L	Roble americano ( <i>Q. alba</i> ) y francés ( <i>Q. petraea</i> )		Composición volátil y análisis sensorial	
Pizarro y col. (2013)	Vino tinto D.O. Navarra	Astillas de roble	Medio	3 g/L	Roble americano	Hasta 47 días	Análisis sensorial	3 mL/L·mes

Respecto al **grado de tostado** de la madera, el efecto del tipo de tostado de los productos alternativos a las barricas (astillas) en las propiedades del vino fue estudiado en 2009 por Koussissi. Los vinos envejecidos con astillas de tostado medio y fuerte resultaron más maderizados y vegetales, con notas a ahumados, amargos y astringentes, mientras que las notas más dulces se presentaron en los vinos con astillas de tostado ligero. Las mayores concentraciones de furfural y cis W-lactona se encontraron en los vinos con astillas de tostado medio, seguidos de los envejecidos con tostado fuerte y ligero (Koussissi y *col.*, 2009).

Respecto a **la dosis y el momento de la adición** de la madera, el grupo de investigación de Gómez estudió la composición volátil y el análisis sensorial de vinos envejecidos con astillas de una mezcla de roble americano (*Quercus alba*) y francés (*Quercus petraea*) (Gómez y *col.*, 2012).

El momento de la adición y la dosis de astillas empleada afectaron a la composición sensorial y volátil de los vinos estudiados.

Respecto a la dosis de astillas empleadas, los vinos con una dosis de 6 g/L de astillas presentaron significativamente mayor contenido de eugenol, isoeugenol, 4-etilguayacol, siringol, vainillina, etil vainillato, acetovainillona, 2-propiovainillona, butirovainillona, propiovainillona, siringaldehído, W-lactonas, furfural y 5MF que al emplear 3 g/L de astillas.

En función del momento de la adición de la madera, observaron que cuando la dosis de astillas se añadía durante la fermentación alcohólica, los vinos mostraban mayores concentraciones de los etil ésteres de cadena lineal (butanoato de etilo, hexanoato de etilo, octanoato de etilo y decanoato de etilo), 4-etilfenol, alcoholes superiores (isobutanol, 2-metil 1-butanol, 3-metil 1-butanol y 2-feniletanol) y etil, hexil e isoamil acetatos que el vino control. El perfil sensorial de estos vinos fue en general similar al vino control con notas de especias dulces, vainilla y maderizado. En general, las mayores concentraciones de succinato de dietilo, lactato de etilo, 4-etilguayacol, eugenol, isoeugenol, vainillina, W-lactonas y compuestos furánicos se encontraron en los vinos a los que se les añadió la dosis de madera durante la fermentación maloláctica. Cuando la dosis de astillas se añadió durante la fermentación maloláctica, los vinos mostraban menores notas de frutas rojas, frescor, florales y lichie, sin embargo presentaban mayores atributos de especias dulces, vainilla, coco y maderizado. Los vinos tratados con astillas justo después de la fermentación maloláctica, presentaron un perfil olfativo similar que los vinos tratados con astillas durante la fermentación maloláctica, en general con menor intensidad en compuestos procedentes de la madera (maderizado, vainilla y coco), aunque con mayores notas de frutas rojas, florales y lichie. De forma general, el empleo de astillas para el envejecimiento incrementó la astringencia de los vinos. Respecto a la dosis de astillas empleadas, se observaron mayores notas de maderizado, coco, vainilla y especias dulces al emplear 6 g/L de astillas en lugar de 3 g/L (Gómez y *col.*, 2012).

#### **1.4. La micro-oxigenación durante el envejecimiento de vinos**

La cantidad de oxígeno que presenta un vino almacenado en un depósito de acero inoxidable independientemente de su tamaño es muy baja, aproximadamente entre 0,03 y 0,05 mg/L (Ortega y *col.*, 2007). Sin embargo, esta cantidad de oxígeno aumenta en las operaciones que se realizan durante el proceso de elaboración del vino. Estas operaciones incluyen: remontados (sobre 2 mg/L), trasiegos (hasta 6 mg/L), filtración (4-7 mg/L), centrifugación

(hasta 8 mg/L) y embotellado (0,5-3 mg/L) (Du toit, 2006). Además es importante tener en cuenta que durante el envejecimiento en bodega se produce una micro-oxigenación a través de los poros de la madera, de las duelas o de la boca de la bodega (20-45 mg/L·año), la cantidad de oxígeno que entra a través de una bodega va a depender del tipo de madera y de la edad de la bodega, siendo importante la porosidad, espesor, humedad y el tamaño del poro de las duelas (Du toit, 2006; Ortega y col., 2007).

Las técnicas del envejecimiento alternativo implican la adición de trozos de madera de roble al vino, pero además en la mayoría de los casos se debe suministrar una leve micro-oxigenación (MOX), simulando el proceso del envejecimiento de los vinos en bodegas de roble.

La micro-oxigenación es una técnica moderna que aporta de forma lenta y controlada el oxígeno necesario durante el envejecimiento. Cada vino tiene unas necesidades de oxígeno diferentes, reaccionado de manera distinta según las condiciones del medio, de forma que no es posible definir una dosis de oxígeno. Gracias al aporte de pequeñas dosis de oxígeno se produce en el vino una estabilización de la materia colorante en vinos tintos (fomentando la combinación antociano-tanino), polimerización tánica (descenso de la astringencia en el vino) y una exaltación de los aromas, es decir se producen vinos con mayor cuerpo y estructura, sin excesiva astringencia, con una reducción de los caracteres herbáceos o vegetales y mayor potencia de los aromas afrutados y varietales.

El aporte de estas pequeñas dosis de oxígeno se debe realizar de forma equilibrada, evitando una acumulación en el medio, siendo fundamental conseguir un equilibrio entre el oxígeno que entra y el que se consume (Paul y col., 2002; Iñesta y col., 2005; Iñesta, 2006; Du toit, 2008; Devatine y col., 2009).

Para conocer la concentración molar o masa de oxígeno disuelto es preciso tener el coeficiente de solubilidad para la presión y la temperatura, el cual está dado por la ley de Henry, que enuncia que la concentración del gas disuelto en un líquido es proporcional a la presión parcial de este gas sobre el líquido (Moutounet y col., 2001)..

La presión parcial del oxígeno ( $P_{O_2}$ ) es igual a la constante de Henry del oxígeno (H) por la concentración del oxígeno al equilibrio ( $C^*$ ).

$$P_{O_2} = H \cdot C^*$$

La solubilidad o la concentración de saturación es la concentración del gas individual en la fase líquida con una composición al equilibrio, presión y temperatura conocida. El coeficiente de solubilidad H va en función de la temperatura y depende de la naturaleza de la fase líquida. La concentración de oxígeno disminuye con la temperatura, pero además la concentración de oxígeno varía con la proporción de etanol de la solución hidroalcohólica (Moutounet y col., 2001).

La correspondencia entre mL/L y mg/L se calcula teniendo en cuenta que un mol de oxígeno de masa 32 ocupa un volumen de 22,4 litros (Moutounet y col., 2001).

El aporte de oxígeno al vino puede ocasionarle cambios positivos, como mayor densidad de color (intensidad colorante), descenso de la astringencia, de los aromas verdes/vegetales, de los aromas de reducción y de los costes de producción. Algunos de estos cambios han sido comprobados, sin embargo otros deben ser justificados científicamente (Du toit, 2008).

La micro-oxigenación puede ser aplicada al vino en diferentes momentos:

- Durante la fermentación alcohólica (FA) en mostos blancos y tintos.  
La aplicación de oxígeno durante este periodo favorece el crecimiento de las levaduras evitando largas y lentas fermentaciones (Ortega y *col.*, 2007).
- Desde el final de la fermentación alcohólica hasta el inicio de la fermentación maloláctica (FML).  
Durante este momento la micro-oxigenación parece ser más efectiva en la mejora de la estructura del vino, ya que los taninos y antocianos están todavía en formas simples monoméricas (Gómez y *col.*, 2011). El efecto de la micro-oxigenación es más efectiva en vinos jóvenes justo después de la finalización de la fermentación maloláctica, especialmente en el desarrollo del color, sin embargo en vinos en los que hayan pasado más de seis meses después de la FML, la micro-oxigenación se puede utilizar de forma eficaz para disminuir aromas azufrados no deseados (Du Toit, 2008).
- Durante el periodo de envejecimiento del vino.

El oxígeno tiene dos efectos sobre el vino:

- Fenómeno físico: Se produce una disolución del oxígeno en el vino.
- Fenómeno químico: Se origina una combinación del oxígeno con los compuestos del vino.

Es importante el control de una serie de parámetros que pueden afectar a la disolución y combinación del oxígeno en el vino. La adición de anhídrido sulfuroso influye en el consumo del oxígeno. El anhídrido sulfuroso libre consta de la forma molecular, bisulfito y sulfito. El consumo de oxígeno en los mostos desciende drásticamente con la adición de anhídrido sulfuroso, esto es debido a que el  $\text{SO}_2$  no tiene un efecto anti-oxidante en el mosto, porque antes inhibe la oxidación de las enzimas. En el vino, además tienen lugar oxidaciones químicas, y es principalmente la forma sulfito del  $\text{SO}_2$  la que puede reaccionar con el oxígeno, pudiendo precipitar parte del  $\text{SO}_2$  como sulfatos disminuyendo el  $\text{SO}_2$  libre, aunque con las condiciones de la vinificación (bajo pH y altos niveles de etanol) tiene lugar de forma moderada (Du toit, 2006). Es importante considerar que la micro-oxigenación puede aumentar el crecimiento de organismo aeróbicos, por lo que una cantidad mínima de  $\text{SO}_2$  es necesaria para proteger el vino contra la población microbiana (Gómez y *col.*, 2011).

La temperatura del vino también influye en la disolución del oxígeno en el vino y en la velocidad de las reacciones de oxidación, con mayor disolución del oxígeno a menores temperaturas (figura 27). Con temperaturas entre 5 y 35°C la cantidad de oxígeno necesaria para saturar el vino cae de 10,5 mg/L a 5,6 mg/L. Si la temperatura es demasiado alta llevará a una pobre disolución del oxígeno, y si es muy baja la temperatura hay que tener en cuenta que se reduce el consumo de oxígeno, es decir que las reacciones químicas en las que interviene se realizarán demasiado despacio y se producirá una acumulación del oxígeno en el vino. Por ello es muy importante mantener una temperatura adecuada, en la que exista en equilibrio entre ambos factores, por tanto la temperatura óptima del tratamiento de micro-oxigenación debe estar en torno a los 16°C. Los tanques deben ser rellenados completamente, ya que un espacio en la cabeza del tanque puede conducir a una acumulación de oxígeno en esta zona e incluso a un crecimiento de bacterias acéticas (Ortega y *col.*, 2007; Du toit, 2006, 2008; Gómez y *col.*, 2011).

El oxígeno disuelto no se combina directamente con las sustancias reductoras del vino, como son los compuestos fenólicos, sino que necesita catalizadores como las sales férricas. En ausencia de hierro (Fe) y cobre (Cu) el oxígeno es incapaz de combinarse con las sustancias reductoras del vino (Iniesta *y col.*, 2005; Iniesta, 2006).

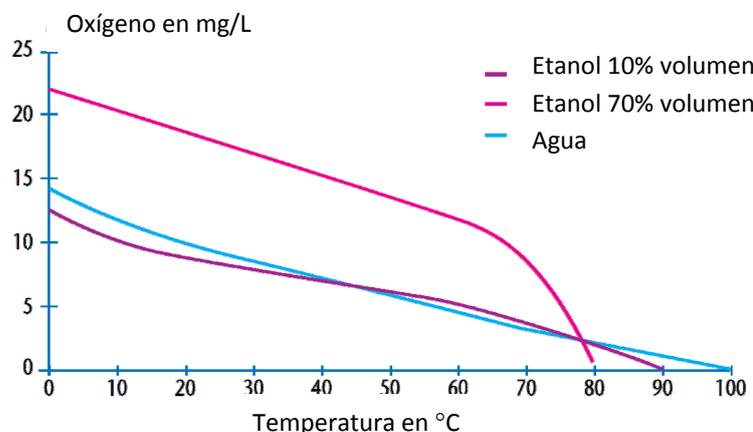


Figura 27- Solubilidad del oxígeno en medios hidroalcohólicos dependiendo de la temperatura a la presión atmosférica (fuente: Moutounet *y col.*, 2001)

La dosis de oxígeno a aplicar dependerá del objetivo del tratamiento e incluso dependerá de la estructura, el carácter y el potencial del vino a micro-oxigenar, siendo fundamental considerar la composición fenólica del vino, al ser los compuestos fenólicos los principales consumidores del oxígeno (60%), junto con el etanol (20%) y anhídrido sulfuroso (12%). Debido a que los beneficios de la micro-oxigenación están relacionados con las reacciones de los polifenoles, es importante analizar el contenido fenólico del vino, siendo además importante la relación entre los antocianos y taninos. La aplicación de la micro-oxigenación es apropiada en vinos con un alto contenido fenólico, en general los vinos micro-oxigenados presentan un alto porcentaje de nuevos pigmentos derivados de los antocianos, por lo que esta formación de nuevos pigmentos estará más favorecida en los vinos que presenten el mayor contenido fenólico. Además es importante que el vino a micro-oxigenar presente un equilibrio entre antocianos y taninos, ya que si el contenido de antocianos es superior al de taninos existirá riesgo de oxidación, y si el vino presenta mayor contenido de taninos que de antocianos, la micro-oxigenación favorecerá la polimerización de los taninos, de forma que el vino presentará mayores tonalidades amarillas y mayor astringencia (Iniesta *y col.*, 2005; Iniesta, 2006; Du toit, 2008; Gómez *y col.*, 2011).

#### 1.4.1. Técnica de la micro-oxigenación

A continuación, muy brevemente se pasan a comentar algunos aspectos de esta técnica que suele acompañar al tratamiento de los vinos con productos alternativos. Se trata de un proceso muy interesante e importante, que requiere especial atención por parte del operador. Sin embargo, teniendo en cuenta que no es el objeto de esta memoria, únicamente se mencionan los aspectos más relevantes.

La micro-oxigenación es una técnica que nació en 1993 en Maridan (Francia), fruto de las experiencias de Ducournau y Laplace, y a partir de ese momento se ha extendido a muchas

regiones vitivinícolas. Tras estas experiencias, y gracias a investigaciones y colaboraciones como la de Michael Moutounet, Director de la Unidad de Investigación de Biopolímeros y Aromas del Instituto de productos de la vid del INRA (Montpellier), cinco años después se puso a punto el sistema (Zamora, 2003).

Existen diferentes tecnologías de micro-oxigenación, pasivas y activas. En este caso se ha empleado una micro-oxigenación activa ya que el oxígeno es aportado al vino mediante unos difusores, formados por una cerámica porosa, la cual está protegida por un cuerpo de acero inoxidable. A través de los micro-oxigenadores se programa directamente por autómatas la dosis a aplicar y el volumen de vino (figura 28).



Figura 28- Micro-oxigenador y difusor cerámico para el aporte de oxígeno al vino (fuente: www.oenodev.com, fecha de consulta: octubre 2012)

Es importante evitar la acumulación de oxígeno disuelto en el vino, para ello el vino debe recibir una cantidad de oxígeno inferior a la que es capaz de consumir. En el caso de emplear una dosificación de oxígeno mediante cerámicas, es importante tener en cuenta la altura de los tanques donde se realice el envejecimiento del vino y el diámetro de las burbujas del oxígeno aportado, de forma que estas micro-burbujas tengan el tiempo suficiente para su disolución completa en el vino (Devatine y col., 2009) (figura 29).

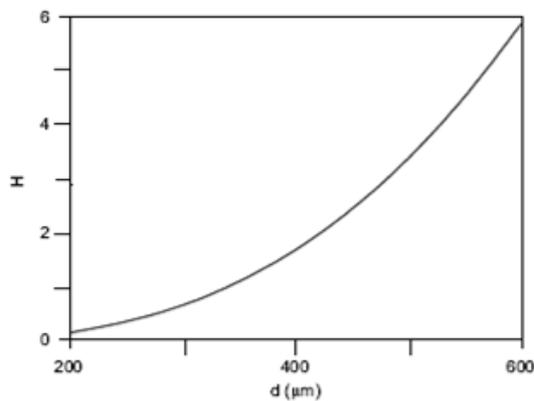


Figura 29- Modelo de micro-oxigenación considerando la altura del líquido H correspondiente a la transferencia total de oxígeno ( $Y_{O_2}=1$ ) en función del diámetro de la burbuja (fuente: Devatine y col., 2009)

La micro-oxigenación presenta unos cambios positivos en los vinos (Du toit, 2008; Gómez y col., 2011):

- Aumentar la densidad y estabilización del color.
- Descenso de la astringencia.

- Mejora del aroma, sabor y estructura de los vinos y descenso de aromas verdes, vegetales y de compuestos azufrados de reducción no deseados.
- Al emplearse con productos alternativos a las barricas, la micro-oxigenación imita el envejecimiento en barricas de roble.
- Descenso de costes de producción.

Existen una serie de aplicaciones principales de la micro-oxigenación (Hidalgo, 2003; Iñiesta, 2006; Ortega *y col.*, 2007; Gómez *y col.*, 2011).

- Activación de la fermentación alcohólica por multiplicación de las levaduras y síntesis de esteroides y ácidos grasos insaturados de cadena larga, mediante la aplicación de 4 a 10 mL de oxígeno por litro, repartido en 1 o 2 días, aplicándolo durante la fase de mayor desarrollo de las levaduras.
- Mejora de las condiciones medio ambientales de las levaduras. Una correcta adición de oxígeno puede conferir mayor resistencia al etanol y mayor actividad fermentativa, evitando de esta forma las fermentaciones largas y las reacciones secundarias no deseadas que puedan dar lugar a la formación de compuestos organolépticamente indeseados. La dosis de oxígeno a aplicar durante este periodo varía entre 4 y 12 mL de oxígeno por litro de mosto. La micro-oxigenación se realiza en una sola aplicación, durante aproximadamente el segundo o tercer día desde el inicio de la fermentación alcohólica.
- Crianza sobre lías de vinos blancos o tintos situados en depósitos, de forma que se va a buscar un efecto similar a la fermentación en barrica, donde el oxígeno compensa el poder reductor de las lías, permitiendo la autólisis de las levaduras sin la aparición de olores azufrados desagradables, y aumentando la untuosidad, grasa, cuerpo y volumen en boca. El oxígeno aplicado en este caso se sitúa entre 1-3 mL/L-día.
- Condensación entre antocianos y taninos antes de la fermentación maloláctica, el objetivo principal es la estabilización del color del vino tinto y una mejora de las características sensoriales en boca. El aporte de oxígeno en este caso es de 10 a 25 mL/L-mes, variando en función de la estructura del vino.
- Reducción de aromas vegetales y de reducción. La aparición de aromas de reducción en algunos vinos es un serio problema, los cuales son provocados por compuestos azufrados. El oxígeno puede controlar este problema, ya que cuando es añadido al mosto en fermentación ayuda a limitar el impacto negativo de los compuestos azufrados, al asegurar la salubridad de las levaduras y la mejora de su eficiencia de asimilación de nitrógeno y al aumentar el potencial redox del vino.  
Algunos compuestos azufrados como los tioles contribuyen al carácter vegetal presentado en los vinos, el oxígeno aplicado puede reducir estos aromas mediante la oxidación de algunos tioles.
- Hiperoxidación controlada de mostos blancos.
- Aumento de la estructura en boca y redondez del vino mediante la combinación de micro-oxigenación y los taninos del vino.
- Aplicación en barricas viejas que hayan perdido en parte su capacidad de micro-oxigenar. La dosis de oxígeno varía de 1 a 3 mL/L-mes.

- Envejecimiento de vinos tintos en depósitos con productos alternativos a las barricas. Esta técnica imita el envejecimiento del vino en barricas de roble, simplificando el proceso de envejecimiento y asegurando que los compuestos volátiles procedentes de la madera de roble son liberados al vino y el color es estabilizado mediante una lenta absorción del oxígeno. La dosis de oxígeno será diferente en función del tipo de vino, variando entre 1-6 mL/L-mes, durante un periodo de 1 a 4 meses, dependiendo del objetivo a conseguir. La micro-oxigenación durante este periodo favorece la polimerización de los compuestos, la estabilidad de la materia colorante, la disminución de la astringencia y a su vez aporta al vino aromas y compuestos procedentes de la madera los cuales darán complejidad y mejorarán sensorialmente al vino.

#### 1.4.2. Efectos de la micro-oxigenación durante el envejecimiento de vinos

El oxígeno aportado a los vinos durante su envejecimiento alternativo reacciona, se combina con los componentes del vino, y disminuye hasta niveles muy bajos (10 µg/L). Durante el envejecimiento, la cinética de disolución del oxígeno es inferior a la cinética de consumo, de forma que las concentraciones de oxígeno en el interior de los depósitos con productos alternativos a las barricas es muy baja, con un intervalo promedio de 10 a 40 µg/L (Nevares y col., 2008).

Con la micro-oxigenación en el envejecimiento de vinos con productos alternativos se intenta reproducir principalmente la estabilización del color y la disminución de la astringencia, propia de los vinos en barricas. La aplicación de una dosis de oxígeno durante 3-5 meses en vinos muy astringentes, permite un descenso de la astringencia en el vino, la cual no es debido a los procesos de precipitación, sino a la evolución de los compuestos fenólicos, sobre todo los taninos.

Las dosis de oxígeno empleadas durante el envejecimiento de los vinos deben ser cuidadosamente manejadas con el fin de obtener el efecto deseado, evitando una alta oxidación del vino. Existen muy pocos trabajos en los que se evalúa la relación entre el oxígeno consumido (OC) y los efectos en el vino. La mayoría de los trabajos analizan los efectos en las propiedades de los vinos, sin estudiar el oxígeno consumido.

Durante los años 2008 y 2009, Nevares y su equipo de investigación estudiaron la medida del oxígeno disuelto en vinos envejecidos con barricas y con productos alternativos a las barricas y micro-oxigenación. En función de los diferentes sistemas de envejecimiento, se observó mayor consumo de oxígeno en los vinos envejecidos con barricas de roble que con productos alternativos a las barricas (astillas y tablones) independientemente del origen de la madera, siendo los vinos con astillas los que menor oxígeno consumieron. Y respecto a la procedencia del roble, el mayor consumo de oxígeno se encontró en los vinos tratados con madera de roble francés (*Quercus sessilis*) frente a los vinos con roble americano (*Quercus alba*). En relación con el oxígeno consumido y disuelto en los vinos, la evolución de los compuestos del vino se relacionó de forma significativa con el oxígeno consumido, al estar fuertemente relacionado con las variables potasio, extracto seco y pH cuando se envejece el vino con astillas de roble americano y con los taninos al envejecer con astillas de roble francés. El contenido de polifenoles totales y el oxígeno disuelto influyó significativamente en los vinos tratados con

astillas de madera americana. El consumo de oxígeno también influyó en los vinos envejecidos con tablonos, estando relacionado significativamente con el contenido de catequinas, polifenoles poco polimerizados y extracto seco al envejecer con madera de roble francés o americano. Además el consumo de oxígeno también influyó significativamente en el contenido de taninos en los vinos con tablonos de roble americano. El oxígeno disuelto afectó significativamente a la concentración de antocianos y componentes cromáticos de los vinos con tablonos de roble francés, y al color en los vinos con tablonos de madera americana. El grado alcohólico y la densidad relativa de los vinos envejecidos con barricas de roble francés y el contenido de polifenoles totales, polifenoles muy polimerizados y el extracto seco en los vinos de barricas de *Quercus alba* estuvieron relacionados con el oxígeno consumido, aunque las correlaciones entre las variables analizadas y el oxígeno consumido eran más significativas en los vinos envejecidos con productos alternativos que con barricas (Nevares y col., 2008).

La evolución del oxígeno disuelto y consumido en los vinos envejecidos con astillas de roble francés (*Quercus sessilis*) de diferentes tostados fue similar durante todo el envejecimiento. Durante los dos primeros meses de envejecimiento, los vinos con astillas de tostado ligero presentaron los mayores niveles de oxígeno consumido, sin embargo hasta el final del envejecimiento el mayor consumo de oxígeno fue observado en los vinos con astillas de tostado medio, seguido de los vinos de las astillas con tostado fuerte (Nevares y col., 2009).

Durante el año 2009 el equipo de Pérez estudió la influencia del origen de la madera de roble, el tratamiento de micro-oxigenación, y la variedad de uva sobre el color y la composición fenólica y antociánica de vinos tintos. La variedad de uva y la micro-oxigenación aplicada a los vinos eran los factores con mayor influencia sobre la composición fenólica y color de los vinos envejecidos con astillas de diferentes orígenes (Pérez y col., 2009) (tabla 6).

Los resultados obtenidos por Ortega en el año 2010 indicaron que el envejecimiento de vinos con astillas de roble y micro-oxigenación era una buena alternativa para la elaboración de vinos jóvenes con notas de envejecimiento, siendo similar al envejecimiento de vinos en barricas nuevas durante un corto periodo de tiempo (3 meses). Los vinos envejecidos con astillas y micro-oxigenación presentaron una composición fenólica, características cromáticas y ligeras notas de envejecimiento en nariz y boca similares a los vinos envejecidos con barricas durante 3 meses. Las mayores diferencias entre los vinos envejecidos con fragmentos de roble y los vinos envejecidos con barricas se encontraron en algunos compuestos antociánicos, aunque algunos parámetros cromáticos como la intensidad colorante, la tonalidad, el porcentaje de azules y de rojos también permitieron la diferenciación de los vinos según el sistema de envejecimiento (Ortega y col., 2010) (tabla 6).

En el año 2011 el grupo de investigación de Cejudo estudió el efecto de la micro-oxigenación en vinos tintos D.O. Castilla la Mancha (variedades Merlot y Petit Verdot) sobre la composición fenólica y volátil, los parámetros cromáticos y el análisis sensorial antes y después de la fermentación maloláctica y después de su envejecimiento con astillas de roble americano sin tostar (Cejudo y col., 2011a-b) (tabla 6).

El tratamiento de la micro-oxigenación no afectó a los parámetros básicos estudiados en los vinos D.O. Castilla la Mancha de las variedades Merlot y Petit Verdot (Cejudo y col., 2011a-b).

Respecto a la composición fenólica, la micro-oxigenación produjo un significativo incremento en el grado de polimerización y un descenso significativo en el grado de copigmentación de los compuestos fenólicos de los vinos analizados de las variedades Petit Verdot y Merlot después de la fermentación maloláctica y tras el envejecimiento con astillas (Cejudo y *col.*, 2011a-b).

En general, el contenido global de los derivados del ácido hidroxicinámico, 3-flavanoles y flavonoles en los vinos Petit Verdot y Merlot no estuvieron afectados significativamente por el tratamiento de la micro-oxigenación (Cejudo y *col.*, 2011a-b). En los vinos de la variedad Petit Verdot después de la fermentación maloláctica y tras su envejecimiento con astillas, se observaron descensos significativos en las concentraciones de catequina, epicatequina, miricetina 3-glucósido, siringetina 3-glucósido e isorhamnetina 3-glucósido (Cejudo y *col.*, 2011a), mientras que los vinos micro-oxigenados de la variedad Merlot presentaron un descenso significativo en el contenido de ácido gálico, catequina y epicatequina después de la fermentación maloláctica y tras su tratamiento con astillas (Cejudo y *col.*, 2011b).

Los antocianos fueron los principales compuestos fenólicos afectados por el tratamiento de la micro-oxigenación, se observó un descenso en las concentraciones de los antocianos monoméricos en los vinos Petit Verdot y Merlot tras la aplicación de la micro-oxigenación, siendo este descenso mayor después de la fermentación maloláctica y tras el tratamiento con astillas (Cejudo y *col.*, 2011a-b). La adición de oxígeno en el vino tinto Petit Verdot aumentó las concentraciones de los antocianos etil 3-flavanoles y vitisinas tipo A (significativo), especialmente tras el tratamiento de la micro-oxigenación (Cejudo y *col.*, 2011a), mientras que en los vinos Merlot se observó un descenso significativo en el contenido de los hidroxifenil-piroantocianos, la vitisina A y su derivado acetilado en los vinos micro-oxigenados envejecidos con astillas de roble (Cejudo y *col.*, 2011b).

Respecto a los parámetros cromáticos, se observó mayor tonalidad y componente naranja (mayor valor de  $b^*$ ) en los vinos tintos Petit Verdot micro-oxigenados (Cejudo y *col.*, 2011a), sin embargo los vinos micro-oxigenados de la variedad Merlot mostraron significativamente menor tonalidad y componente amarilla (Cejudo y *col.*, 2011b).

En lo referente a los compuestos volátiles de los vinos tintos Petit Verdot D.O. Castilla la Mancha, se observó menor contenido de 3-metiltilio 1-propanol especialmente tras el envejecimiento con astillas, y de los ésteres etil acetato, hexil acetato, etil decanoato y dietil succinato tras el tratamiento de micro-oxigenación de los vinos. Las mayores diferencias en el contenido de ésteres, alcoholes y ácidos en los vinos debido a la adición de oxígeno se produjeron tras la adición de astillas de roble (Cejudo y *col.*, 2011a).

La liberación de compuestos procedentes de la madera de roble aumentó el contenido de los compuestos bencénicos butirovainillona, 4-vinilguayacol, ácido benzóico y 3,4-dimetoxi fenol en los vinos micro-oxigenados (Cejudo y *col.*, 2011a).

La adición de oxígeno en los vinos tintos de la variedad Merlot provocó diferencias significativas en las concentraciones de algunos compuestos volátiles. Se observaron contenidos significativamente menores del etil cinamato, 3 metiltio 1-propanol, dietil monosuccinato, ácido acético, 2- feniletanol y acetovainillona en los vinos micro-oxigenados y analizados después de la fermentación maloláctica. Tras la adición de astillas de roble se observaron mayores concentraciones de vainillina, ácido benzóico, fenol, 4-vinilguayacol y acetovainillona, siendo el contenido de ácido benzóico significativamente menor en los vinos micro-oxigenados (Cejudo y *col.*, 2011b).

Respecto al análisis sensorial, los vinos Petit Verdot micro-oxigenados presentaron un significativo descenso en el atributo verdor, no siendo detectado en los vinos tratados con astillas, y un aumento de las notas de tabaco y de avellana (Cejudo y *col.*, 2011a).

Los vinos de las variedades Merlot y Petit Verdot envejecidos con astillas de roble americano mostraron notas de vainilla y maderizado, aunque la micro-oxigenación en estos vinos causó un significativo descenso de estos atributos (Cejudo y *col.*, 2011a-b). El tratamiento de la micro-oxigenación en los vinos tintos Petit Verdot y Merlot redujo el amargor y la astringencia de los vinos tras la aplicación del oxígeno, no siendo significativas estas diferencias en los vinos después de la fermentación maloláctica y el tratamiento con astillas de roble (Cejudo y *col.*, 2011a-b).

Canas y su grupo de investigación estudiaron en el año 2009 el efecto de la micro-oxigenación en el envejecimiento de brandies. Los brandies con tablillas y micro-oxigenación presentaron mayor índice de polifenoles totales (IPT), menor extracto seco y una concentración de los compuestos fenólicos de bajo peso molecular extraídos de la madera ligeramente inferiores que los brandies sin micro-oxigenación, siendo estas diferencias significativas para los ácidos gálico y vainillínico (Canas y *col.*, 2009a) (tabla 6).

El equipo de investigación de Cano, estudió durante 2007 el efecto de la micro-oxigenación sobre las características cromáticas y perfil antociánico de un mismo vino envejecido con barricas de roble o en botella. Las mejoras cromáticas obtenidas en los vinos al aplicar micro-oxigenación se mantuvieron después del envejecimiento en madera o en botella. Los vinos experimentaron un aumento de la intensidad colorante durante su crianza en barricas de roble, lo cual era debido probablemente a la disolución del oxígeno y a la presencia de elagitaninos que favorecían la formación de compuestos poliméricos rojo-azulados, mientras que los vinos envejecidos en botella sufrieron un descenso en el color, aunque se observó que los vinos con micro-oxigenación mostraban mayor intensidad colorante que el vino control. Además los vinos sin madera mostraron mayor matiz y menor contenido de compuestos resistentes a la decoloración por SO<sub>2</sub> que los vinos envejecidos en roble, lo que indicó que la formación de estos compuestos era favorecida por condiciones de oxidación (envejecimiento en barricas) (Cano y *col.*, 2007).

Durante el año 2013, Pizarro y su grupo estudiaron el análisis sensorial de dos vinos tintos D.O. Navarra tratados con astillas de roble americano de tostado medio y micro-oxigenación (3 mL/L-mes). En el primer ensayo observaron diferencias significativas en los atributos afrutados, vainilla, maderizado, tabaco, herbáceo, astringencia y sequedad. Durante la maceración del vino con astillas y micro-oxigenación aumentó progresivamente la intensidad de todos los descriptores relacionados con la interacción vino-madera, mientras que la frutalidad descendió gradualmente durante el estudio. El contacto con astillas aportó al vino fuertes notas de vainilla y tabaco. Los atributos astringencia, herbáceo y sequedad no mostraron una tendencia uniforme durante el envejecimiento, observaron que la astringencia y sequedad aumentaron más o menos sostenidamente con el envejecimiento, mostrando un descenso en el último muestreo (a los 41 días de envejecimiento). El atributo herbáceo mostró un comportamiento similar pero opuesto, al disminuir con el envejecimiento, registrando un

repunte final en su intensidad en el último muestreo. Estas tendencias irregulares observadas en estos 3 parámetros se debieron a los efectos antagonistas del envejecimiento del vino con astillas y micro-oxigenación. En el segundo ensayo realizado observaron diferencias significativas en los atributos afrutado, vainilla, maderizado, tabaco, herbáceo y sequedad. Observaron un aumento de las notas de vainilla, maderizado y tabaco, y un descenso del carácter afrutado y herbáceo en los vinos (Pizarro y col., 2013) (tabla 6).

Los efectos de la interacción del vino con la madera se desarrollaron de forma más intensiva y rápida en el primer ensayo, las diferencias que observaron entre el primer y segundo ensayo se han podido deber a la diferente matriz del vino y a los efectos de interacción derivados de las diferencias de la composición entre los dos vinos empleados (Pizarro y col., 2013).

En resumen, el tratamiento de micro-oxigenación en los vinos ha sido uno de los factores más influyentes en la composición fenólica y parámetros cromáticos de los vinos envejecidos con productos alternativos a las barricas, tanto durante el envejecimiento con la madera como durante su estancia en botella. Se observó que el envejecimiento de vinos con astillas y MOX fue una buena alternativa a la crianza tradicional con barricas, al obtener vinos jóvenes con un envejecimiento ligero, los cuales mostraron una composición fenólica, parámetros de color y ciertas notas de envejecimiento similares a los vinos envejecidos durante tres meses con barricas de roble.

El grado de tostado de la madera no afectó significativamente al consumo de oxígeno de los vinos, ya que la evolución del oxígeno disuelto y consumido en los vinos con astillas de diferente tostado de roble francés fue similar en todo el envejecimiento. Se observó un mayor consumo de oxígeno en los vinos con astillas de tostado ligero al inicio del envejecimiento, sin embargo posteriormente el mayor consumo de oxígeno correspondió a los vinos tratados con madera de tostado medio, seguido de los vinos con astillas de tostado fuerte.

Respecto al consumo del oxígeno, los vinos envejecidos con barricas de roble consumieron más oxígeno que los vinos tratados con productos alternativos a las barricas (astillas y tablonos). Los vinos envejecidos con astillas de roble y micro-oxigenación fueron los que menor consumo de oxígeno presentaron.

Según el origen del roble, los vinos envejecidos con roble francés consumieron más oxígeno que los vinos envejecidos con roble americano. Se observó una relación significativa entre el oxígeno consumido y disuelto en los vinos con la evolución de los compuestos del vino, siendo más significativas las correlaciones entre las variables analizadas y el oxígeno consumido en los vinos tratados con productos alternativos que en los vinos envejecidos en barricas.

La micro-oxigenación aplicada a los vinos tintos Petit Verdot y Merlot antes de la fermentación maloláctica produjo un aumento del grado de polimerización y un descenso significativo en el grado de copigmentación de los compuestos fenólicos.

Los vinos Petit Verdot micro-oxigenados mostraron mayor tonalidad debido a las mayores concentraciones de piroantocianos y aductos formados por la reacción entre los antocianos y 3-flavanoles, sin embargo la aplicación de oxígeno provocó en los vinos Merlot menor tonalidad, presentando menor contribución a la componente amarilla (menor valor de  $b^*$ ) y a la componente roja (menor valor de  $a^*$ ).

En general, los vinos de las variedades Merlot y Petit Verdot micro-oxigenados presentaron menor concentración de compuestos volátiles que los vinos control.

Respecto al análisis sensorial, los vinos Petit Verdot micro-oxigenados mostraron mayores notas de tabaco y avellana, y menor amargor y astringencia, aunque el atributo maderizado se redujo significativamente. Los vinos de la variedad Merlot micro-oxigenados presentaron nuevas notas de fruta dulce y avellana, y aumentaron los atributos de fruta roja y especiados, mejorando la calidad de su aroma, sin embargo al igual que en los vinos Petit Verdot las notas de vainilla y maderizado se redujeron significativamente.

El efecto de la micro-oxigenación también ha sido estudiado en brandies. Los brandies envejecidos con tablillas y MOX presentaron mayor contenido en polifenoles totales, menor extracto seco y menor concentración de compuestos fenólicos de bajo peso molecular procedentes de la madera, que los brandies sin micro-oxigenación.

## 1.5. Los compuestos fenólicos del vino

Los compuestos fenólicos son componentes muy importantes del vino, debido a sus propiedades sensoriales. Son los responsables en los vinos tintos del color, el sabor, la astringencia y el amargor, directamente o por la interacción con proteínas, polisacáridos u otros compuestos fenólicos. Además son importantes en la higiene de los alimentos debido a sus efectos bactericidas y consecuentemente son esenciales en la calidad de los vinos (Haslam, 1974; Glories, 1984a; Shahidi y col., 1995).

Desde el punto de vista químico, los compuestos fenólicos se caracterizan por la presencia de un anillo bencénico que lleva uno o varios grupos hidroxilos (Valls y col., 2000; Flanzy, 2003). El término fenoles incluye también a los derivados (ésteres, glicósidos, etc.) resultantes de sustituciones en la estructura básica (Abril y col., 1999; Flanzy, 2003). La reactividad de este tipo de molécula es debida tanto a la presencia de la función fenol que, por la movilidad de su átomo de hidrógeno, presenta un carácter ácido, como al anillo bencénico que puede sufrir sustituciones electrofílicas (Flanzy, 2003). Por su naturaleza química son muy oxidables, y dan lugar a procesos de pardeamiento de distintos alimentos, tanto frescos como procesados (Domínguez y col., 2001). Además actúan como antioxidantes con mecanismos que incluyen tanto la captura de radicales libres, como de quelatos metálicos (Frankel y col., 1998; Van de Wiel y col., 2001).

Los compuestos fenólicos pueden ser clasificados de diferentes maneras, aunque normalmente se suelen dividir en 2 grandes grupos: los no flavonoideos y los flavonoideos (Valls y col., 2000; Flanzy, 2003) (figura 30).

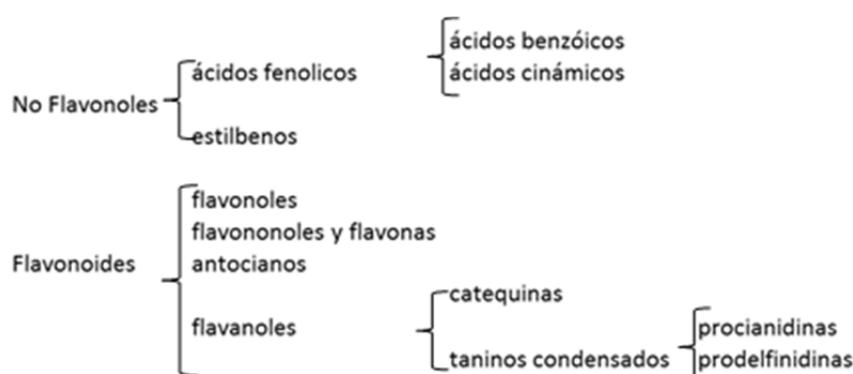


Figura 30- Clasificación general de los compuestos fenólicos (fuente: Zamora, 2003)

### 1.5.1. Compuestos fenólicos no flavonoideos

Los compuestos fenólicos no flavonoideos incluyen dos familias, los ácidos fenólicos y los estilbenos. Presentan una estructura química formada por un anillo bencénico, en el cual puede estar sustituida una cadena alifática de 1, 2 o 3 átomos de carbono, en la que a su vez puede estar sustituido por otro anillo bencénico en el carbono terminal. A los compuestos no flavonoides se les conoce como compuestos de bajo peso molecular.

#### 1.5.1.1. Ácidos fenólicos

Los ácidos fenólicos se dividen en ácidos benzóicos y ácidos cinámicos.

- a) **Ácidos benzóicos.** Son fenoles con un grupo carboxílico. Se encuentran en el hollejo y pepitas de las uvas bajo combinaciones heterósidas, siendo liberados por hidrólisis ácida o alcalina (figura 31).



Figura 31- Compuestos fenólicos derivados del ácido benzóico (fuente: www.sigma.com, fecha de consulta: agosto 2012)

- b) **Ácidos cinámicos.** Presentan una cadena lateral insaturada. Se encuentran en las vacuolas de las células del hollejo y de la pulpa, bajo forma de ésteres tartáricos (figura 32).

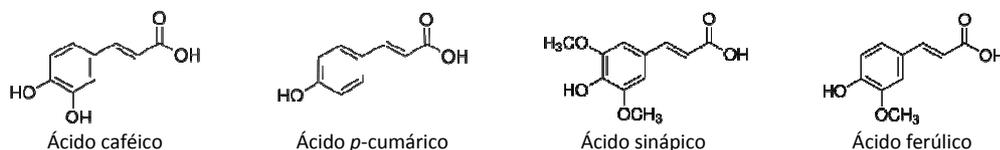


Figura 32- Compuestos fenólicos derivados del ácido cinámico (fuente: www.sigma.com, fecha de consulta: agosto 2012)

#### 1.5.1.2. Estilbenos

Los estilbenos son compuestos fenólicos no flavonoideos, presentan dos anillos bencénicos unidos generalmente por una cadena de etanol o eventualmente etileno. Se localizan en los hollejos de las uvas. Se encuentran sobre todo en vinos tintos, con unas concentraciones de hasta 10 mg/L. Desde el punto de vista de las características organolépticas y la influencia en el color de los vinos no son de gran importancia, aunque cabe destacar las propiedades beneficiosas del resveratrol sobre la salud humana (figura 33).

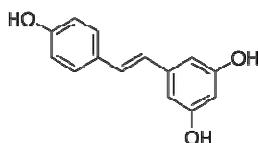


Figura 33- Estructura del resveratrol (fuente: www.sigma.com, fecha de consulta: agosto 2012)

## 1.5.2. Compuestos fenólicos flavonoideos

Los compuestos fenólicos flavonoideos están caracterizados por un esqueleto de base de 15 átomos de carbono (C6-C3-C6) de tipo 2-fenil benzopirona (figura 34) (Flanzy, 2003). Se encuentran en el hollejo, semillas y raspón de las uvas. Incluyen cuatro familias según el grado de oxidación de su núcleo pirano y de la sustitución del heterociclo, como son los flavonoles, los flavanonoles, los antocianos y los flavanoles (este grupo incluye las catequinas y los taninos condensados). A su vez dentro de cada familia se diferencian por el número de grupos hidroxilo y metoxilo en los anillos A y B (Flanzy, 2003; Hidalgo, 2003).

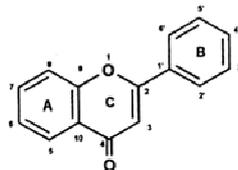


Figura 34- 2-fenil benzopirona (fuente: Flanzy, 2003)

### 1.5.2.1. Flavonoles

Son compuestos fenólicos responsables del color amarillo de la piel de las uvas blancas y por lo tanto serán los responsables en parte del color de los vinos blancos, por lo que su localización en la uva se limita al hollejo (Flanzy, 2003; Ribéreau-Gayón y *col.*, 2003). Pueden encontrarse en forma aglicona o en forma de heterósido. La figura 35 y la tabla 7 muestran la estructura química de este grupo de compuestos y los principales flavanoles en función de los sustituyentes de los radicales.

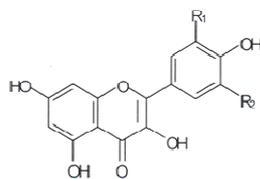


Figura 35- Estructura química de los flavonoles (fuente: Zamora, 2003)

Tabla 7- Sustituyentes de los principales flavanoles

Flavonoles	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>
Kaempferol	H	H
Quercitina	OH	H
Miricetina	OH	OH
Isoramnetina	CH <sub>3</sub>	H

### 1.5.2.2. Flavanonoles y flavonas

Presentan una estructura química muy similar a la de los flavonoles, aunque no poseen el doble enlace del heterociclo (Zamora, 2003). Los compuestos de esta familia han sido identificados en los hollejos de las uvas blancas, son la astilbina y engelatina (figura 36).

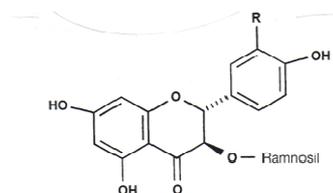


Figura 36- Estructura química de los flavanonoles (fuente: Flanzy, 2003)

### 1.5.2.3. Antocianos

Son los compuestos fenólicos responsables del color de los vinos tintos. Están localizados en el hollejo de las uvas tintas y en las 3 ó 4 primeras capas celulares del hipodermo, en las variedades tintoreras también se encuentran en la pulpa (Flanzy, 2003). Cuantos más grupos hidroxilo haya presentes en su molécula más coloración azul presentan, y cuantos más grupos metoxilo mayor coloración roja (figura 37).

En la tabla 8 se muestran los diferentes antocianos presentes en las uvas tintas en función de los radicales sustituyentes R<sub>1</sub> y R<sub>2</sub>.

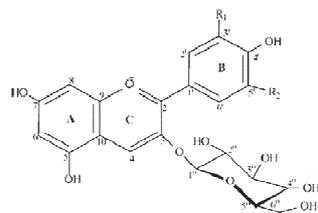


Figura 37- Estructura química de los antocianos (fuente: Ribéreau-Gayón y col., 2003)

Tabla 8- Sustituyentes de los diferentes antocianos

Antocianos	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>
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>

Estos compuestos se diferencian por sus niveles de hidroxilación y metilación, por la naturaleza, número y posición de las uniones a la molécula, y también por la naturaleza y el número de ácidos que esterifican los azúcares. La figura 38 muestra los principales antocianos presentes en *Vitis Vinífera*, su contenido y composición en la uva varía según la especie y variedad (Flanzy, 2003).

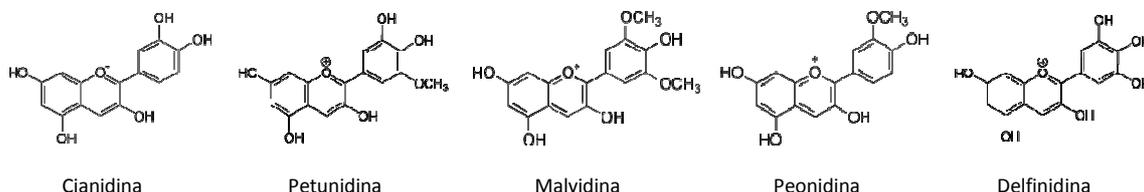


Figura 38- Antocianos mayoritarios en *Vitis Vinifera* (fuente: www.wikipedia.com, fecha de consulta: agosto 2012)

### 1.5.2.4. Flavanoles

Se encuentran en la uva en estado de monómeros y bajo formas más o menos polimerizadas que constituyen los taninos catéquicos. Se localizan principalmente en las semillas, aunque se han detectado también trazas de monómeros y dímeros en la pulpa (Flanzy, 2003). Representan una compleja familia formada por las diferentes formas isoméricas de la catequina y sus polímeros (Zamora, 2003).

Los flavanoles se dividen en catequinas y taninos condensados o procianidinas.

- a) **Catequinas.** Los principales flavanoles monoméricos de la uva son la (+)-catequina, la (-)-epicatequina, la galocatequina y la epigalocatequina. En la tabla 9 se muestran los radicales de sustitución (R1 y R2) (figura 39).

Tienen alta reactividad para la polimerización, especialmente formando complejos en la copigmentación con antocianos. Si se polimerizan en medio ácido y con incidencia

de calor forman flobafenos o flacones que son sustancias de alto peso molecular, insolubles en agua y de color rojo oscuro con matices anaranjados.

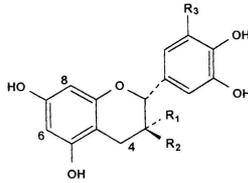


Figura 39- Estructura química de los flavanoles monoméricos (fuente: Valls y col., 2000)

Tabla 9- Sustituyentes de los flavanoles monoméricos

Monómeros	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>
Catequina	H	OH	H
Galocatequina	H	OH	OH
Epicatequina	OH	H	H
Galoepicatequina	OH	H	OH

- b) Taninos condensados.** Son los flavanoles polímeros, corresponden a cadenas de diferente número de unidades de los diversos flavanoles monómeros mediante enlaces C<sub>4</sub>-C<sub>8</sub> o C<sub>4</sub>-C<sub>6</sub>. Estas moléculas pueden presentar un gran número de unidades, debido a los elevados grados de polimerización. Los taninos condensados o procianidinas son los responsables del sabor amargo y la astringencia o sequedad del vino, aunque también forman parte del color amarillo y del cuerpo de los vinos (Zamora, 2003).

## 1.6. Evolución de los compuestos fenólicos durante la crianza

Como se extrae de los resultados de la investigación de diferentes autores el envejecimiento de los vinos, ya sea con barricas de roble o con productos alternativos a las barricas es un proceso muy complejo, en el que tienen lugar diversos procesos los cuales van a permitir una mejora de los vinos, ganando complejidad y estabilidad. Se van a producir unos mecanismos y reacciones que van a armonizar los caracteres sensoriales e influir sobre la evolución de los compuestos fenólicos del vino. La velocidad e intensidad de estas transformaciones difieren según el tipo de vino, al depender sobre todo de su estructura fenólica, así como de las condiciones del envejecimiento, destacando la oxidación, temperatura y duración.

### 1.6.1. Degradación de los antocianos

Los antocianos son compuestos muy inestables cuando se encuentran en forma libre. La degradación de los antocianos puede ser debido a la oxidación y por la presencia de luz. Las temperaturas elevadas favorecen esta degradación. La consecuencia de la degradación de los antocianos es una pérdida irreparable del color de los vinos. Por lo tanto para reducir esta pérdida en el color de los vinos hay que evitar una excesiva oxidación, y mantener el vino a temperaturas moderadas y protegido de la luz (Zamora, 2003).

### 1.6.2. Polimerización de los flavanoles

Los flavanoles (catequinas y taninos condensados o procianidinas) presentan una clara tendencia hacia la polimerización, esto conlleva la formación de moléculas muy grandes que supondrá un aumento inicial de la astringencia, disminución del sabor amargo y un incremento

del color amarillo de los vinos. Es importante tener en cuenta que si la polimerización es elevada las moléculas pueden precipitar al volverse insolubles (Zamora, 2003).

Existen 3 mecanismos de polimerización de los flavanoles:

- Polimerización mediante formación de un carbocatión: Tiene lugar por la propiedad de las procianidinas de formar un carbocatión en medio ácido. Esta polimerización no necesita la presencia del oxígeno, pudiéndose producir tanto en bodega, depósito como botella. Los vinos presentan un aumento de la componente amarilla, incremento de astringencia y menor sabor amargo, aunque al alcanzar tamaños muy elevados se produce una precipitación de estas moléculas por su insolubilización, lo que disminuye la astringencia, el sabor amargo y cuerpo de los vinos.
- Polimerización mediante formación de semiquinonas: Esta polimerización necesita la presencia del oxígeno y de hierro y/o cobre, dando lugar a una unión colateral de dos moléculas de procianidina, con un descenso de la astringencia de los vinos, pudiéndose producir precipitaciones al alcanzar tamaños elevados de estas moléculas.
- Polimerización mediante el etanal: El etanal (formado mediante la oxidación del etanol por la presencia del hierro y/cobre) puede formar en medio ácido un carbocatión (etanal activado), el cual puede unir mediante un puente etilo a dos moléculas de flavanol. La (-)-epicatequina se polimeriza más fácilmente mediante el etanal que la (+)-catequina. Al igual que en la polimerización por semiquinonas, este tipo de polimerización producirá un descenso de la astringencia de los vinos.

### 1.6.3. Reacciones de complejación de las procianidinas

Las procianidinas pueden formar complejos con proteínas, dando lugar a un complejo macromolecular el cual puede precipitar, lo que produciría un descenso de la astringencia y del sabor amargo de los vinos, consiguiendo de esta forma vinos clarificados y suaves en boca. Además las procianidinas pueden formar complejos con péptidos y polisacáridos, de forma que en función de la naturaleza de las moléculas se puede producir o no la precipitación de estos complejos (Zamora, 2003).

### 1.6.4. Combinaciones entre antocianos y flavanoles

Durante el envejecimiento de los vinos pueden tener lugar combinaciones entre antocianos y flavanoles formando estructuras más estables (Zamora, 2003).

Existen diferentes tipos de combinaciones entre estos compuestos fenólicos (Zamora, 2003):

- Unión entre antociano-flavanol: Consiste en la unión de una molécula antociano en forma flavilio con un flavanol que actúa como nucleófilo, formando una unión A-F que carece de color. Una oxidación dará lugar a una molécula con color rojo, la cual estará en equilibrio en función del pH con sus formas carbinol (incolora) y quinona (malva).
- Unión flavanol-antociano: Reacción que tiene lugar con ausencia de oxígeno. Se basa en la capacidad de las procianidinas de formar un carbocatión, el cual actúa como electrófilo en la molécula del antociano. En este tipo de unión las catequinas no reaccionan al no poder formar un carbocatión. De esta unión flavanol-antociano

resulta un aducto en forma carbinol, el cual es incoloro. En función del pH del medio se establecerá el equilibrio con las otras formas coloreadas.

- **Combinación por medio del etanal:** La molécula de flavanol reacciona con el etanal y el carbocatión formado reacciona posteriormente con la molécula de antociano. Esta reacción tiene lugar en paralelo a la polimerización de los flavanoles mediante el etanal, compitiendo ambas reacciones. Los aductos flavanol-etilo-antociano son de color rojo-violeta, siendo menos sensibles que las moléculas de antocianos al efecto del pH del vino y a la decoloración por parte del SO<sub>2</sub>.

Gracias a estas combinaciones entre antocianos y flavanoles se consigue una mayor estabilidad en el color de los vinos, al ser moléculas más estables y con menor dependencia al efecto del pH que las moléculas de antocianos en forma libre. Además gracias a estas uniones se disminuye la astringencia de los vinos durante el envejecimiento, debido a la precipitación de las grandes moléculas formadas de flavanol y las uniones entre antocianos y flavanoles.

### 1.6.5. Formación de nuevos pigmentos

Durante el envejecimiento se forman nuevos pigmentos llamados piroantocianos o vitisinas (figura 40), los cuales proceden de los antocianos y son de color rojo anaranjado. Son compuestos con características muy particulares, muy poco sensibles a los cambios de pH del vino y a la decoloración por parte del SO<sub>2</sub>. Son moléculas muy estables desde el punto de vista químico (Zamora, 2003).

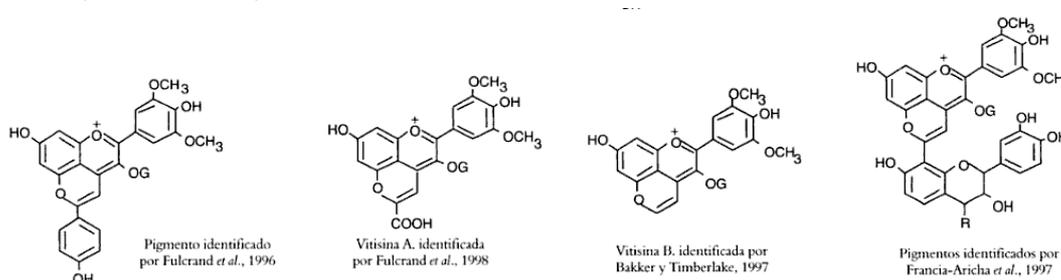


Figura 40- Nuevos pigmentos identificadas en el vino (fuente: Zamora, 2003)

Los taninos presentes en los vinos tintos juegan un papel importante en su sabor y color. Estos taninos proceden de las semillas y hollejos de la uva. Una vez en el vino, estos taninos pueden reaccionar con los antocianos formando nuevos pigmentos de diferentes colores y propiedades químicas distintas a estos antocianos (Saucier y *col.*, 2006).

El malvidín (oenin), principal antociano presente en *Vitis Vinífera* progresivamente desaparece durante el envejecimiento del vino debido a varias reacciones químicas que lentamente conducen a la formación de pigmentos más estables en el vino. Otros compuestos del vino, como el acetaldehído, ácido pirúvico, vinilfenoles o flavanoles se ven involucrados en diversas reacciones químicas formando compuestos con matices azulados o anaranjados (figura 41) (Chassaing y *col.*, 2010).

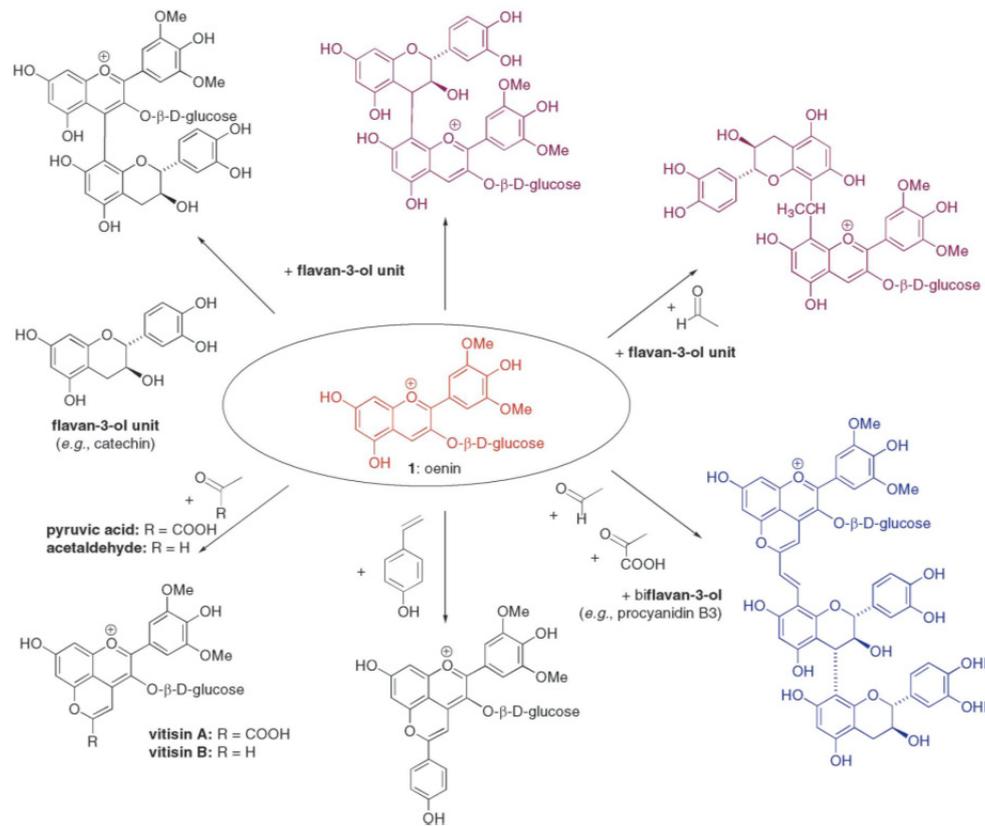


Figura 41- Formación de nuevos pigmentos anaranjados o azulados a partir de malvidin (1) (fuente: Chassaing y col., 2010)

## 1.7. Estudio del envejecimiento de vinos en barricas con diferentes maderas

Diversos autores han estudiado el envejecimiento de vinos en barricas de madera (tabla 10), siendo las maderas de roble americano y francés las más empleadas tradicionalmente (Del Álamo y col., 2000, 2006a; Garde y col., 2002, 2004, 2006, 2008, 2010; Frangipane y col., 2007; Gutiérrez, 2002; Martínez y col., 2006; Matějček y col., 2005; Ortega y col., 2010; Spillman y col., 1998). Aunque también se han empleado barricas de otros orígenes, como roble húngaro (Del Álamo y col., 2004a-b, 2006b, 2008), roble ruso (Lasanta y col., 2004) o roble búlgaro (Puech, 1987).

Lasanta y su equipo de investigación estudiaron durante 2004 los parámetros básicos, el color y los fenoles en un vino criado en barricas de roble americano, francés y ruso. Tras 6 y 12 meses de crianza observaron pocas variaciones en los parámetros básicos y cromáticos, y en el contenido antocianico de los vinos, no apreciando diferencias significativas entre los tipos de roble. Los vinos envejecidos con roble ruso y francés resultaron los más tánicos, y los vinos con roble americano los que presentaron mayor contenido de aldehídos, cetonas y menor contenido de acetato de isoamilo y de hexilo (Lasanta y col., 2004).

Numerosos estudios se centraron en la comparación del empleo de roble americano y roble francés. El equipo de Frangipane estudió en 2007 la composición fenólica y volátil de un mismo vino envejecido en barricas de roble francés de zonas diferentes. Los vinos envejecidos con

barricas de Tronçais presentaron valores elevados de compuestos fenólicos aromáticos, con un agradable gusto de vainilla, especias y almendras tostadas. El envejecimiento de vinos en barricas de Allier, Limousin y Nevers se caracterizó por presentar notas de vainilla y un aroma demasiado intenso de madera, dominando las características típicas del vino (Frangipane y *col.*, 2007).

El grupo de investigación de Garde realizó diversos estudios en los años 2002, 2004, 2006, 2008 y 2010 sobre el envejecimiento de vinos tintos con barricas de roble americano, francés y mezcla francés-americano. El envejecimiento del vino en barricas de roble francés aportó mayores concentraciones de aldehídos fenólicos (vainillina, siringaldehído y acetovainillona) que al envejecer con roble americano, destacando estos vinos por sus elevadas concentraciones de cis W-lactona, las cuales fueron superiores a su umbral de percepción (Garde y *col.*, 2002, 2004, 2006, 2008). Estos resultados coincidieron con los obtenidos por los equipos de investigación de Fernández de Simón en 2003 y Martínez en 2006, que tras una crianza de 24 meses en barricas de roble francés observaron que los vinos también destacaban por sus mayores concentraciones en aldehídos furánicos (furfural, 5MF y 5HMF), y los vinos envejecidos en barrica americana por presentar mayor contenido en eugenol y guayacol (Fernández de Simón y *col.*, 2003; Martínez y *col.*, 2006).

Las concentraciones de guayacol, furfural, 5MF, 4 etil fenol, W-lactonas y eugenol en el vino no presentaron diferencias significativas según el origen de la barrica. Sin embargo el ratio cis/trans de las W-lactonas dependió del origen, siendo menor al emplear roble francés (Garde y *col.*, 2008, 2010). La acumulación de los compuestos procedentes de la madera fue diferente dependiendo del vino a envejecer, estando definida principalmente por el tiempo de envejecimiento (Garde y *col.*, 2004, 2006, 2008, 2010). Los derivados furánicos (5MF, 5HMF y furfural), W-lactonas, aldehídos fenólicos (vainillina, siringaldehído) y alcoholes fenólicos (eugenol, guayacol, 4 metil guayacol) estaban presentes en mayor concentración en el vino envejecido de la variedad Merlot que de Cabernet Sauvignon, al estar favorecida la extracción de estos compuestos procedentes de la madera por el mayor grado alcohólico del vino (Garde y *col.*, 2004). La concentración de los isómeros cis y trans W-lactona y eugenol aumentó con el tiempo de envejecimiento de los vinos. En el caso del furfural, 5MF y guayacol, su concentración en los vinos aumentó hasta los 12 meses de crianza, sin embargo un envejecimiento más largo provocó un ligero descenso en su concentración. Respecto a la zona de procedencia del vino, los vinos de Rioja, Navarra y Ribera del Duero presentaron mayores concentraciones de W-lactonas y etil fenoles durante el envejecimiento, y la menor concentración de guayacol, furfural y 5MF la presentaron los vinos criados de la zona del Penedés y Somontano (Garde y *col.*, 2010).

Los equipos de investigación de Caldeira durante los años 2002 y 2010 y de Canas en 2009 estudiaron la composición fenólica de bajo peso molecular, la composición volátil y el análisis sensorial de brandies envejecidos en barricas y tablonés de madera de castaño y de roble de diferentes orígenes. Encontraron que los brandies envejecidos con barricas de castaño portugués presentaban significativamente menor extracto seco, mayor índice de polifenoles totales y luminosidad, y mayor contenido de 5HMF, furfural, vainillina, coniferaldehído, sinapaldehído, y de los ácidos gálico y vainillínico que al emplear tablonés de madera de castaño (Canas y *col.*, 2009b). Además los brandies envejecidos en barricas presentaron

mayores tonos dorados, alcohol y amargor, y mayores concentraciones de varios etil ésteres, ácidos y aldehídos furánicos, pero los menores niveles de fenoles volátiles que al envejecer con sistemas alternativos (Caldeira y col., 2010). Por otra parte el origen de la madera y la intensidad del tostado tuvieron un alto efecto significativo en los atributos de vainilla, maderizado, especiados, caramelo y tostado de los brandies envejecidos. Las maderas de castaño y roble portugués (*Quercus pyrenaica*) aportaron mayores notas de vainilla y de madera e intensidad que las maderas de roble francés y americano. Los brandies envejecidos con castaño y roble presentaron un perfil aromático similar, aunque destacó la madera de castaño por su mayor aporte de aromas a caramelo y tostado (Caldeira y col., 2002).

Tabla 10- Estudios realizados por diversos autores con barricas

Autores	Vino	Origen de la madera de las barricas	Tiempo crianza	Parámetros estudiados
Puech (1987)	Vino tinto	Roble búlgaro ( <i>Q. sessilis</i> )	24 meses	Compuestos procedentes de la madera
Spillman y col. (1998)	Vino modelo/sintético	Roble francés y americano	24 meses	Compuestos volátiles procedentes de la madera
Del Álamo y col. (2000)	Vino tinto Ribera del Duero	Roble americano ( <i>Q. alba</i> ), francés ( <i>Q. robur</i> )	12 meses	Parámetros analíticos, color y familias de compuestos fenólicos
Caldeira y col. (2002)	Brandy	Castaño portugués ( <i>Castanea sativa</i> ), roble portugués ( <i>Q. pyrenaica</i> ), roble francés ( <i>Q. robur</i> y <i>Q. sessilis</i> ) y roble americano ( <i>Q. alba</i> )	48 meses	Análisis sensorial
Garde y col. (2002)	Vino tinto Navarra	Roble francés ( <i>Q. sessilis</i> ) y americano ( <i>Q. alba</i> )	12 meses	Compuestos volátiles procedentes de la madera
Gutiérrez (2002)	Vino blanco	Roble americano y francés		Análisis organoléptico
Del Álamo y col. (2004a)	Vino tinto Cigales	Roble americano ( <i>Q. alba</i> ), francés ( <i>Q. sessilis</i> ) y húngaro ( <i>Q. robur</i> )	5 meses	Familias de compuestos fenólicos, edad química, color, compuestos de bajo peso molecular
Del Álamo y col. (2004b)	Vino tinto Cigales	Roble americano ( <i>Q. alba</i> ), francés ( <i>Q. sessilis</i> ) y húngaro ( <i>Q. robur</i> )	12 meses	Color y composición antocianica
Garde y col. (2004)	Vino tinto Navarra	Roble americano ( <i>Q. alba</i> )	17-18 meses	Compuestos volátiles procedentes de la madera
Lasanta y col. (2004)	Vino Rioja	Roble francés ( <i>Q. petraea</i> ), ruso ( <i>Q. sessilis</i> ) y americano ( <i>Q. alba</i> )	12 meses	Parámetros analíticos, color, familias de compuestos fenólicos y compuestos volátiles mayoritarios
Matějček y col. (2005)	Vino tinto	Roble francés ( <i>Q. robur</i> y <i>Q. alba</i> )	6 meses	Derivados de los ácidos cinámicos y benzóicos y compuestos furánicos
Del Álamo y col. (2006a)	Vino tinto Cigales	Roble americano ( <i>Q. alba</i> )	12 meses	Parámetros básicos y edad química
Del Álamo y col. (2006b)	Vino tinto Cigales	Roble americano ( <i>Q. alba</i> ), francés ( <i>Q. sessilis</i> ) y húngaro ( <i>Q. robur</i> )	12 meses	Composición antocianica

Tabla 10- Continuación

Autores	Vino	Origen de la madera de las barricas	Tiempo crianza	Parámetros estudiados
Garde y col. (2006)	Vino tinto	Roble americano ( <i>Q. alba</i> )	15 meses	Compuestos volátiles procedentes de la madera
Martínez y col. (2006)	Vino tinto Rioja	Roble americano ( <i>Q. alba</i> ) y francés ( <i>Q. petraea</i> )	24 meses	Compuestos volátiles procedentes de la madera
Frangipane y col. (2007)	Vino tinto	Roble francés	2 o 7 meses	Compuestos volátiles procedentes de la madera, compuestos fenólicos y análisis sensorial
Del Álamo y col. (2008)	Vino tinto Cigales	Roble americano ( <i>Q. alba</i> ), francés ( <i>Q. sessilis</i> ) y húngaro ( <i>Q. robur</i> )	12 meses	Parámetros diferenciadores entre el envejecimiento tradicional en bodega y el envejecimiento alternativo
Garde y col. (2008)	Vino tinto Rioja, Mancha, Ribera del Duero, Valdepeñas	Roble francés y americano		Compuestos volátiles procedentes de la madera y etil fenoles
Canas y col. (2009b)	Brandy	Castaño portugués ( <i>Castanea sativa</i> )	360 días	Color y compuestos procedentes de la madera
Caldeira y col. (2010)	Brandy	Castaño portugués ( <i>Castanea sativa</i> ) y roble francés ( <i>Q. robur</i> )	6 meses	Compuestos volátiles y análisis sensorial
Garde y col. (2010)	Vino tinto Rioja, Mancha, Ribera del Duero y Valdepeñas	Roble francés y americano	18 meses	Compuestos volátiles procedentes de la madera y etil fenoles
Ortega y col. (2010)	Vino tinto Bierzo y Ribera del Duero	Roble francés ( <i>Q. petraea</i> ) y americano ( <i>Q. alba</i> )	12 meses	Composición fenólica y análisis sensorial

Cada vez son más los autores que comparan el envejecimiento del vino en barricas y con productos alternativos. Así, durante el año 2010 Ortega y su grupo de investigación encontraron que los antocianos totales, poliméricos, acetilados y cumarilados eran las variables principales que permitían la diferenciación de los vinos según su envejecimiento en barricas o con productos alternativos a las barricas. Destacaron las notas a fruta madura, vainilla y su mayor sensación agradable en boca de los vinos envejecidos en barricas (Ortega y col., 2010).

El equipo de la Dra. Del Álamo estudió durante los años 2004, 2006 y 2008 el efecto del envejecimiento en vinos con madera de roble húngaro en comparación con las maderas empleadas tradicionalmente (americano y francés) tanto en barricas como en sistemas alternativos (astillas y tablones). Los vinos envejecidos con barricas fueron menos evolucionados, presentando mayores concentraciones de antocianos y mayor componente roja que los vinos envejecidos con sistemas alternativos (Del Álamo y col., 2004a, 2004b, 2006b). Además los vinos criados en barricas de roble presentaron mayor contenido de

polifenoles totales, catequina, vainillina, pOHbenzaldehído, y de los ácidos gálico, vainillínico y protocatéquico, y menor contenido de aldehído protocatéquico y de los ácidos ferúlico, caféico y cumárico, y sufrieron menos polimerizaciones y un envejecimiento más lento que al tratar los vinos con productos alternativos a las barricas (Del Álamo y *col.*, 2004a).

Respecto al origen, el vino con roble húngaro era el que envejecía más rápidamente, presentando mayor contenido de polifenoles totales y menor intensidad colorante que los vinos con roble francés y americano (Del Álamo y *col.*, 2004a). Durante el periodo de botella los vinos envejecidos con roble americano y húngaro presentaron unas concentraciones similares de antocianos, y menores que al envejecer con roble francés (Del Álamo y *col.*, 2006b).

Con el paso del envejecimiento las diferencias entre los vinos envejecidos con barricas y con sistemas alternativos eran mayores, aumentando estas diferencias durante el periodo de botella independientemente de la especie de roble empleada. Las variables que más influyeron durante el periodo del envejecimiento fueron la vitisina A, epicatequina, ácido protocatéquico, % rojos, % amarillos, aldehído protocatéquico, cianidín 3 glucósido, y durante el periodo de botella las variables más discriminantes fueron el % de amarillos, la catequina, epicatequina, y los ácidos gálico, gentísico, siríngico, vainillínico, cumárico y protocatéquico, y los antocianos vitisina A, cianidín, malvidín y petunidín 3 *o*-glucósido (Del Álamo y *col.*, 2008).

Otros estudios se centraron en la importancia de la edad de la barrica. Del Álamo y su grupo de investigación estudiaron en el año 2000 el efecto de la edad de las barricas en los parámetros básicos de los vinos envejecidos. El vino criado en barricas nuevas de roble americano presentó mayor acidez volátil y una mayor pérdida de azúcares reductores que al emplear roble francés. El envejecimiento en barricas usadas también aportó mayor acidez volátil a los vinos con roble americano, aunque las diferencias fueron poco significativas (Del Álamo y *col.*, 2000). Otros trabajos mostraron diferencias en la composición volátil de los vinos envejecidos en barricas de diferentes usos (Garde y *col.*, 2006), siendo los compuestos furánicos los que mayores diferencias presentaron en su concentración al emplear barricas nuevas o con un uso, disminuyendo su concentración con el uso de las barricas. Con un envejecimiento corto entre 6 y 9 meses se encontraron grandes diferencias en las concentraciones de la mayoría de los compuestos procedentes de la madera (derivados furánicos, W-lactonas, aldehídos y alcoholes fenólicos) entre el vino envejecido en barricas nuevas o de un uso. Tras 12-15 meses de crianza no se encontraron diferencias significativas en el contenido de furfural, 5HMF, aldehídos fenólicos y W-lactonas de los vinos envejecidos con barricas nuevas y usadas (Garde y *col.*, 2006).

El efecto de los diferentes tratamientos de tonelería también ha sido estudiado por diferentes autores. El equipo de Matějček analizó durante el año 2005 el efecto del tostado de las barricas de roble francés en la composición volátil de los vinos. El grado de tostado de las barricas aumentó el contenido de los derivados furánicos y fenoles volátiles en los vinos envejecidos, sin embargo las concentraciones de los ácidos gálico, protocatéquico, vainillínico, caféico y siríngico no se vieron afectadas por el tostado de la madera, presentando los vinos concentraciones similares al envejecer con barricas de tostado medio y fuerte, siendo la concentración de ácido gálico ligeramente superior al emplear barricas con tostado medio (Matějček y *col.*, 2005).

Spillman y su grupo, determinaron en 1998 que la concentración de algunos de los compuestos volátiles procedentes de la madera en vinos envejecidos con barricas de roble no sólo estaba definida por el tiempo de envejecimiento, sino que su impacto en el aroma del vino podía depender además de las diferentes vías de formación. La concentración de vainillina en los vinos envejecidos estuvo asociada a dos mecanismos, la pirolisis de la lignina durante el procesado de la madera, y una hidrólisis ácida y/o oxidación de lignina que también podía generar vainillina aunque más lentamente. En el caso del eugenol y W-lactonas, su concentración en el vino dependió de la estructura de la madera, la estructura del compuesto, la composición del vino, la temperatura, y el equilibrio entre el vino y la madera. La acumulación de guayacol en los vinos envejecidos con madera era debida, por lo menos en parte, a la hidrólisis ácida de la lignina (Spillman y *col.*, 1998).

El efecto del tamaño de las barricas para el envejecimiento de los vinos de dos variedades diferentes fue estudiado por Puech en 1987. El envejecimiento de vinos en barricas de 225 litros necesitó menor tiempo de crianza (la mitad de tiempo) para obtener niveles similares de vainillina y siringaldehído que el envejecimiento en barricas de 500 litros. Se observó que el vino Cabernet Sauvignon criado en barricas de 225 litros presentaba mayor concentración de aldehídos aromáticos (vainillina, siringaldehído) y era el mejor valorado organolépticamente tras 18 meses de crianza (Puech, 1987).

En resumen, hay una serie de factores que han influido en el contenido de compuestos fenólicos, la composición volátil y las características organolépticas de los vinos envejecidos.

El **tiempo de envejecimiento** influyó en la concentración de compuestos procedentes de la madera en barricas de distinta edad, tras un periodo corto de envejecimiento (3 – 6 meses) se observaron grandes diferencias en la concentración de la mayoría de los compuestos estudiados en los vinos envejecidos en barricas nuevas y de un uso. Sin embargo, tras un año de envejecimiento en barricas nuevas y de un uso, no se observaron diferencias significativas en el contenido de furfural, 5HMF, aldehídos fenólicos y W-lactonas. El uso de las barricas también influyó en el contenido de los compuestos furánicos en los vinos, se observó un descenso en la concentración de estos compuestos con el uso de las barricas.

Teniendo en cuenta el **origen de la madera**, el envejecimiento con roble francés aportó a los vinos mayores concentraciones de vainillina, siringaldehído, acetovainillona y de aldehídos furánicos (furfural, 5MF y 5HMF) que los vinos envejecidos con roble americano, los cuales presentaron elevadas concentraciones de W-lactona, y mayor contenido de eugenol y de guayacol. Los vinos envejecidos con roble húngaro presentaron un envejecimiento más rápido, con mayor contenido de polifenoles totales y menor intensidad colorante que los vinos tratados con roble francés y americano. Durante el envejecimiento en botella, los vinos con roble americano y húngaro mostraron un contenido de antocianos similar, siendo inferior que los vinos envejecidos con roble francés. El origen de la madera influyó en las características organolépticas de los brandies envejecidos con madera de castaño y roble portugués (*Quercus pyrenaica*), los cuales presentaron mayores notas de vainilla y maderizado, y mayor intensidad que al envejecer con roble americano o francés. Destacaron los mayores atributos de tostado y caramelo en los brandies envejecidos con madera de castaño.

Según el **grado de tostado de la madera**, a mayor grado de tostado de la madera se observó mayor contenido en derivados furánicos y fenoles volátiles en los vinos envejecidos. Las concentraciones de los ácidos gálico, protocatéquico, vainillínico, caféico y siríngico en los vinos no se vieron afectadas por el tipo de tostado de la madera, mostrando concentraciones similares al envejecer los vinos con barricas de tostado medio y fuerte.

Teniendo en cuenta el **tamaño de la barrica**, un menor tamaño de la barrica (225 litros) necesitó la mitad de tiempo de crianza de los vinos para obtener niveles similares de vainillina y siringaldehído que al emplear barricas de 500 litros.

La **variedad de uva** empleada también influyó en la acumulación de los compuestos volátiles procedentes de la madera. Los vinos de la variedad Merlot mostraron tras el envejecimiento mayor contenido de derivados furánicos (5MF, 5HMF y furfural), W-lactonas, aldehídos fenólicos (vainillina, siringaldehído) y alcoholes fenólicos (eugenol, guayacol y 4 metilguayacol) que los vinos de la variedad Cabernet Sauvignon, al estar favorecida la extracción de estos compuestos por un mayor grado alcohólico del vino. La zona de procedencia del vino también afectó a la composición fenólica de los vinos, los vinos de Rioja, Ribera del Duero y Navarra fueron más ricos en W-lactonas y etil fenoles, mientras que los vinos del Penedés y Somontano presentaron menores concentraciones de guayacol, furfural y 5MF.

El **sistema de envejecimiento** afectó a la composición fenólica y volátil de los vinos y brandies envejecidos. El contenido de antocianos totales (poliméricos, acetilados y cumarilados) era la variable que permitió la diferenciación de los vinos según el sistema de envejecimiento.

Los vinos envejecidos con barricas de roble presentaron mayores notas de fruta madura, vainilla y mayor sensación agradable en boca. Siendo además vinos menos evolucionados, con mayor componente roja y mayor contenido de antocianos que los vinos tratados con productos alternativos a las barricas, además también destacaron por presentar mayores niveles de polifenoles totales, catequina, vainillina, *p*OHbenzaldehído, ácidos gálico, vainillínico y protocatéquico, y menor concentración de aldehído protocatéquico y ácidos ferúlico, caféico y *p*-cumárico. Estos vinos sufrieron menos polimerizaciones y mostraron un envejecimiento más lento que al emplear productos alternativos.

Los brandies envejecidos en barricas de castaño mostraron menor extracto seco, mayor luminosidad e índice de polifenoles totales (IPT), y mayor contenido en 5HMF, furfural, vainillina, coniferaldehído, sinapaldehído, ácido gálico y ácido vainillínico, y mayores tonos dorados, amargor y alcohol que al emplear tablonos de castaño en el envejecimiento, los cuales presentaron mayores niveles de fenoles volátiles.

## 1.8. Crianza en botella

Una vez que el vino es embotellado continúa con una evolución de carácter reductor, aunque puede producirse una ligera entrada de aire (micro-oxigenación). Durante esta etapa se producen una serie de cambios afectando al color, sabor y aroma de los vinos. Es importante tener en cuenta que no todos los vinos mejoran su calidad durante este periodo de botella, ya que su capacidad para envejecer depende estrechamente de su composición en compuestos fenólicos.

Los vinos embotellados van a sufrir una serie de fenómenos durante su evolución (Hidalgo, 2003):

- Hidrólisis de las procianidinas formando carbocationes de carga eléctrica positiva, los cuales pueden reaccionar con otras procianidinas o antocianos en forma carbinol, lo que supone un descenso de la intensidad de color, una evolución hacia tonos anaranjados o amarillos, y la pérdida de la astringencia del vino.
- Desaparición casi completa de los antocianos en forma libre en el vino, la intensidad del vino permanece estable al mantener los antocianos en forma combinada. Durante este periodo se forman nuevos pigmentos (vitisinas o piroantocianos), lo que supone una evolución hacia tonos tejas o ladrillo.
- Debilitamiento progresivo del vino como consecuencia de la precipitación durante este periodo reductor de los polifenoles muy polimerizados.

Durante el envejecimiento de los vinos en botella hay una serie de etapas por las que pasa el vino (Hidalgo, 2003; Zamora, 2003):

- **Fase de maduración o gestación:** El vino aumenta progresivamente su calidad sensorial durante un periodo variable.
- **Fase de culminación o plenitud:** Durante esta etapa el vino alcanza su máxima calidad, la cual se mantiene durante un periodo determinado.
- **Fase de declive:** Durante esta fase el vino va perdiendo poco a poco sus cualidades de calidad. La duración de esta etapa depende de las condiciones ambientales durante la crianza en botella.

Es importante tener en cuenta que no todos los vinos van a evolucionar de la misma forma, ya que además de la calidad de los vinos también influye tanto la calidad del tapón de corcho, como la precisión de la embotelladora. Posteriormente, las condiciones de conservación, siendo muy importantes la luz, el oxígeno, el SO<sub>2</sub>, la humedad, las vibraciones y la temperatura definen la evolución del vino en botella.

Diversos autores se han centrado en el estudio de los compuestos fenólicos y volátiles de los vinos durante su periodo de botella (tabla 11).

Durante los años 2006 y 2007, los grupos de Fernández de Simón y Hernández estudiaron la evolución en botella (24 meses) de un mismo vino envejecido con barricas de roble español (*Quercus faginea*, *Quercus robur*, *Quercus petraea* y *Quercus pyrenaica*), francés (*Quercus robur* y *Quercus petraea*) y americano (*Quercus alba*) durante 21 meses. En el año 2006, Fernández de Simón y su equipo apreciaron cambios en la composición volátil de los vinos durante el periodo en botella, la mayoría de los compuestos sufrieron un aumento en su concentración durante el primer año de botella y un ligero descenso durante el segundo año de permanencia en la botella. Este descenso en el contenido de compuestos volátiles durante el segundo año de botella fue mayor al utilizar madera de roble americano (*Quercus alba*) (Fernández de Simón y col., 2006a).

Tabla 11- Estudios realizados por diversos autores durante la crianza en botella

<b>Autores</b>	<b>Vino</b>	<b>Tiempo crianza en botella</b>	<b>Parámetros estudiados</b>
Monagas y col. (2005a)	Vino tinto D.O. Navarra de diferentes variedades	26 meses	Composición antociánica
Monagas y col. (2005b)	Vino tinto D.O. Navarra de diferentes variedades	26 meses	Composición fenólica
Del Álamo y col. (2006b)	Vino tinto D.O. Cigales	15 meses	Composición antociánica
Fernández de Simón y col. (2006a)	Vino tinto D.O. Rioja	24 meses	Compuestos volátiles procedentes de la madera
Monagas y col. (2006a)	Vino tinto D.O. Navarra de diferentes variedades	23 meses	Composición antociánica y fenólica
Monagas y col. (2006b)	Vino tinto D.O. Navarra de diferentes variedades	26 meses	Familias de compuestos fenólicos
Hernández y col. (2007)	Vino tinto D.O. Rioja	24 meses	Familias de compuestos fenólicos, color, composición fenólica y antociánica
Monagas y col. (2007)	Vino tinto D.O. Navarra de diferentes variedades	23 meses	Color, composición antociánica y análisis sensorial
Kallithraka y col. (2009)	Vino blanco experimental	9 meses	Composición fenólica

El equipo de Hernández estudió en 2007 la evolución de las familias de compuestos fenólicos, los parámetros de color y los polifenoles pormenorizados mediante HPLC en vinos con 12 y con 24 meses de botella, los cuales fueron envejecidos previamente con barricas de roble francés (*Quercus robur* y *Quercus petraea*), español (*Quercus faginea*, *Quercus robur*, *Quercus petraea* y *Quercus pyrenaica*) y americano (*Quercus alba*). Se observaron diferencias en los parámetros cromáticos de los vinos durante el periodo de botella, de forma que los vinos envejecidos con roble americano eran los que mayor intensidad y menor tonalidad presentaron a los 12 y a los 24 meses de botella. El descenso observado en la concentración de antocianos totales en todos los vinos estudiados durante el periodo de botella, fue debido a las reacciones de polimerización y copigmentación en las que están involucrados estos compuestos. Los compuestos hidroxicinámicos fueron el grupo de compuestos que experimentaron mayores cambios durante este periodo reductor, sin embargo los compuestos hidroxibenzóicos no sufrieron grandes variaciones entre los 12 y los 24 meses de botella, con la excepción del ácido gálico, el cual sufrió un gran descenso. También se observó un descenso en la concentración de flavanoles durante todo el periodo de botella, el cual fue más pronunciado en el caso de la epicatequina. Es importante el origen de la madera, ya que cada madera transmitió compuestos fenólicos en diferentes cantidades en función de sus características, lo que provocó diferencias en la composición fenólica de cada vino (Hernández y col., 2007).

Los trabajos de Monagas durante los años 2005-2007 se centraron en la evolución durante 26 meses del envejecimiento en botella de los compuestos antociánicos, los compuestos de bajo peso molecular, las familias de compuestos fenólicos y los parámetros de color de vinos tintos elaborados con diferentes variedades (Tempranillo, Graciano, Cabernet Sauvignon). Observaron un progresivo descenso de los antocianos estudiados en los diferentes vinos, siendo más pronunciado entre los 3 y 9 meses de botella. El descenso en la concentración de compuestos antociánicos después de 26 meses de permanencia en botella fue menor en los vinos de Tempranillo que en los de Graciano y Cabernet Sauvignon (Monagas y col., 2005a).

Respecto a los compuestos de bajo peso molecular observaron un descenso durante el periodo de botella en la concentración de los ácidos trans-caftárico y trans-cutárico y un aumento en el contenido del ácido trans-caféico y, especialmente del ácido trans-*p*-cumárico (Monagas y col., 2005b). Este resultado coincide con lo descrito por otros autores, durante 2009 Kallithraka y su grupo de investigación estudiaron los cambios en la composición fenólica de un vino blanco durante el periodo de botella. Los resultados mostraron que el contenido de la mayoría de los compuestos fenólicos disminuyó con el tiempo, con la excepción de los ácidos caféico, ferúlico y *p*-cumárico, y el descenso en los ésteres del ácido tartárico, catequina y epicatequina fue significativo después de 6 meses de envejecimiento en botella (Kallithraka y col., 2009).

Respecto a los flavanoles, el grupo de Monagas encontró un descenso progresivo durante el periodo reductor debido a su participación en varias reacciones químicas, siendo los vinos de Tempranillo los que mayor concentración de flavanoles presentaron durante este periodo estudiado (Monagas y col., 2005b). La evolución presentada por las familias de los compuestos fenólicos en los vinos durante su permanencia en botella fue similar en los vinos de según la variedad de uva empleada, presentando pequeñas diferencias. La menor concentración de catequinas y de taninos condensados fue encontrada en los vinos de Tempranillo, que junto con su mayor pH, pudieron ser responsables de su mayor contenido en compuestos antociánicos, ya que son compuestos implicados en las reacciones de condensación de los antocianos (Monagas y col., 2006b). También estudiaron la evolución en botella de la composición fenólica y parámetros de color de un vino Tempranillo mezclado con otras variedades. Observaron un descenso en la concentración de los diferentes antocianos en los vinos estudiados. La mezcla de un vino Tempranillo con las variedades Graciano y Cabernet Sauvignon permitió la modificación de la composición fenólica del vino, de forma que la mayor concentración de peonidinas se detectaba en el vino mezcla Tempranillo-Graciano, mientras que en caso de antocianos acetil-glucósidos y aductos de antocianos-ácido pirúvico los mayores niveles se encontraron en el vino Tempranillo-Cabernet Sauvignon. La concentración de flavanoles y compuestos antociánicos en los vinos de mezcla desaparecieron más rápido que en el vino monovarietal (Tempranillo) (Monagas y col., 2006a).

Estos autores también estudiaron el efecto de la mezcla de variedades en los parámetros cromáticos de los vinos, demostrando que los vinos de las mezclas de Graciano y Cabernet Sauvignon con Tempranillo presentaron cambios cromáticos, al tener mayor  $a^*$ ,  $C^*$ , intensidad colorante, % rojos, y menor % amarillos, luminosidad y H, los cuales fueron visibles por el ojo humano. No se encontraron diferencias entre los vinos de las mezclas Tempranillo-Graciano y Tempranillo-Cabernet Sauvignon con una proporción 90:10. Los resultados de la PCA indicaron que el grado de interrelación entre los parámetros de color y compuestos fenólicos durante el

envejecimiento en botella fue similar en los vinos de las dos mezclas Tempranillo-Graciano y Tempranillo-Cabernet Sauvignon (Monagas y col., 2007).

El equipo de la Dra. Del Álamo estudió en el año 2006 la evolución en botella de la composición antocianica de un vino tinto envejecido con diferentes sistemas de envejecimiento y robles de orígenes diferentes. Durante el envejecimiento en botella el vino tratado con astillas y tablonas sufrió un envejecimiento más rápido, con mayor pérdida de antocianos y con mayor número de polimerizaciones que los vinos envejecidos en barricas. Todos los antocianos analizados experimentaron un descenso en su concentración durante los 15 meses de permanencia en la botella. El descenso de antocianos en el vino con astillas de roble francés era más lento que al emplear astillas de roble americano o húngaro, siendo la evolución sufrida por estos vinos más parecida a la evolución de los vinos envejecidos con barricas (Del Álamo y col., 2006b).

En resumen, el envejecimiento en botella contribuyó a una evolución diferente de la composición fenólica y volátil y de los parámetros cromáticos de los vinos, según el sistema de envejecimiento, el origen de la madera empleada y la variedad de uva. Se observó un descenso en el contenido de los antocianos y flavanoles (siendo más pronunciado en la epicatequina) durante el envejecimiento en botella. La composición volátil de los vinos experimentó un aumento en la concentración de furfural, 5MF, W-lactonas, guayacol, eugenol, maltol, vainillina y siringaldehído tras el primer año de botella, y un descenso del contenido de 5MF, 5HMF, W-lactonas, guayacol, eugenol, vainillina y siringaldehído durante el segundo año de permanencia en la botella.

Según el **origen de la madera**, los vinos envejecidos con roble americano presentaron la mayor intensidad, la menor tonalidad y el mayor contenido de derivados furánicos (furfural, 5MF y 5HMF), guayacol, eugenol, maltol, siringaldehído y vainillina, y los vinos con barricas de roble francés destacaron por su contenido en trans W-lactonas, tras permanecer 12 y 24 meses en botella.

Los vinos envejecidos con astillas de roble francés sufrieron durante el envejecimiento en botella un descenso en el contenido de antocianos menor que al emplear astillas de roble americano o húngaro. En general, el contenido de los compuestos de bajo peso molecular en los vinos envejecidos con madera de distintos orígenes no se vio afectado significativamente durante su permanencia en botella. Destacó el mayor contenido de ácido gálico de los vinos envejecidos con barricas de roble español (*Quercus robur* y *Quercus faginea*) y de ácido elágico de los vinos con *Quercus petraea* (español) tras 1 año de botella, cuyas diferencias fueron significativas.

Según la **variedad de la uva** empleada, los vinos de Tempranillo embotellados sufrieron un menor descenso en el contenido de antocianos y de flavanoles que los vinos de Graciano o Cabernet Sauvignon. El contenido de compuestos de bajo peso molecular en los vinos también se vio afectado por el envejecimiento en botella, se observó un descenso en el contenido de los ácidos trans-caftárico y trans-cutárico y un aumento de los ácidos trans-caféico y trans-*p*-cumárico.

Los vinos embotellados que previamente habían sido tratados con astillas y tablonos de roble sufrieron un envejecimiento más rápido, con mayor pérdida de antocianos y mayor número de polimerizaciones que los vinos envejecidos con barricas de roble.



## **Capítulo 1- Objetivos**



## 2- Objetivos

1. El objetivo principal de este capítulo de la Tesis Doctoral es realizar un estudio comparativo del envejecimiento de vinos tintos con productos alternativos a las barricas y micro-oxigenación, posicionando la madera de roble español (*Quercus pyrenaica* Willd.) frente a otros robles empleados tradicionalmente en tonelería (*Quercus alba* o *Quercus petraea*). Para ello se plantean como objetivos intermedios:
  - a) Caracterización fenólica del vino tinto estudiado tras 6,5 meses de envejecimiento con diferentes productos alternativos a las barricas (astillas y tablonos) y micro-oxigenación y posteriormente durante 25 meses de su estancia en botella. Se han estudiado las familias de compuestos fenólicos, compuestos fenólicos de bajo peso molecular y los antocianos pormenorizados mediante HPLC, índices de etanol, gelatina e ionización, parámetros cromáticos, básicos, de copigmentación y de edad química del vino. Para ello ha sido necesaria la puesta a punto del método de análisis de los compuestos fenólicos de bajo peso molecular por HPLC.
  - b) Estudio organoléptico de los vinos analizados durante el proceso de envejecimiento con la madera (al inicio del experimento y tras 1, 3 y 5 meses con la madera aproximadamente) y tras 1, 2, 5, 11 y 18 meses de botella.
2. El segundo objetivo es establecer el efecto del tamaño de la madera y la especie de roble empleada en el comportamiento del vino envejecido.



## **Capítulo 1- Materiales y métodos**



### 3- Materiales y métodos

#### 3.1. Vino

Se ha empleado un vino tinto de la variedad *Vitis vinífera* L, c. v. Tinta del País, cosecha 2007, elaborado por la bodega Legaris (Pesquera de Duero) situada en la Denominación de Origen Ribera del Duero. Las características generales del vino se muestran en la tabla 12. El vino se ha envejecido en depósitos de acero inoxidable de 225 litros de capacidad con productos alternativos a las barricas de diferentes tamaños (astillas y tablones) y micro-oxigenación (MOX). Además se ha contado con un depósito control que contenía el mismo vino tinto pero al que no se le añadió madera.

Tabla 12- Parámetros químicos del vino inicial empleado en el experimento

<b>Parámetro</b>	<b>Valor</b>
Ácido tartárico	1,0 g/L
Ácido málico	0,1 g/L
Glicerina	8,8 g/L
Potasio	1590 mg/L
Grado alcohólico volumétrico	13,87 % VOL
Extracto seco	33,1 g/L
Acidez total	4,82 g/L
Acidez volátil	0,51 g/L
Anhídrido sulfuroso total	77 mg/L
Anhídrido sulfuroso libre	8 mg/L
Azúcares reductores	1,3 g/L
Densidad relativa	0,99485
pH	3,86

#### 3.2. Preparación de la madera

La madera empleada ha sido de roble francés (*Quercus petraea*), roble americano (*Quercus alba*) y roble español (*Quercus pyrenaica* Willd.) procedente de Salamanca. Todos los productos han sido fabricados en la tonelería Intona S.A., provenientes de una selección de madera realizada por las Dras. Cadahía y Fernández de Simón del Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA), y por los técnicos Broto y Lizarralde del Centro de Servicios y Promoción Forestal y de su Industria de Castilla y León (CESEFOR).

#### 3.3. Micro-oxigenación en los depósitos

Todos los depósitos de acero inoxidable, excepto el depósito control han dispuesto de un puesto de micro-oxigenación a través de difusores cerámicos (Oeno, AZ3). Se ha realizado una dosificación del oxígeno que ha variado entre 1,5 y 2 mL/L-mes.

La estrategia ha sido mantener en el vino unos niveles de oxígeno disuelto similares a los que pueden encontrarse en una barrica (entre 0,02 y 0,03 mg/L). Realizándose de esta manera una micro-oxigenación de dosis variable adaptativa a los valores de oxígeno disuelto que mantiene el vino, denominada micro-oxigenación flotante (FMOX).



Figura 42- Depósitos de acero inoxidable empleados en el experimento

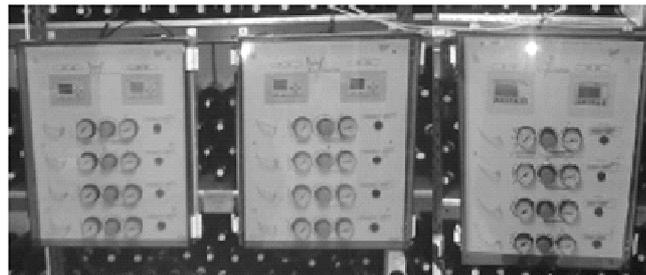


Figura 43- Paneles de control de los micro-oxigenadores

### 3.4. Diseño del experimento

La cantidad de madera necesaria en cada depósito ha sido calculada para mantener la misma relación superficie de madera/volumen de vino que hay en una barrica de 225 litros (2,01 m<sup>2</sup>). La dosis en gramos de astillas de roble se ha calculado en función del peso que han presentado las astillas en una cuartilla de 20 cm\*20 cm. En la tabla 13 se puede ver el peso de la cuartilla con las astillas de roble francés, americano y español, y el peso total de las astillas añadidas a cada depósito (dato promedio de 4 repeticiones). La dosis necesaria de madera ha sido de 6,5 g/L de astillas de *Quercus pyrenaica* Willd., 5 g/L de astillas de *Quercus petraea* y 6 g/L de astillas de *Quercus alba*.

En el caso de los tablones, la cantidad de madera necesaria en cada depósito también se ha realizado según la superficie/volumen de una barrica (8,933\*10<sup>-3</sup> m<sup>2</sup>/L). El tamaño medio de cada tablón era de 100 cm \* 8 cm \* 1 cm aproximadamente, introduciendo en cada depósito 11 tablones.

Tabla 13- Peso de las astillas añadidas a los depósitos

Peso astillas (gramos)	<i>Quercus petraea</i>	<i>Quercus alba</i>	<i>Quercus pyrenaica</i> Willd.
Cuartilla 20*20 cm	51,36 (n=4)	60,48 (n=4)	65,52 (n=4)
Depósito	1070	1260	1365

Todas las experiencias se han realizado en la sala de crianza de la E.T.S. de Ingenierías Agrarias (ETSIIAA) de Palencia, bajo unas condiciones controladas de humedad (75-85%) y de temperatura (15-16°C). El esquema con la distribución de los depósitos con astillas y tablones de madera de roble francés, americano y español realizado en el presente experimento se muestra en la figura 44 y en la tabla 14.

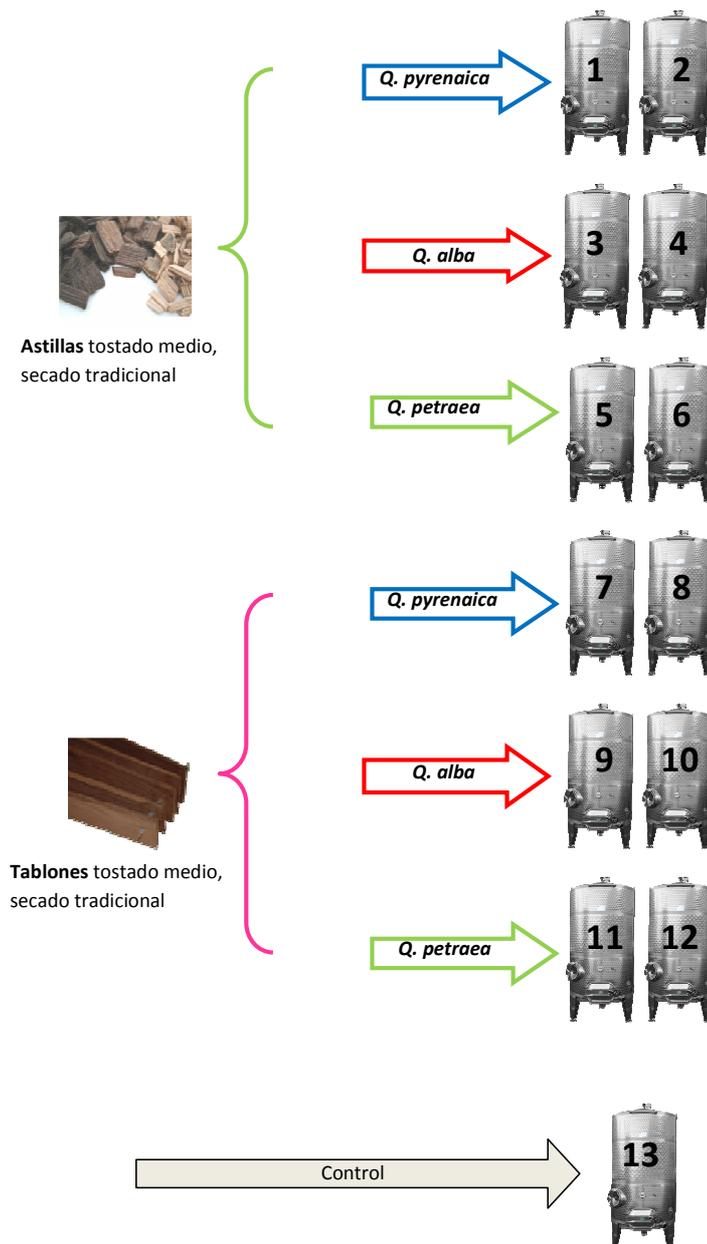


Figura 44- Esquema de distribución del experimento llevado a cabo en la sala de crianza

Tabla 14- Distribución esquemática del experimento con astillas y tablones de roble

Depósito	Formato	Origen
1	Astillas	<i>Q. pyrenaica</i> Willd.
2	Astillas	<i>Q. pyrenaica</i> Willd.
3	Astillas	<i>Q. alba</i>
4	Astillas	<i>Q. alba</i>
5	Astillas	<i>Q. petraea</i>
6	Astillas	<i>Q. petraea</i>
7	Tablones	<i>Q. pyrenaica</i> Willd.
8	Tablones	<i>Q. pyrenaica</i> Willd.
9	Tablones	<i>Q. alba</i>
10	Tablones	<i>Q. alba</i>
11	Tablones	<i>Q. petraea</i>
12	Tablones	<i>Q. petraea</i>
13	Control	Control

### 3.5. Muestreos de los vinos envejecidos

El vino de cada depósito ha sido muestreado y analizado cada 25 días aproximadamente a lo largo de los 195 días de permanencia del vino en contacto con la madera, una vez embotellado el vino se ha seguido analizando con menor frecuencia hasta los 795 días que ha permanecido en botella. La tabla 15 presenta las fechas en que se realizaron los muestreos y el análisis sensorial de los vinos durante el experimento, además de los días en que el vino ha permanecido con madera y/o botella.

Tabla 15- Fechas con los muestreos y catas del experimento

Muestreos	Cata	Permanencia en		Días de envejecimiento
		Madera (días)	Botella (días)	
03/05/2007	17/05/2007	0		0
04/06/2007	14/06/2007	32		32
18/06/2007		46		46
09/07/2007	23/07/2007	67		67
30/07/2007		88		88
20/08/2007		109		109
10/09/2007	20/09/2007	130		130
04/10/2007		154		154
14/11/2007*	17/12/2007	195		195
04/02/2008	28/01/2008	195	82	277
10/04/2008	10/04/2008	195	147	342
10/09/2008	14/10/2008	195	300	495
07/01/2009	20/04/2009	195	419	614
18/01/2010		195	795	990

\*Embotellado de las muestras

### 3.6. Métodos de análisis

En este apartado se describen los métodos de análisis de laboratorio y el análisis sensorial que han sido comunes a todos los experimentos realizados para el desarrollo de esta Tesis Doctoral. Los materiales y métodos específicos de cada experimento se han descrito en el capítulo oportuno.

Todas las muestras antes del inicio de su tratamiento analítico se han centrifugado a 3500 rpm durante 10 minutos, con el fin de eliminar partículas en suspensión que podrían interferir en las medidas espectrofotométricas.

#### 3.6.1. Determinación de los parámetros básicos

Los análisis de los parámetros básicos se han realizado por la Estación Enológica de Castilla y León (EECyL), empleando métodos oficiales para su determinación. En la tabla 16 se muestran los parámetros básicos analizados.

Tabla 16- Relación de métodos de análisis de los parámetros básicos

Parámetro	Método
Ácido tartárico (g/L)	Colorimetría
Ácido málico (g/L)	Método enzimático
Glicerina (g/L)	Método enzimático
Potasio (mg/L)	
Grado alcohólico volumétrico (% VOL)	PNT1-08 FTIR
Extracto seco (g/L)	Método densímetro
Acidez total (g/L)	RCEE 2676/90 Anx. Cap. 13 Ap. 5.2
Acidez volátil (g/L)	Método enzimático
Anhídrido sulfuroso total (mg/L)	Iodometría
Anhídrido sulfuroso libre (mg/L)	Iodometría
Azúcares reductores (g/L)	Método enzimático
Densidad relativa	PNT1-09
pH	RCEE 2676/90 Anx. Cap. 24
Glucosa + fructosa (g/L)	Método enzimático

### 3.6.2. Análisis de familias de compuestos fenólicos e índices

Los métodos de análisis de familias de compuestos fenólicos, así como los índices realizados en los vinos estudiados están basados en métodos de espectrofotometría UV-vis, obteniendo los resultados finales directamente como índice de absorbancia-densidad óptica, o en mg/L del compuesto mayoritario de la familia fenólica correspondiente. La equivalencia a mg/L se ha realizado a través de una recta de calibrado o a través del coeficiente de extinción molar del compuesto.

#### 3.6.2.1. Determinación de polifenoles totales

La determinación de los polifenoles totales ha sido realizada mediante el método de Folin-Ciocalteu, desarrollado en 1965 por Singleton. Se basa en la propiedad de oxidación de los compuestos fenólicos del vino en presencia del reactivo de Folin-Ciocalteu que se reduce en una mezcla de óxidos azules. Esta coloración presenta absorbancia a 750 nm y es proporcional a la concentración de compuestos fenólicos en el vino (Singleton y *col.*, 1965). La lectura de la absorbancia se transforma en mg/L de ácido gálico a través de una recta de calibrado.

#### Procedimiento:

Se emplean matraces aforados de 10 mL en los que se dispone:

- Muestra de vino:
  - o 0,040 mL de vino tinto
  - o 0,200 mL de reactivo de Folin
  - o 4 mL de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (75 g/L)
  - o Agua destilada para enrasar
- Blanco:
  - o 0,040 mL de agua destilada
  - o 0,200 mL de reactivo de Folin
  - o 4 mL de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (75 g/L)
  - o Agua destilada para enrasar

Una vez preparado, los matraces se agitan y se tapan. Tras esperar una hora se mide la absorbancia a 750 nm de la muestra frente al blanco ( $A = A_{\text{muestra}} - A_{\text{blanco}}$ ) en cubetas de vidrio de 1 cm de camino óptico. La lectura de la absorbancia se transforma en mg/L de ácido gálico mediante una recta de calibrado.

La recta de calibrado se prepara a partir de una disolución patrón muy concentrada de ácido gálico (2500 ppm), a partir de esta se preparan varias disoluciones de distinta concentración, mediante dilución con etanol al 12%. Esta recta de calibrado se emplea para la determinación de polifenoles totales y polifenoles poco polimerizados (figura 45).

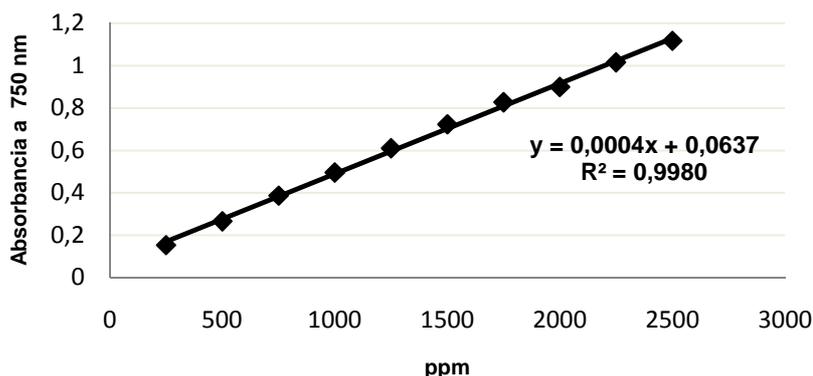


Figura 45- Recta de calibrado de polifenoles

#### Reactivos empleados:

- Reactivo de Folin (PANREAC): Mezcla de ácido fosfotúngstico ( $H_3PW_{12}O_4$ ) y ácido fosfomolibdico ( $H_3PMo_{12}O_{40}$ ).
- Solución de  $Na_2CO_3$  (75 g/L): La cual crea un ambiente básico necesario para que se produzca la reacción.
- Ácido gálico (SIGMA): Patrón para hacer la recta de calibrado. Se disuelve en el baño de ultrasonidos.
- Agua destilada
- Etanol (PANREAC) al 12%

#### **3.6.2.2. Determinación de polifenoles poco polimerizados**

Para la determinación de los polifenoles poco polimerizados se ha utilizado el método de Masquelier del año 1965. Primero se deben fraccionar los polifenoles según su tamaño molecular (según el grado de polimerización) y posteriormente precipitar y eliminar las moléculas muy polimerizadas. Esto se consigue saturando el vino con cloruro sódico (NaCl), ya que una concentración iónica tan alta en el vino tinto disminuye la solubilidad de las moléculas muy polimerizadas, y así se favorece su precipitación y posterior eliminación por centrifugación (Masquelier y *col.*, 1965). Una vez eliminados los compuestos fenólicos muy polimerizados, los poco polimerizados se pueden cuantificar mediante el método de Folin-Ciocalteu (método empleado para la determinación de los polifenoles totales).

Procedimiento:

Se toman 2,5 mL de vino tinto y se saturan con NaCl. Se centrifuga durante 20 minutos a 2500 rpm y se separa el sobrenadante del residuo. A continuación se añade al residuo 2,5 mL de disolución saturada de NaCl y se vuelve a centrifugar a 2500 rpm durante 20 minutos. El sobrenadante resultante se une con el anterior y se centrifuga 10 minutos a 3500 rpm. A continuación se determinan los polifenoles del sobrenadante 1 y 2 por el método de Folin-Ciocalteu que nos da el valor de los polifenoles poco polimerizados, siendo estos polifenoles los que no han precipitado con el cloruro sódico (NaCl).

Tubo de centrifuga + NaCl → Residuo 1 + sobrenadante 1

Tubo de centrifuga + NaCl → Residuo 2 + sobrenadante 2

Sobrenadante 1 + Sobrenadante 2 → Método de Folin-Ciocalteu

Reactivos empleados:

- Reactivo de Folin (PANREAC): Mezcla de ácido fosfotúngstico ( $H_3PW_{12}O_4$ ) y ácido fosfomolibdico ( $H_3PMo_{12}O_{40}$ ).
- Solución de  $Na_2CO_3$  (75 g/L): Crea un ambiente básico necesario para que se produzca la reacción.
- Ácido gálico (SIGMA): Patrón para crear la recta de calibrado. Se disuelve en el baño de ultrasonidos.
- Cloruro sódico (PANREAC)
- Agua destilada
- Etanol (PANREAC) al 12%

**3.6.2.3. Determinación de polifenoles muy polimerizados**

Se obtienen por diferencia entre los polifenoles totales determinados por el índice de Folin-Ciocalteu y los polifenoles poco polimerizados.

**3.6.2.4. Determinación de antocianos totales**

El contenido de antocianos totales ha sido determinado de acuerdo con el método de Ribéreau-Gayón y *col.* publicado en el año 1965, el cual se basa en la decoloración mediante bisulfito de sodio, donde la decoloración es proporcional a la concentración de antocianos libres. El resultado se expresa en mg/L de malvidín 3-*o*-glucósido.

Los resultados que proporciona este método son ligeramente altos, ya que el bisulfito se puede combinar con otros compuestos que posean insaturaciones (como grupos carbonílicos), pero aún así este método es más fiable que otros métodos alternativos, como el de diferencia de pH ya que la variación de la intensidad de color con el pH del medio está parcialmente afectada por la concentración de  $SO_2$  en el medio.

Procedimiento:

En tubos de ensayo grandes, se prepara una disolución inicial:

- 0,5 mL de muestra
- 0,5 mL de etanol
- 10 mL de HCl (2%)

A partir de esta disolución inicial se preparan dos tubos a los que llamaremos A y B:

- Tubo A:
  - o 5 mL de la disolución inicial
  - o 2 mL de agua destilada
  
- Tubo B:
  - o 5 mL de la disolución inicial
  - o 2 mL de NaHSO<sub>3</sub> al 16%

Los tubos se tapan cuidadosamente, se agitan y se espera 15 minutos. Tras ese tiempo se miden las absorbancias de ambos tubos a una longitud de onda de 520 nm en cubetas de vidrio de 1 cm de camino óptico frente a agua destilada (blanco).

La concentración de antocianos totales se expresa en mg/L de malvidín 3 *o*-glucósido (antociano mayoritario), y se obtiene multiplicando la diferencia de las absorbancias de los tubos A y B por el coeficiente de extinción molar de este antociano (875):

$$\text{Concentración antocianos totales (mg/L)} = 875 * (\text{Abs}_{\text{tubo A}} - \text{Abs}_{\text{tubo B}})$$

Reactivos empleados:

- Etanol (PANREAC)
- HCl al 2%. Se prepara a partir de HCl 37% (SCHARLAU) por dilución con agua destilada
- NaHSO<sub>3</sub> al 16%. Se prepara a partir de NaHSO<sub>3</sub> 40% (PANREAC)
- Agua destilada

**3.6.2.5. Determinación del índice de ionización**

El índice de ionización, inspirado en el trabajo de Somers y Evans de 1977, permite definir el porcentaje de antocianinas libres y combinadas que se encuentran en forma coloreada en el vino. El valor del índice de ionización para los vinos jóvenes oscila entre el 10 y el 30%. Este valor se incrementa a lo largo del envejecimiento, pudiendo alcanzar en vinos añejos valores del 80-90% (Somers y Evans, 1977).

Procedimiento:

En dos tubos de ensayo se dispone lo siguiente:

- Tubo A:
  - o 2,5 mL de vino
  - o 0,5 mL de agua destilada
  
- Tubo B:
  - o 2,5 mL de vino
  - o 0,5 mL de NaHSO<sub>3</sub> al 7%

Se tapan y se agitan, tras 10 minutos se lee la absorbancia a 520 nm en cubetas de 1 mm de camino óptico. Se calcula  $\Delta d\beta$  referido a 1 cm:

$$\Delta d\beta = (Abs - Abs) * \left(\frac{3}{2,5}\right) * 10$$

Paralelamente se preparan otros dos tubos y se añade lo siguiente:

- Tubo 1:
  - o 1 mL de vino
  - o 7 mL de HCl 0,1 N
  - o 2 mL de agua destilada
- Tubo 2:
  - o 1 mL de vino
  - o 7 mL de HCl 0,1 N
  - o 2 mL de NaHSO<sub>3</sub> al 7%

Los tubos se tapan y agitan, tras esperar 10 minutos se mide la absorbancia de ambos tubos a 520 nm en cubetas de 1 mm (tubo 1) y en cubetas de 1 cm (tubo 2) de camino óptico. A continuación se calcula  $\Delta d\gamma$  referido a 1 cm:

$$\Delta d\gamma = (Abs_{tubo1} \times 10 - Abs_{tubo2}) * 10$$

A partir de  $\Delta d\beta$  y  $\Delta d\gamma$  se calcula el índice de ionización:

$$\text{Índice de ionización} = (\Delta d\beta / \Delta d\gamma) * 100$$

#### Reactivos empleados:

- NaHSO<sub>3</sub> al 7%. Se prepara a partir de NaHSO<sub>3</sub> 40%(PANREAC), enrasando con agua destilada
- HCl 0,1 N. Se prepara a partir de HCl 37% (SCHARLAU), enrasando con agua destilada
- Agua destilada

#### **3.6.2.6. Determinación de taninos condensados o proantocianidinas**

La determinación de los taninos condensados ha sido realizado siguiendo el método de Ribéreau-Gayón del año 1966, el cual se basa en la propiedad que presentan los taninos condensados de liberar en medio ácido y caliente, por ruptura de los enlaces intermonoméricos, un carbocatión muy reactivo, que puede por oxidación dar lugar a una antocianidina, principalmente la cianidina. Por esta razón la reacción de determinación se lleva a cabo a 90°C y en contacto con el aire (Ribéreau-Gayón y col., 1966).

#### Procedimiento:

En matraces aforados de 10 mL se hace una dilución de la muestra de vino (1/50).

Se preparan dos tubos denominados A y B, donde se dispondrá:

- Tubo A:
  - o 2 mL de la muestra diluida
  - o 1 mL de agua destilada
  - o 6 mL de HCl puro (37%)
  
- Tubo B:
  - o 2 mL de la muestra diluida
  - o 1 mL de agua destilada
  - o 6 mL de HCl puro (37%)

El tubo A se tapa y se pone al baño maría a 90°C durante 30 minutos protegido de la luz, después se deja enfriar en la oscuridad. El tubo B se deja a temperatura ambiente, protegido también de la luz.

Posteriormente se añade 1 mL de etanol a los tubos A y B para resaltar y estabilizar el color.

Se mide la absorbancia de los dos tubos a la longitud de onda de 470 nm, en cubetas de vidrio de 1 cm de camino óptico. Por comparación con una solución de proantocianidinas provenientes de las pepitas de las uvas, se obtiene la concentración de taninos:

$$\text{Concentración de taninos (g/L)} = 19,33 * (\text{Abs}_{\text{tubo A}} - \text{Abs}_{\text{tubo B}})$$

Reactivos empleados:

- HCl 37% (SCHARLAU)
- Etanol (PANREAC)
- Agua destilada

### **3.6.2.7. Determinación del índice de etanol**

El índice de etanol da el porcentaje de taninos que están combinados con polisacáridos, y ha sido calculado de acuerdo con el método propuesto en 2003 por Ribéreau-Gayón (Ribéreau-Gayón y *col.*, 2003).

Procedimiento:

En dos tubos de ensayo se dispone lo siguiente:

- Tubo 1:
  - o 0,5 mL de vino
  - o 4,5 mL de etanol

Se homogeniza la mezcla y se deja reposar durante 24 horas a 10°C. Pasado este tiempo se centrifugan las muestras a 3500 rpm durante 10 minutos y se realiza una dilución con el sobrenadante 1:10 con agua destilada y se lee la absorbancia a 280 nm en cubetas de cuarzo de 1 cm de camino óptico ( $\text{Abs}_1$ ).

- Tubo 2:

Se realiza una dilución de la muestra de vino 0,25:25 con agua destilada. Posteriormente se mide la absorbancia a 280 nm en cubetas de cuarzo de 1 cm de camino óptico ( $Abs_2$ ).

El índice de etanol se calcula de la siguiente forma:

$$\text{Índice de etanol} = (Abs_2 - Abs_1) / Abs_2 * 100$$

Reactivos empleados:

- Etanol (PANREAC)
- Agua destilada

**3.6.2.8. Determinación del índice de gelatina**

El índice de gelatina ha sido determinado siguiendo el método propuesto en 2003 por Ribéreau-Gayón. Se basa en la propiedad de los taninos de reaccionar con las proteínas formando con ellas combinaciones estables. Los taninos condensados presentes en el vino precipitan con la gelatina de manera homogénea y reproducible, de forma que pone en evidencia la capacidad de reacción de los taninos del vino con las proteínas de la gelatina. Esta reactividad interviene en la sensación de astringencia del vino tinto.

Los valores varían entre 20 y 80, según el origen de los vinos y su modo de vinificación. Un valor superior a 60, indica la presencia de taninos muy reactivos, que pueden ser responsables de la dureza, incluso de la astringencia. Un valor inferior a 35 ó 40, revela una ausencia de equilibrio y puede ser el origen de la sensación de vacío y amargor. Los valores entre 40 y 60, que muestran cierta reactividad de los taninos, pueden caracterizar tanto a los vinos flexibles y con cuerpo, como a los vinos duros (Ribéreau-Gayón y *col.*, 2003).

Procedimiento:

En dos tubos de centrifuga pequeños se añade lo siguiente:

- Tubo 1:
  - o 5 mL de vino
  - o 1 mL de agua destilada
- Tubo 2:
  - o 5 mL de vino
  - o 1 mL de solución de gelatina (35 g/L)

Los tubos se tapan, se homogeniza la mezcla y se deja reposar durante 72 horas a 10°C. Pasado este tiempo se centrifugan las muestras a 3500 rpm durante 10 minutos y se realiza una dilución 1:50 con agua destilada. Posteriormente se determina la concentración de taninos en el sobrenadante de ambos tubos (1 y 2) a partir del método de determinación de taninos condensados o proantocianidinas.

Cálculo del índice de gelatina:

$$\text{Índice de gelatina} = ((T1-T2)/T1) * 100$$

Reactivos empleados:

- Gelatina 80-100 Blooms (PANREAC)
- Etanol (PANREAC)
- Agua destilada

**3.6.2.9. Determinación de catequinas**

Este método ha sido desarrollado por Swain y Hillis en el año 1959. Se basa en la capacidad de condensación de los fenoles con los compuestos carbonílicos en medio ácido (Swain y Hillis, 1959).

La vainillina es un aldehído relativamente estable a elevadas concentraciones de ácidos y por esta razón se emplea como reactivo.

Las catequinas forman un compuesto de color rojizo al reaccionar con el catión carbonio formado a partir de la vainillina, se mide la absorbancia de este compuesto a 500 nm. Al mismo tiempo los grupos carbonilo impiden la reacción de la vainillina con ácidos fenólicos, antocianos y flavonas por lo que solo se produce la condensación de catequinas y leucoantocianos. La concentración de catequinas se expresa como mg/L de D-catequina.

Procedimiento:

Se utilizan tubos de ensayo graduados de 10 mL, a los que llamaremos A, B y C.

- Tubo A:
  - o 0,1 mL de muestra
  - o 2 mL de vainillina
  - o Enrasar a 10 mL con HCL (70%)
- Tubo B:
  - o 0,1 mL de muestra
  - o Enrasar a 10 mL con HCL (70%)
- Tubo C:
  - o 2 mL de vainillina
  - o Enrasar a 10 mL con HCL (70%)

Tras 25 minutos se mide la absorbancia de la disolución del tubo A y del tubo B frente a la disolución del tubo C (será el blanco), a una longitud de onda de 500 nm en una cubeta de vidrio de 1 mm de camino óptico. La diferencia entre estas absorbancias (A-B) se llevan a la recta de calibrado, obteniendo los mg/L de D-catequina.

La recta de calibrado se obtiene a partir de un patrón muy concentrado de D-catequina que se disuelve en disolución de etanol (12%). Se preparan patrones con concentraciones comprendidas entre 500-2700 ppm (figura 46).

Reactivos empleados:

- HCL (70%). Se prepara a partir de HCL 37% (SCHARLAU) por dilución con agua destilada
- Reactivo de vainillina. Se pesa 1 gramo de vainillina (MERCK) y se enrasa a 100 mL con HCL (70%)
- Agua destilada

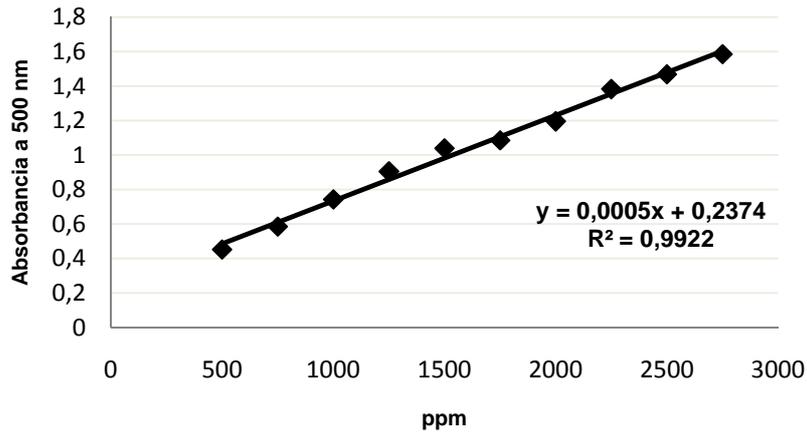


Figura 46- Recta de calibrado de catequinas

### 3.6.3. Determinación de la edad química del vino

La edad química de un vino se ha determinado siguiendo el método propuesto por Somers y Evans en 1977. La edad química se ha definido como “su potencial de envejecimiento”, el cual se cuantifica mediante los parámetros de edad química (Somers y Evans, 1977).

#### Procedimiento:

La determinación de los parámetros de edad química se hace a partir de las siguientes medidas espectrofotométricas del equilibrio antociánico:

- $Abs_{520}^{HCl}$  : En un tubo de ensayo se toman 100  $\mu$ L de vino tinto y se añaden sobre 10 mL de HCl 1 M, se tapa y se agita. Después de tres horas se mide la absorbancia a 520 nm en cubetas de vidrio de 1 cm frente a agua destilada. La medida obtenida se corrige por la dilución multiplicándola por 101.
- $Abs_{520}^{SO_2}$  : En un tubo de ensayo se toman 2 mL de vino tinto y se añaden a 160  $\mu$ L de solución de hidrogeno sulfito sódico 0,54 M. Se mezcla y tras un minuto se mide la absorbancia a 520 nm en cubeta de vidrio de 1 mm frente a agua destilada. La medida se corrige por la dilución multiplicándola por 1,08 y se multiplica también por 10 para referirlo a cubeta de 1 cm.
- $Abs_{520}^{CH_3CHO}$  : En un tubo de ensayo se añaden 20  $\mu$ L de solución acuosa de acetaldehído al 10% a una muestra de 2 mL de vino, se agita y se tapa. Tras 45 minutos se mide la absorbancia a 520 nm en cubetas de vidrio de 1 mm. Esta medida se corrige por la dilución multiplicándola por 1,01 y para referirla a una cubeta de 1 cm se multiplica también por 10.
- $Abs_{520}$  : Se mide la absorbancia del vino a 520 nm en una cubeta de vidrio de 1 mm. Esta medida se corrige multiplicándola por 10, para referirla a una cubeta de 1 cm.

Con estas absorbancias medidas y corregidas se obtienen los parámetros de edad química:

- $\alpha$ : Porcentaje de antocianos que se encuentran como ion flavilium.

$$\alpha = \frac{(Abs_{520} - Abs_{520}^{SO_2})}{(Abs_{520}^{HCl} - (5/3)Abs_{520}^{SO_2})} * 100$$

- $\alpha\alpha$ : Porcentaje de antocianos que se encuentran como ion flavilium después de suprimir el efecto decolorante del  $SO_2$ .

$$\alpha\alpha = \frac{(Abs_{520}^{CH_3CHO} - Abs_{520}^{SO_2})}{Abs_{520}^{HCl} - (5/3)Abs_{520}^{SO_2}} * 100$$

- $i$ : Relación de los pigmentos poliméricos con respecto a los antocianos del vino.

$$i = \frac{Abs_{520}^{SO_2}}{Abs_{520}^{CH_3CHO}}$$

- $ii$ : Relación de los pigmentos poliméricos con respecto a los antocianos del vino en forma de ion flavilium.

$$ii = \frac{Abs_{520}^{SO_2}}{Abs_{520}^{HCl}}$$

- $i/ii$ : Relación de los antocianos del vino en forma de ion flavilium con respecto a los antocianos del vino.

#### Reactivos empleados:

- HCl 1 M, partiendo de HCl 37% (SCHARLAU)
- Solución de  $NaHSO_3$  0,54 M, preparado a partir  $NaHSO_3$  al 40% (PANREAC)
- Solución acuosa de acetaldehído 10%, a partir de acetaldehído 99% (PANREAC)
- Agua destilada

#### **3.6.4. Determinación de los parámetros de copigmentación**

La copigmentación es un proceso de asociación molecular entre pigmentos y otras moléculas orgánicas, normalmente no coloreadas, lográndose mayor estabilidad que la que poseen los antocianos libres. Los parámetros que se han utilizado para medir la copigmentación de las muestras de vino analizadas han sido los propuestos en el año 2001 por Boulton (Boulton, 2001).

#### Procedimiento:

Previo a la realización de este análisis se ajusta el pH del vino a 3,6, de forma que los componentes de coloración en los diferentes vinos dejen de ser función del pH, ya que éste

influye en la ionización de los antocianos libres así como en la coloración de la forma copigmentada y del polímero coloreado.

También se centrifugan las muestras de vino durante 10 minutos a 3500 rpm, el motivo de esta operación es evitar que las partículas que estén en suspensión influyan en las medidas.

A continuación se realizan las siguientes medidas espectrofotométricas:

- $Abs_{520}^{CH_3CHO}$ : Se añaden 20  $\mu$ L de la solución acuosa de acetaldehído al 10% a 2 mL de vino. Pasados 45 minutos se mide la absorbancia a 520 nm en cubeta de vidrio de 1 mm. La lectura se corrige multiplicándola por 10,1 debido a la dilución y el camino óptico.
- $Abs_{520}^{SO_2}$ : Se añaden 160  $\mu$ L de una disolución de hidrogeno sulfito sódico 0,9 M a 2 mL de vino. Tras un minuto se mide la absorbancia a 520 nm en cubetas de vidrio de 1 mm. La medida obtenida se corrige por la dilución y camino óptico multiplicándola por 10,80
- $Abs_{520}^{20}$ : Se colocan 300  $\mu$ L de vino tinto junto con 5700  $\mu$ L de disolución tampón. Pasados 10 minutos se mide la absorbancia a 520 nm en cubeta de vidrio de 1 cm. La medida obtenida se corrige multiplicándola por 20 debido a la dilución.

Esta disolución se reserva para las siguientes medidas:

- $Abs_{280}$ : Se utiliza la disolución realizada anteriormente y se mide la absorbancia a 280 nm en cubetas de cuarzo de 1 cm de camino óptico. La medida obtenida se corrige por la dilución multiplicándola por 20. Si la medida se sale del rango se hace una dilución previa del vino 1:10 y entonces la lectura se corrige por 20 y por 10.
- $Abs_{365}$ : Se mide la absorbancia a 365 nm en cubetas de vidrio de 1 cm de camino óptico. La medida obtenida se corrige multiplicándola por 20 debido a la dilución.

Con estas absorbancias medidas y corregidas se obtienen:

- *Color debido a los antocianos copigmentados:*

$$C = (Abs_{520}^{CH_3CHO} - Abs_{520}^{20})$$

- *Fracción de color debida a la copigmentación:*

$$COP = (Abs_{520}^{CH_3CHO} - Abs_{520}^{20}) / Abs_{520}^{CH_3CHO}$$

- *Color debido a los antocianos libres:*

$$TA = (Abs_{520}^{20} - Abs_{520}^{SO_2})$$

- *Fracción de color debida a los antocianos libres:*

$$AL = (Abs_{520}^{20} - Abs_{520}^{SO_2}) / Abs_{520}^{CH_3CHO}$$

- *Color debido al pigmento polimérico:*

$$E_p = Abs_{520}^{SO_2}$$

- *Fracción de color debida al pigmento polimérico:*

$$PP = Abs_{520}^{SO_2} / Abs_{520}^{CH_3CHO}$$

- *Estimación del contenido de cofactores flavonoles:*

$$FC = Abs_{365}$$

- *Estimación del contenido de fenoles totales (monómeros y taninos):*

$$TP = Abs_{280}$$

#### Reactivos empleados:

- Solución de NaHSO<sub>3</sub> 0,9 M, preparada a partir de NaHSO<sub>3</sub> 40 % (PANREAC)
- Solución acuosa de acetaldehído 10%, a partir de acetaldehído 99% (PANREAC)
- Disolución tampón, formada por 120 mL de etanol, 2,5 gramos de tartrato sodio potásico 4 hidrato (PANREAC) y 880 mL de agua bidestilada. Esta disolución se ajusta a pH 3,6
- NaOH 1 N y HCl 1 N para ajustar el pH de los vinos
- Agua destilada

### **3.6.5. Determinación de los parámetros cromáticos**

El color de un vino es uno de los elementos visuales más importantes de que disponemos porque aporta gran cantidad de información y de gran relevancia. El color es una sensación que percibimos visualmente a partir de la refracción o reflexión de la luz en la superficie de los objetos. El vino absorbe parte de las radiaciones de luz que incide y refleja otra, la cual llega a los ojos del observador y hace que experimente la sensación de color. El espectro de absorción de un vino presenta un máximo hacia los 520 nm, que corresponde al color rojo y unas componentes amarilla (420 nm) y azul (620 nm) que determinan un triángulo.

Se emplean dos métodos para el análisis del color del vino, el método de Glories para los parámetros estándar y el método CIELab para hallar las coordenadas cromáticas del espacio CIELab.

#### **3.6.5.1. Parámetros estándar**

Estos parámetros se determinan de acuerdo con la metodología descrita por Glories (Glories, 1984 a-b).

#### Procedimiento:

En una cubeta de vidrio de 1 mm se miden las absorbancias a 420, 520 y 620 nm del vino previamente centrifugado. El resultado se multiplica por 10 para referirlo a la cubeta estándar de 10 mm de camino óptico.

La intensidad colorante nos da una idea de cuánto color posee el vino, siendo la suma de cada uno de los componentes:

$$IC = Abs_{420} + Abs_{520} + Abs_{620}$$

La tonalidad nos indica la importancia relativa de la componente amarilla sobre la componente roja, se expresa en tanto por ciento:

$$T = (Abs_{420}/Abs_{520}) * 100$$

Las componentes amarilla, roja y azul del color se determinan como el cociente entre cada una de ellas respecto a la intensidad colorante, expresadas también como tanto por ciento. Expresan la importancia relativa de cada uno de estos colores en el global del vino:

$$\text{Componente amarilla (A420\%)} = (Abs_{420}/IC) * 100$$

$$\text{Componente roja (A520\%)} = (Abs_{520}/IC) * 100$$

$$\text{Componente azul (A620\%)} = (Abs_{620}/IC) * 100$$

El aspecto del color (%dA) está relacionado con la forma del espectro. Cuando el vino presenta un color rojo vivo, el máximo a 520 nm es estrecho y bien definido, en cambio es aplastado y relativamente amplio cuando es rojo oscuro o teja.

$$dA\% = (1 - (Abs_{420} + Abs_{620}) / 2 * Abs_{520}) * 100$$

### **3.6.5.2. Coordenadas cromáticas**

El sistema CIELab (Bakker y col., 1986; CIE, 1986) se determina a partir de los valores triestimulo X, Y y Z, los cuales representan los tres colores base, X: rojo virtual, Y: verde virtual y Z: azul virtual, con los que se puede reproducir mediante combinación la totalidad de los colores existentes. Por tanto estas coordenadas son en realidad una expresión numérica que representa la proporción relativa de cada uno de los colores base necesarios para reproducir en el ojo del observador, el color concreto del objeto analizado.

#### Procedimiento:

El cálculo simple de estos valores triestimulo se obtiene tras la lectura de la transmitancia a 450, 520, 570 y 639 nm en una cubeta de vidrio de 1 mm de camino óptico (previa centrifugación) frente a un blanco de agua destilada.

#### Cálculos:

A través de un programa de ordenador conectado al espectrofotómetro obtenemos los parámetros CIELab: L\*, a\*, b\*, H\* y C\*, el cual aplica los siguientes cálculos:

Mediante las coordenadas L\*, a\* y b\* se puede definir un color dentro del espacio CIELab. Los tres ejes representan graduaciones entre colores opuestos. Para simplificar más la expresión del color, las coordenadas a\* y b\* del espacio CIELab pueden transformarse en coordenadas esféricas H\* y C\*. La figura 47 muestra el espacio CIELab de color con las coordenadas colorimétricas a\* y b\* y sus magnitudes derivadas C\* y H\*.

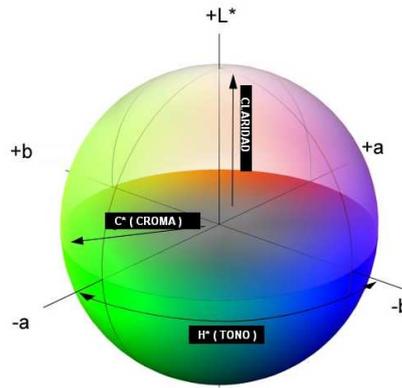


Figura 47- Espacio CIE Lab de color (fuente: adaptado de www.genuardis.net, fecha de consulta: febrero 2012)

El cálculo de  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  se determina a partir de los valores triestimulo X, Y y Z y las coordenadas  $C^*$  y  $H^*$  se determinan a partir de  $a^*$  y  $b^*$ :

- Claridad:

$$L^* = 116(Y/100)^{1/3} - 16$$

- Componente rojo-verde:

$$a^* = 500 * [(X/94,825)^{1/3} - (Y/100)^{1/3}]$$

- Componente amarillo-azul:

$$b^* = 200 * [(Y/100)^{1/3} - (Z/107,383)^{1/3}]$$

- Croma:

$$C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$$

- Tono:

$$H^* = \text{arctg}(b^*/a^*)$$

### 3.6.6. Determinación de los compuestos de bajo peso molecular mediante HPLC

El método para la determinación de compuestos fenólicos de bajo peso molecular mediante HPLC ha sido publicado en 2011 en la revista *Food Science and Technology International* y la referencia es 2011 17(5): 429.

Article



FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY INTERNATIONAL

#### Determination of low-molecular mass phenols in red wines: The influence of chips, staves and micro-oxygenation aging tank

L. Gallego, I. Nevares, J.A. Fernández and M. del Álamo

Food Science and Technology International 17(5) 429-438

El objetivo principal de este trabajo ha sido la identificación y cuantificación de los principales compuestos fenólicos presentes en los vinos tintos. Se ha mejorado el método desarrollado por el equipo de la Dra. Del Álamo (Del Álamo y *col.*, 2004c, 2004d), para ello se ha realizado una extracción en fase sólida mediante cartuchos HLB, y para la identificación y detección de los compuestos se ha empleado un cromatógrafo de líquidos con detector de diodo array (HPLC-DAD) (Gallego y *col.*, 2011a).

Se han identificado ácidos fenólicos: ácido gálico, ácido protocatéquico, ácido gentísico, ácido vainillínico, ácido caféico, ácido siríngico, ácido *p*-cumárico, ácido ferúlico, ácido sinápico, ácido clorogénico, ácido trans-caftárico y ácido trans-cutárico, aldehídos fenólicos: aldehído protocatéquico, *p*-hidroxibenzaldehído y aldehído vainillínico, y aldehídos furánicos: furfural y 5 Hidroxi metil furfural (5HMF), y catequina, epicatequina y escopoletina en un mismo vino tinto.

### **3.6.6.1. Validación del método**

Previo al análisis cuantitativo de los vinos, la precisión (repetitividad y reproducibilidad) y la exactitud se han evaluado.

El porcentaje de recuperación debe ser estimado para cada uno de los compuestos estudiados al realizar la cuantificación. Para calcular el porcentaje de recuperación de cada compuesto, un vino sintético fue adicionado con cada patrón en diferentes niveles de concentración. Se seleccionaron niveles de los compuestos similares a aquellos previamente alcanzados en muestras de vino (Del Álamo y *col.*, 2004c, 2004d; Fernández de Simón y *col.*, 2003; Malovaná y *col.*, 2001). Las cantidades añadidas y los porcentajes de recuperación son mostrados en la tabla 17.

Se ha calculado el porcentaje de recuperación de los derivados furánicos (furfural, 5MF, 5HMF), escopoletina, ácido clorogénico, ácido gálico, ácido protocatéquico, ácido gentísico, ácido vainillínico, ácido caféico, ácido siríngico, ácido *p*-cumárico, ácido ferúlico, ácido sinápico, aldehído protocatéquico, *p*-hidroxibenzaldehído, aldehído vainillínico, catequina y epicatequina. El porcentaje de recuperación fue calculado como el área del fenol extraído con cartuchos entre el área del fenol sin extraer.

Los porcentajes de recuperación obtenidos (media de cuatro repeticiones) han sido similares a los presentados por Del Álamo y su grupo en el año 2004 para los ácidos gálico, protocatéquico, sinápico y vainillínico (del Álamo y *col.* 2004d), mientras que han obtenido mayores porcentajes de recuperación para el aldehído protocatéquico, ácido caféico, ácido siríngico y ácido gentísico. Los nuevos compuestos como la escopoletina, el ácido clorogénico, ácido trans-caftárico, ácido trans-cutárico, y los derivados furánicos furfural, 5MF y 5HMF han presentado unos porcentajes de recuperación que han variado desde 80% para el ácido clorogénico, 55% para escopoletina y 64% para el furfural hasta el 37% para el 5HMF y menor del 5% para el 5MF. El porcentaje de recuperación tan bajo del 5MF fue debido a que este compuesto quedaba retenido en el cartucho según las condiciones de extracción realizadas, por lo que no se tuvo en cuenta y se han cuantificado 20 compuestos fenólicos.

Tabla 17- Resultados de la repetitividad y reproducibilidad del método y % de recuperación de los compuestos estudiados

Compuesto	Cantidad añadida (mg/L)	% de recuperación	Repetitividad <sup>a</sup> (RSD %)		Reproducibilidad <sup>b</sup> (RSD %)	
			Área pico	Tr	Área pico	Tr
Ácido gálico	52	88	4,32	0,75	0,61	0,21
5HMF	40	37	7,61	0,45	1,65	0,38
Ácido protocatéquico	16	88	5,33	0,15	0,67	0,16
Furfural	80	64	6,19	0,20	0,44	0,36
Ácido gentísico	10,4	86	5,63	0,33	2,60	0,15
Aldehído protocatéquico	3,2	71	6,47	0,53	4,39	0,15
p-hidroxibenzaldehído	6	86	5,29	0,36	0,72	0,13
5MF	80	4	5,50	0,24	0,81	0,12
Ácido vainillínico	4,8	83	7,05	0,15	4,24	0,23
Catequina	95,2	65	5,93	0,47	0,49	0,15
Ácido caféico	15,2	88	5,36	0,11	0,80	0,10
Vainillina	5,6	86	5,43	0,13	0,89	0,10
Ácido siríngico	8,8	89	3,93	0,53	1,87	0,40
Ácido clorogénico	16	80	8,67	0,12	1,38	0,47
Epicatequina	60	46	5,53	0,46	0,98	0,10
Ácido p-cumárico	16	89	6,26	0,41	3,46	0,08
Escopoletina	80	55	5,13	0,17	1,61	0,60
Ácido ferúlico	3,2	80	5,10	0,36	0,70	0,07
Ácido sinápico	4,8	85	4,32	0,75	0,61	0,21

Precisión expresada como RSD (%) para las áreas de los picos y Tr en comparación con los patrones.

<sup>a</sup>Número de inyecciones de una disolución patrón (n=12); Tr: Tiempo de retención

<sup>b</sup>Análisis realizados en 4 días diferentes (n=4); cada solución patrón fue inyectada dos veces por día

La desviación estándar relativa (en el área del pico) para 12 inyecciones de la disolución del patrón ha sido menor del 6% para el p-hidroxibenzaldehído, vainillina, ácido gálico, ácido protocatéquico, ácido gentísico, ácido caféico, ácido siríngico, ácido ferúlico, ácido sinápico, catequina, epicatequina y escopoletina, de 6% para el furfural, aldehído protocatéquico y ácido p-cumárico, y 7-8% para 5HMF, ácido vainillínico, y ácido clorogénico.

La reproducibilidad entre días ha sido evaluada como el valor de la desviación estándar relativa (RSD %) obtenido de la inyección de la disolución del patrón en 4 días diferentes. En todos los patrones se ha obtenido un valor RSD (%) en el pico del área menor de 4,4%. Respecto a los tiempos de retención (Rt), la repetitividad obtenida cuando se inyectaron 18 disoluciones patrón ha sido aproximadamente menor de 0,76%, y la reproducibilidad durante 4 días diferentes ha sido menor de 0,6% (tabla 17).

### 3.6.6.2. Preparación de la muestra

La determinación de los fenoles de bajo peso molecular en los vinos presenta ciertos problemas por la cantidad de interferencias que se encuentran, debido a que la matriz del vino es muy compleja. Esto hace necesario la preparación de la muestra, la cual nos permite separar estos compuestos de interés que se quieren determinar del resto de componentes presentes en el vino.

La muestra se ha centrifugado y 15 mL de vino se han concentrado hasta 0,5 mL en un rotavapor, después se ha redisolto en 2,5 mL de una mezcla etanol-tartárica (12% etanol y 3,5 g/L de ácido tartárico), concentrándose cada muestra 5 veces. A continuación se ha realizado una extracción en fase sólida (SPE).

**a) Extracción en fase sólida.** La extracción en fase sólida se ha realizado con cartuchos Oasis HLB 6 cc (200 mg) y un equipo para la extracción con 20 posiciones y bomba de vacío (figura 48). Los cartuchos se han acondicionado con 3 mL de acetonitrilo (AcN), 3 mL de metanol (MeOH) y 3 mL de una mezcla etanol-tartárica (12% etanol, 3,5 g/L ácido tartárico). La carga del cartucho se ha realizado con 1 mL del vino concentrado, a continuación se ha lavado cada cartucho con 5 mL de una solución de metanol al 12%.

La elución de los compuestos de interés se ha obtenido en 2 fracciones, los compuestos neutros se han obtenido al añadir 1,5 mL de la disolución de ácido acético al 5% en AcN:H<sub>2</sub>O (10:90), y finalmente los compuestos ácidos se han eluido con 1,5 mL de la disolución de amoníaco al 2 % en AcN:H<sub>2</sub>O (10:90). Esta mezcla con las dos fracciones se ha inyectado en el cromatógrafo para la determinación de los compuestos fenólicos de interés.

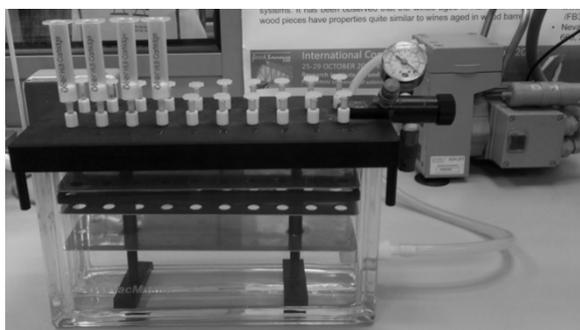


Figura 48- Equipo para la extracción en fase sólida

### 3.6.6.3. Análisis HPLC y reactivos empleados

La identificación de los compuestos fenólicos se ha realizado en un cromatógrafo de líquidos HPLC 1100 (LC-DAD). Una columna Hypersil ODS de 200 mm de longitud y 4,6 mm de diámetro interno se ha empleado para la separación de los compuestos fenólicos de interés. Se han empleado tres disoluciones para la separación de los compuestos de bajo peso molecular, eluyente A formado por ácido acético y H<sub>2</sub>O (2:98), eluyente B acetonitrilo y eluyente C compuesto por acetonitrilo, ácido acético y H<sub>2</sub>O (20:2:78).

El volumen de muestra inyectado fue de 10 µL. En la tabla 18 se reflejan las condiciones cromatográficas y el flujo de gradiente empleado para la separación de los compuestos de interés. El equipo se acondicionó después de cada muestra, empleando las condiciones iniciales durante 10 minutos previo a la inyección de la siguiente muestra.

Tabla 18- Condiciones cromatográficas empleadas para el análisis de los compuestos fenólicos de bajo peso molecular

Tiempo (min)	Eluyente A (%)	Eluyente B (%)	Eluyente C (%)	Flujo (mL/min)
0	100	0	0	1
55	30	0	70	1
56	0	0	100	1
59	100	0	0	1
65	100	0	0	1
70	100	0	0	1

Los reactivos y patrones empleados para la determinación de los compuestos fenólicos de bajo peso molecular han sido los siguientes:

- Agua bidestilada (Mili-Q)
- Ácido acético glacial, SCHARLAU
- Acetonitrilo, SCHARLAU
- Etanol, PANREAC
- Ácido (+)-tartárico, PANREAC
- Ácido gálico, SIGMA
- Ácido gentísico, SIGMA
- Ácido ferúlico, SIGMA
- Ácido caféico, SIGMA
- Ácido siríngico, SIGMA
- Ácido sinápico, SIGMA
- Ácido *p*-cumárico, SIGMA
- Ácido vainillínico, SIGMA
- Ácido protocatéquico, SIGMA
- Aldehído protocatéquico, SIGMA
- *p*-hidroxibenzaldehído, SIGMA
- Vainillina, MERCK
- (+) – Catequina, SIGMA
- (-) – Epicatequina, SIGMA
- 2-Furfuraldehído, FLUKA
- 5-Hidroximetil-2 Furfuraldehído, FLUKA
- Ácido clorogénico, SIGMA
- Escopoletina , FLUKA

#### **3.6.6.4. Condiciones de detección**

Los compuestos fenólicos han sido identificados comparando el tiempo de retención y el orden de elución de los patrones de esos compuestos a identificar, bajo las mismas condiciones y a las tres longitudes de onda (254, 280 y 340 nm).

Los ácidos trans-caftárico y trans-cutárico no se han podido identificar mediante patrones al no existir, debido a su formación a partir de otros ácidos. Para su identificación se tuvo como referencia el trabajo de Monagas y su equipo del año 2005, empleando para ello el espectro de estos compuestos, las longitudes de onda y los tiempos de retención (Monagas y *col.*, 2005c).

La tabla 19 muestra los compuestos fenólicos de bajo peso molecular que han sido identificados y cuantificados, el gradiente empleado, el tiempo de retención con la desviación estándar ( $n=12$ ), las longitudes de onda de detección y de cuantificación y los límites de detección y de cuantificación, los cuales se han calculado como 3 y 10 veces la señal-ruido, respectivamente.

Tabla 19- Compuestos fenólicos de bajo peso molecular identificados y cuantificados en los vinos tintos estudiados.

Compuesto	Tr±S.D. <sup>(a)</sup>	λ cuantificación <sup>(b)</sup>	λ detección <sup>(c)</sup>	LD <sup>(d)</sup>	LC <sup>(e)</sup>
Ácido gálico	5,01 ± 0,01	280	254	0,39	0,54
5HMF	7,29 ± 0,03	280	254, 340	0,35	0,55
Ácido protocatéquico	8,12 ± 0,01	254	280	0,59	0,72
Ácido trans-caftárico	8,75 ± 0,15	340	254, 280	0,37	0,47
Furfural	9,08 ± 0,03	280	254, 340	2,78	2,85
Ácido gentísico	11,14 ± 0,01	340	254	0,57	0,83
Aldehído protocatéquico	11,25 ± 0,02	280	254, 340	0,19	0,28
Ácido trans-cutárico	12,73 ± 0,12	340	254, 280	0,44	0,55
<i>p</i> -OHbenzaldehído	16,73 ± 0,02	280	254	0,46	0,51
Ácido vainillínico	19,25 ± 0,02	254	280	0,25	0,35
Catequina	20,09 ± 0,04	280	254	3,19	4,04
Ácido caféico	22,66 ± 0,03	340	254, 280	0,37	0,47
Vainillina	25,15 ± 0,02	280	254, 340	0,11	0,19
Ácido siríngico	25,98 ± 0,03	280	254	0,57	0,70
Ácido clorogénico	26,00 ± 0,10	340	254, 280	0,43	0,62
Epicatequina	32,07 ± 0,03	280	254	1,46	2,17
Ácido <i>p</i> -cumárico	32,33 ± 0,14	280	254, 340	0,44	0,55
Escopoletina	40,04 ± 0,03	340	254, 280	0,44	0,55
Ácido ferúlico	40,38 ± 0,23	340	254, 280	0,29	0,38
Ácido sinápico	45,86 ± 0,03	340	254, 280	0,22	0,34

a) Tr ± S.D.: Tiempo de retención (min) ± desviación estándar (n=12), (b) Longitud de onda de cuantificación (nm), (c) Longitud de onda de detección (nm), (d) Límite de detección, (e) Límite de cuantificación

### 3.6.6.5. Cuantificación

La cuantificación de cada compuesto se ha realizado a su máxima longitud de onda (254, 280 o 340 nm) (tabla 19). Se ha realizado un calibrado utilizando el método del patrón externo con el fin de llevar a cabo la determinación cuantitativa de los compuestos de interés en los vinos.

Los ácidos trans-caftárico y trans-cutárico han sido cuantificados con los ácidos caféico y *p*-cumárico respectivamente, al ser compuestos que se forman a partir de estos ácidos.

Como la identificación de estos compuestos fenólicos en el vino es muy compleja debido a que no sólo se detectan a una longitud de onda, se ha tenido en cuenta la relación de absorbancias, es decir la relación que existe de cada compuesto entre las 3 longitudes de onda a las que se detecta (254, 280 y 340 nm) (tabla 20).

La calibración de los 18 compuestos se ha realizado con 2 mezclas de patrones, **mezcla 1** (ácido gálico, furfural, 5HMF, aldehído protocatéquico, ácido gentísico, ácido protocatéquico, catequina, ácido caféico, ácido *p*-cumárico, ácido sinápico, vainillina, ácido siríngico, ácido vainillínico, escopoletina y *p*-hidroxibenzaldehído) y **mezcla 2** (ácido clorogénico, epicatequina y ácido ferúlico), las cuales se han realizado con diferentes concentraciones mediante su dilución en una solución de vino sintético (12% etanol y 3,5 g/l de ácido tartárico) y se han preparado según el método de extracción descrito previamente.

La tabla 21 recoge los rangos de concentración utilizados para hacer la recta de calibrado de cada compuesto (seis niveles por compuesto), la ecuación de regresión y el coeficiente de determinación ( $r^2$ ). La calibración ha presentado buenos resultados con unos valores del coeficiente de determinación ( $r^2$ ) superiores a 0,994, excepto para el aldehído protocatéuico, vainillina, 5HMF, escopoletina, ácido clorogénico, ácido gentísico, ácido ferúlico y ácido gentísico cuyos valores han oscilado entre 0,986 y 0,994.

Tabla 20- Relación de absorbancias

Compuesto	A/D <sup>(a)</sup>	A/E <sup>(b)</sup>	D/E <sup>(c)</sup>
Ácido gálico	1,56		
5HMF	4,41	383,05	86,33
Ácido protocatéuico	0,52		
Ácido trans-caftárico	1,29	0,51	0,40
Furfural	2,70	658,50	243,04
Ácido gentísico			0,27
Aldehído protocatéuico	3,85	5,81	1,50
Ácido trans-cutárico	4,39	1,21	0,28
<i>p</i> -OHbenzaldehído	3,86		
Ácido vainillínico	0,60		
Catequina	3,88		
Ácido caféico	2,27	0,96	0,42
Vainillina	4,13	8,43	2,04
Ácido siríngico	2,05		
Ácido clorogénico	1,52	0,74	0,48
Epicatequina	4,27		
Ácido <i>p</i> -cumárico	5,64	2,75	0,48
Escopoletina	0,64	0,11	0,82
Ácido ferúlico	1,59	0,66	0,41
Ácido sinápico	0,81	0,30	0,37

<sup>(a, b, c)</sup> A: 280 nm, D: 254 nm, E: 340 nm

Tabla 21- Características de la calibración

Pico	Compuesto	Rango concentración (ppm)	$y = a+bx$ <sup>(a)</sup>	$r^2$
1	Ácido gálico	6,5 - 65	$y=8,960x-2,855$	0,9996
2	5HMF	5-50	$y=9,744x+17,850$	0,9926
3	Ácido protocatéuico	2-20	$y=10,740x+5,705$	0,9946
	Ácido trans-caftárico	1,9-19	$y=14,050x+4,593$	0,9955
4	Furfural	10-100	$y=20,646x-56,864$	0,9955
5	Ácido gentísico	1,3-13	$y=5,513x+2,589$	0,9934
6	Aldehído protocatéuico	0,4-4	$y=15,445x+2,403$	0,9918
	Ácido trans-cutárico	2-20	$y=13,785x-1,584$	0,9983
7	<i>p</i> -OHbenzaldehído	0,5-8	$y=30,955x+1,3664$	0,9969
8	Ácido vainillínico	0,6-6	$y=12,968x+2,588$	0,9961
9	Catequina	11,9-119	$y=1,647x-4,668$	0,9962
10	Ácido caféico	1,9-19	$y=14,050x+4,593$	0,9955
11	Vainillina	0,7-7	$y=17,850x-1,371$	0,9928
12	Ácido siríngico	1,1-11	$y=10,923x+5,619$	0,9940
13	Ácido clorogénico	2-20	$y=7,422x+2,623$	0,9938
14	Epicatequina	2,9-29	$y=1,973x+2,285$	0,9950
15	Ácido <i>p</i> -cumárico	2-20	$y=13,785x-1,584$	0,9983
16	Escopoletina	2-20	$y=13,676x+5,499$	0,9860
17	Ácido ferúlico	0,4-4	$y=16,788x+4,305$	0,9907
18	Ácido sinápico	0,6-6	$y=12,249x+2,143$	0,9903

En las figuras 49 y 50 se muestran dos cromatogramas correspondientes a las dos mezclas de patrones, empleando una columna Hypersil ODS y el gradiente propuesto (identificación de picos según tabla 21).

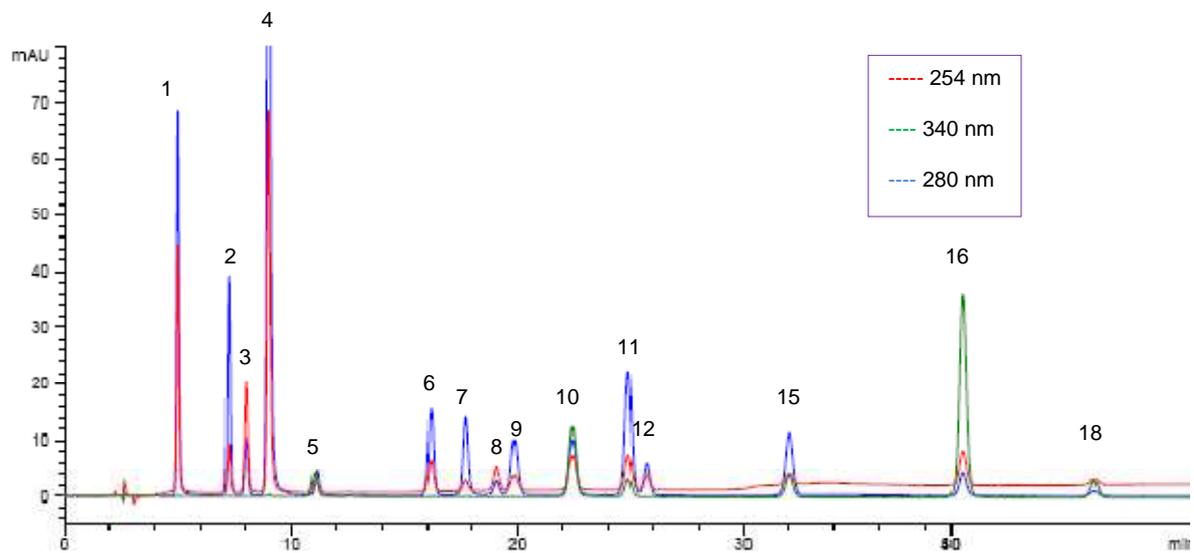


Figura 49- Cromatograma correspondiente a la mezcla 1 de patrones

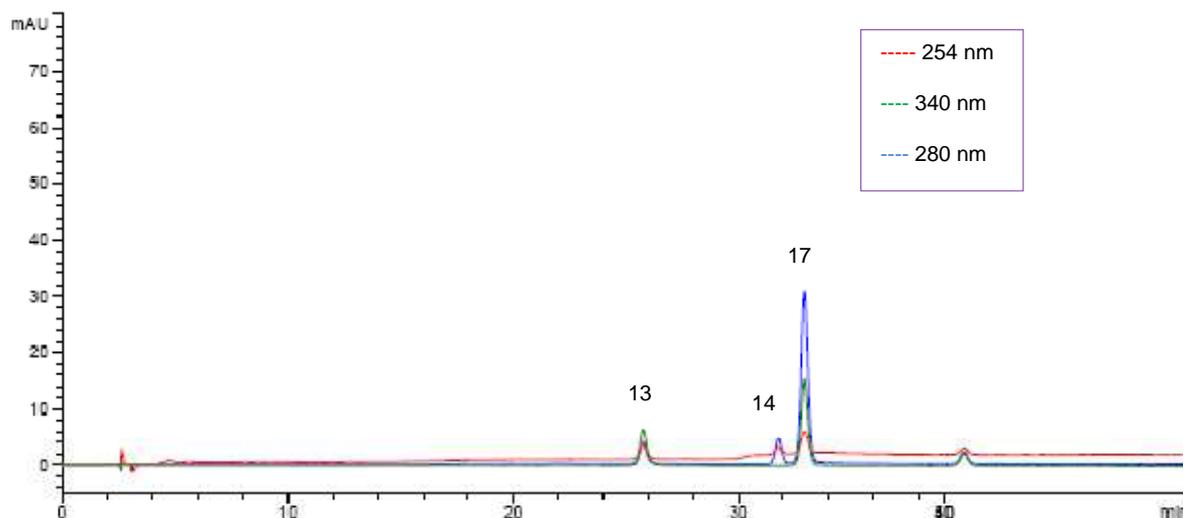


Figura 50- Cromatograma correspondiente a la mezcla 2 de patrones

### 3.6.7. Determinación de antocianos pormenorizados mediante HPLC

Se ha realizado el análisis cuantitativo de diferentes compuestos antociánicos mediante HPLC siguiendo el método propuesto por Del Álamo y su grupo. Los antocianos analizados han sido: Delfinidín 3 *o*-glucósido, Malvidín 3 *o*-glucósido, Cianidín 3 *o*-glucósido, Petunidín 3 *o*-glucósido, Peonidín 3 *o*-glucósido, Vitisín A, Malvidín 3 *o*-glucósido etil epicatequina, derivados acetilados (Peonidín 3 *o*-acetilglucósido y Malvidín 3 *o*-acetilglucósido) y derivados cumarilados (Delfinidín 3 *o*-cumarilglucósido, Cianidín 3 *o*-cumarilglucósido, Petunidín 3 *o*-cumarilglucósido y Malvidín 3 *o*-cumarilglucósido isómeros *cis* y *trans*) (Del Álamo y *col.*, 2004b, 2006b).

### 3.6.7.1. Preparación de la muestra

La muestra de vino se ha concentrado 5 veces para una mejor determinación de los compuestos responsables del color en el vino, empleando para ello un rotavapor. A continuación, el vino concentrado se ha filtrado mediante un filtro de nylon 0,45  $\mu\text{m}$ . El vino concentrado y filtrado se ha introducido en un vial, el cual fue analizado posteriormente en el cromatógrafo de líquidos.

### 3.6.7.2. Análisis HPLC y reactivos empleados

La separación cromatográfica se ha realizado mediante un equipo Hewlett-Packard 1100 (LC-DAD) (figura 51).



Figura 51- HPLC-DAD 1100

La separación de los compuestos antocianos se ha realizado mediante una mezcla de disoluciones, eluyente A compuesto por ácido fórmico y agua (2:98), eluyente B formado por una mezcla de metanol, ácido fórmico y agua (45:10:45) y eluyente C metanol y una columna Hypersil ODS de 250 mm de longitud y 4,6 mm de diámetro interno.

El volumen de muestra inyectado fue de 30  $\mu\text{L}$ , las condiciones cromatográficas empleadas para la identificación y cuantificación de los compuestos antocianos de interés se refleja en la tabla 22.

Tabla 22- Condiciones cromatográficas empleadas para la identificación y cuantificación de los compuestos antocianos

Tiempo (min)	Eluyente A (%)	Eluyente B (%)	Eluyente C (%)	Flujo (mL/min)
0	75	25	-	1
25	40	60	-	1
45	-	60	40	1
52	-	-	100	1
60	75	25	-	1
65	75	25	-	1

Los reactivos y el patrón que se han empleado para la determinación de los antocianos pormenorizados han sido los siguientes:

- Agua bidestilada (Mili-Q)
- Ácido fórmico ( $\text{CH}_2\text{O}_2$ ), SCHARLAU
- Metanol ( $\text{CH}_3\text{OH}$ ), SCHARLAU
- Malvidín 3 *o*-glucósido, FLUKA

### 3.6.7.3. Condiciones de detección

La identificación de los antocianos de interés se ha realizado mediante la comparación de su espectro y los tiempos de retención con referencias bibliográficas (Timberlake y col., 1976; Ortega y col., 1994; Revilla y col., 1999). La tabla 23 presenta los tiempos de retención ( $T_r$  en minutos,  $n=10$ ) y las longitudes de onda de detección de los antocianos identificados ( $\lambda$  detección).

Tabla 23- Antocianos identificados y cuantificados en los vinos tintos estudiados

Picc	Compuesto	Nombre	$T_r$ (min)	$\lambda$ detección (nm)
1	Delfinidín 3 <i>o</i> -glucósido	Df 3-gl	14,89 ± 0,49	278, 526
2	Cianidín 3 <i>o</i> -glucósido	Ci 3-gl	18,37 ± 0,65	292, 516
3	Petunidín 3 <i>o</i> -glucósido	Pt 3-gl	21,69 ± 1,01	278, 528
4	Peonidín 3 <i>o</i> -glucósido	Pn 3-gl	25,58 ± 1,24	280, 518
5	Malvidín 3 <i>o</i> -glucósido	Mv 3-gl	27,95 ± 1,70	278.530
6	Vitisín A	Vit. A	30,24 ± 2,25	252, 296, 372, 512
7	Malvidín 3 <i>o</i> -glucósido etil epicatequina	Mv 3-gl Et.	34,91 ± 2,50	276, 258
8	Peonidín 3 <i>o</i> -acetilglucósido	Pn 3-gl Ac	44,55 ± 0,34	278, 532
9	Delfinidín 3 <i>o</i> -cumarilglucósido	Df 3-gl Cm	46,99 ± 0,56	282, 298, 316, 534
10	Malvidín 3 <i>o</i> -acetilglucósido	Mv 3-gl Ac	47,37 ± 0,72	278, 532
11	Cianidín 3 <i>o</i> -cumarilglucósido	Ci 3-gl Cm	48,29 ± 0,57	280, 296, 308, 540
12	Malvidín 3 <i>o</i> -cumarilglucósido Cis	Mv 3-gl Cm Cis	49,10 ± 0,52	284, 298, 310, 532
13	Petunidín 3 <i>o</i> -cumarilglucósido	Pt 3-gl Cm	49,90 ± 0,54	284, 316, 524
14	Malvidín 3 <i>o</i> -cumarilglucósido Trans	Mv 3-gl Cm Trans	51,37 ± 0,64	284, 298, 310, 533

En la figura 52 se muestra un cromatograma de un vino tinto envejecido durante cuatro meses con astillas de *Quercus pyrenaica* Willd. y micro-oxigenación, empleando una columna Hypersil ODS y el gradiente propuesto (identificación de picos según tabla 23).

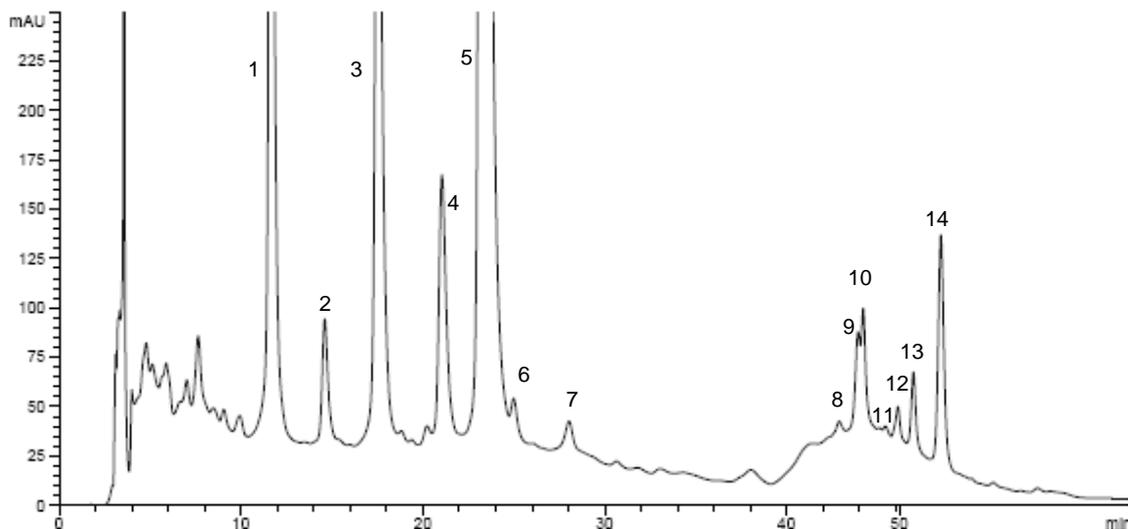


Figura 52- Cromatograma de un vino tinto envejecido durante cuatro meses con astillas de *Quercus pyrenaica* Willd. y micro-oxigenación

### 3.6.7.4. Cuantificación

La cuantificación y calibración de los antocianos identificados se ha realizado a 528 nm por el método del patrón externo. Se han realizado dos rectas de calibrado diferentes, desde 0,1 ppm

hasta 14,32 ppm para la cuantificación de los antocianos minoritarios y desde 38,46 ppm a 230,77 ppm para los antocianos mayoritarios. En las figuras 53 y 54 se representan gráficamente las rectas de calibrado que se han empleado para la cuantificación de todas las muestras analizadas en los diferentes experimentos. Todos los resultados se han expresado como mg/L de malvidín 3 *o*-glucósido, debido a que es el antociano mayoritario que se encuentra en los vinos. El límite de detección y cuantificación ha sido calculado como la proporción señal-ruido de 3 y 10 respectivamente, presentando unos valores de 1,28 el límite de detección y 1,27 el límite de cuantificación.

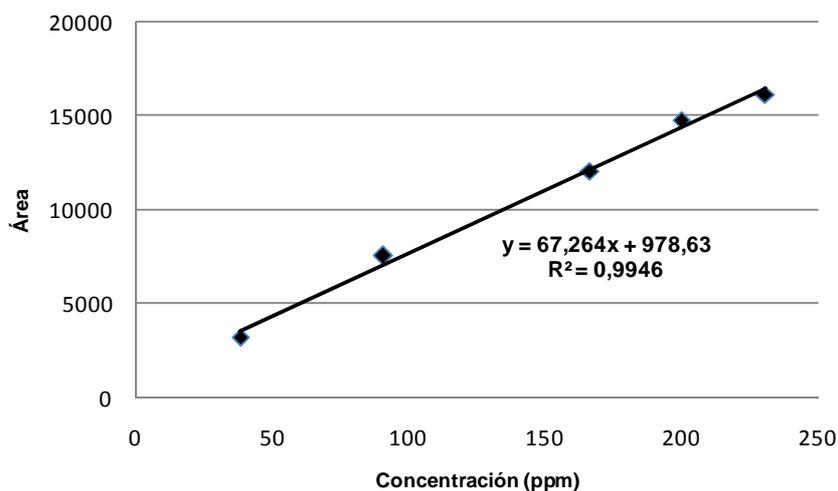


Figura 53- Recta de calibrado de Mv 3-gl para los antocianos mayoritarios

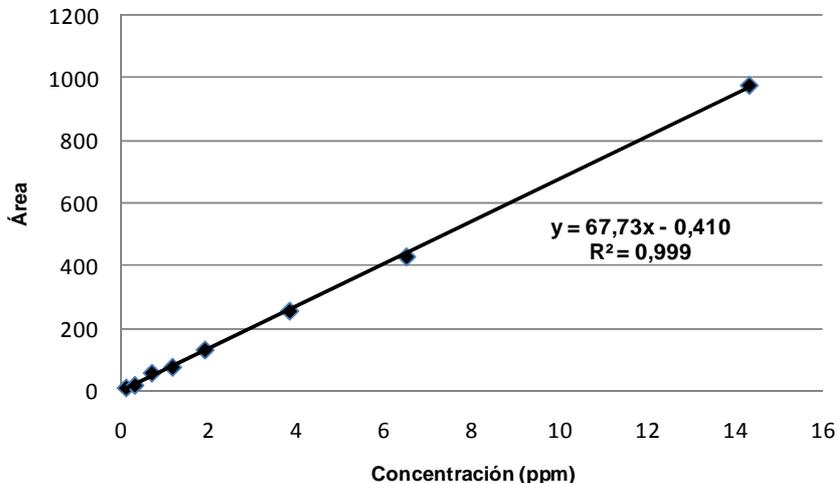


Figura 54- Recta de calibrado de Mv 3-gl para los antocianos minoritarios

### 3.6.8. Equipamiento común empleado en las distintas determinaciones

- Centrífuga de sobremesa analógica TERMO ELECTRO CORPORATION Cr3i multifunction.
- Espectrofotómetro UV-visible SHIMADZU UV-1700.
- Cromatógrafo HPLC serie 1100- DAD (HEWLETT-PACKARD, Avondale, PA, USA).
- Cromatógrafo HPGC 6890- FID (HEWLETT-PACKARD, Avondale, PA, USA).

- Rotavapor compuesto por: Rotavapor BUCHI R-200, baño termostático BUCHI R-490, controlador de vacío BUCHI R-721 y bomba de vacío BUCHI R- 500.
- Placa calefactora y magnética SELECTA.
- Baño de precisión Precis-term, SELECTA.
- pH/ion meter METROHM 781
- Balanza analítica METTLER TOLEDO AB204 con precisión de 0,0001g.
- Agitador OVAN.
- Equipo para la extracción en fase sólida VACMASTER con 20 posiciones y bomba de vacío VACUUBRAND.
- Cartuchos OASIS HLB 6 cc (200 mg).
- Columna Hypersil ODS de 200 mm de longitud y 4,6 mm de diámetro interno.
- Columna Hypersil ODS de 250 mm de longitud y 4,6 mm de diámetro interno.
- Filtro de nylon de 0,45 µm.
- Micro pipeta EPPENDORF 0,5 – 10 µL.
- Micro pipeta EPPENDORF 20 – 200 µL.
- Micro pipeta EPPENDORF 100 – 1000 µL.
- Micro pipeta EPPENDORF 500 – 5000 µL.
- Material de vidrio básico de laboratorio: pipetas, vasos de precipitados, tubos de ensayo, matraz aforado, etc.
- Cubetas de cuarzo de 10 mm.
- Cubetas de vidrio de 1 mm y 10 mm.

### 3.7. Análisis sensorial del vino

Se ha realizado la caracterización organoléptica de todos los vinos que han sido envejecidos en los diferentes experimentos. Este análisis organoléptico se ha llevado a cabo siguiendo la normativa española UNE-87-017-92 que se corresponde con la norma internacional ISO 6554:1985. El análisis sensorial de los vinos ha sido realizado por un grupo de expertos catadores de Castilla y León, formado por siete hombres y siete mujeres, estando comprendidos 8 de ellos entre 30-40 años (C. González, S. Merino, L. Gallego, M. Meléndez A., González, J.C. González, J.I. Gallegos, S. Luis) y 6 entre 40-55 años (A. Otaño, A. Del Val, J.A. Fernández, L.M. Cárcel, I. Nevares, M. Del Álamo). El análisis sensorial ha sido coordinado por Carlos Martín, a quién expreso mi agradecimiento.

Los catadores fueron entrenados específicamente para este tipo de muestras con el fin de familiarizarlos con los atributos a evaluar.

Se han realizado diferentes sesiones de análisis sensorial a los diferentes vinos en distintos momentos, al inicio, a la mitad y al final del envejecimiento, y durante su permanencia en botella tras 1, 2, 5, 11 y 18 meses (tabla 15).

Todas las sesiones se han realizado en la sala de cata de la E.T.S. de Ingenierías Agrarias de Palencia, la cual se ha diseñado conforme a la norma UNE 87-004-79, está acondicionada (21°C) y formada por varios compartimentos cerrados en los laterales, los cuales están equipados con luz y fregadero (figura 55).



Figura 55- Sala de cata donde se realizó el análisis sensorial de los vinos estudiados

La copa o catavinos empleada en las sesiones de cata realizadas está estandarizada y regida por la norma AFNOR NF V 09-110, UNE 87-022-92 o ISO 3591:1977, la cual debe presentar una serie de condiciones y medidas:

- Forma: La copa consta de un receptáculo en forma de huevo alargado unido a una base sobre la que se apoya por medio de un vástago, con esta forma la copa recoge los aromas que desprende el vino y así poder apreciarlos mejor.
- Material: Debe ser de cristal incoloro, transparente, sin surcos, acanaladuras ni burbujas.
- Aforo: Puede graduarse en varias medidas, aunque la copa debe llenarse como máximo en un tercio aproximado de su capacidad, de forma que se favorezca la salida de los aromas.
- Limpieza: La copa antes de su empleo debe estar perfectamente limpia y seca, evitando el empleo de detergentes que dejen olores en la copa, o secarlas con toallitas o papel que puedan dejar restos, de forma que se aconseja secarlas al aire, colgadas por el pie.
- Uso: Antes del análisis sensorial de vino se debe enjuagar la copa con un poco del vino a analizar, la copa siempre debe cogerse por el pie y evitar tocar el cuerpo para evitar el calentamiento del vino con las manos.

Medidas: La figura 56 muestra las medidas del catavinos.



Figura 56- Medidas del catavino empleado para el análisis sensorial (fuente: [www.conocimientoytecnologia.org](http://www.conocimientoytecnologia.org), fecha de consulta: abril 2012)

Las fichas de cata empleadas han seguido la norma UNE-87-020-93, correspondiente a la ISO 4121:1987, y están formadas por parámetros de fase visual, parámetros de fase olfativa y de fase gustativa, además de una valoración final del vino (figura 57). Las fichas de cata empleadas para la evaluación de los vinos en los diferentes experimentos de la Tesis Doctoral se han modificado, al añadir parámetros específicos de los vinos a evaluar (ver fichas de cata en cada capítulo).

**FICHA DE CATA DE VINOS TINTOS. ENVEJECIMIENTO ALTERNATIVOS**  
E.T.S. Ingenierías Agrarias. PALENCIA.

---

<p><b>FECHA</b> .....</p> <p><b>CATADOR</b> .....</p> <p><b>DESCRIPTORES</b></p> <p><b>1. COLOR</b> ..... 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10</p> <p>Intensidad  ----- </p> <p>Limpidez  ----- </p> <p>Evolución:</p> <p>Azulados  ----- </p> <p>Rojos  ----- </p> <p>Amarillos  ----- </p> <p><b>2. AROMAS</b> .....</p> <p>Intensidad  ----- </p> <p>Complejidad  ----- </p> <p><b>2.A. VARIETAL</b> ..... 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10</p> <p>Afrutados  ----- </p> <p>Madurez fruta  ----- </p> <p>Vegetal  ----- </p> <p><b>2.B. FERMENTATIVO</b> ..... 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10</p> <p>Alcohol  ----- </p> <p>Suciedad/Reducción  ----- </p> <p>Grado de oxidación: ..... 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10</p> <p>Acetal dehidro/Etanal  ----- </p> <p>Acetato de etilo  ----- </p> <p>Ácido acético  ----- </p> <p><b>2.C. MICROBIOLÓGICO</b> ..... 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10</p> <p>Lácticos  ----- </p> <p>Animal  ----- </p> <p><b>2.D. CRIANZA/MADERA</b> ..... 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10</p> <p>Maderizado  ----- </p> <p>Tostado  ----- </p> <p>Balsámico  ----- </p> <p>Vainilla  ----- </p> <p>Coco  ----- </p> <p>Pan/Levadura  ----- </p> <p>Pimienta  ----- </p> <p>Clavo  ----- </p>	<p><b>VINO</b> .....</p> <p>0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10</p> <p>Canela  ----- </p> <p>Frutos secos  ----- </p> <p>Dulce/Caramelo  ----- </p> <p>Cacao  ----- </p> <p>Ahumados  ----- </p> <p>Tabaco  ----- </p> <p>Café  ----- </p> <p>Regaliz  ----- </p> <p>Cuero  ----- </p> <p><b>2.E. QUIMICO</b> ..... 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10</p> <p>Químico  ----- </p> <p><b>3. BOCA</b> .....</p> <p><b>3. BOCA</b> ..... 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10</p> <p>Volumen/Grasa  ----- </p> <p>Acidez  ----- </p> <p>Intensidad Tánica  ----- </p> <p>Tanino dulce/redondo  ----- </p> <p>Tanino duro/Verde- Vegetal  ----- </p> <p>Astringencia/Tanino Seco  ----- </p> <p><b>4. IMPRESIÓN FINAL</b> ..... 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10</p> <p>Armonía  ----- </p> <p>Persistencia/Postgusto  ----- </p> <p>0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10</p> <p><b>VALORACIÓN FINAL</b> .....</p>
--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Figura 57- Ficha de cata descriptiva empleada en la evaluación de los vinos analizados

La ficha de cata del presente experimento se compone de 38 atributos evaluados de 0 a 10 puntos, divididos en fase visual (intensidad, limpidez, azulados, amarillos y rojos), olfativa (intensidad aromática, complejidad, afrutados, madurez de fruta, vegetal, alcohol, suciedad/reducción, acetaldehído/etanal, acetato de etilo, ácido acético, lácticos, animal, maderizado, tostado, canela, frutos secos, dulce/caramelo, cacao, ahumados, tabaco, café, regaliz, cuero y químico), fase gustativa (volumen/grasa, acidez, intensidad tánica, tanino dulce/redondo, tanino duro/verde-vegetal y astringencia/tanino seco) y valoración global (armonía, persistencia/post-gusto y valoración final). La figura 57 muestra la ficha de cata empleada para el estudio organoléptico de las muestras de vino envejecidas con astillas y tablonos de roble francés, americano y español y micro-oxigenación.

Los catadores han evaluado las muestras en una escala de intensidad de 0 a 10 para cada atributo, la puntuación de 0 nos indica que el descriptor no ha sido detectado, mientras que la puntuación de 10 nos indica la máxima percepción. Los resultados de las diferentes catas realizadas para cada experimento se han estudiado conjuntamente, realizando la media de cada parámetro evaluado por todos los catadores.

### **3.8. Análisis estadístico**

Se han realizado diversos análisis estadísticos sobre los resultados de las muestras estudiadas (por duplicado) para las diferentes experiencias realizadas en esta Tesis Doctoral. Se ha realizado un análisis de varianza (ANOVA), se ha calculado la media,  $p$  level según los factores (origen y tamaño de la madera). La comparación entre los valores medios se ha realizado mediante un test LSD (Least Significant Difference), que muestra las medidas que pueden ser consideradas estadísticamente diferentes, el test aplicado fue el test de Fisher.

Además del análisis de varianza se ha realizado un análisis multivariante (análisis canónico discriminante) de las variables estudiadas durante dos periodos diferentes (tras 6 meses de envejecimiento con la madera, y tras 24 meses de botella), el cual ha permitido el estudio de los parámetros estudiados mediante una representación gráfica en el plano, definido por las funciones canónicas.

El objetivo del análisis discriminante es establecer reglas de clasificación de unidades a los grupos, basadas en las puntuaciones de las variables independientes. Para ello, el análisis discriminante proporciona una o más funciones discriminantes, que son combinaciones lineales de las variables independientes, construidas de tal modo que el conjunto de pesos sea óptimo para una máxima discriminación entre los grupos, por lo que el análisis discriminante es un proceso de maximización matemática.

Todos los análisis estadísticos se han llevado a cabo utilizando el programa Statistica (Versión 7: StatSoft, Inc., Tulsa, OK) como software de cálculo.

## **Capítulo 1- Resultados y discusión**



## 4- Resultados y discusión

### 4.1. Evolución del vino en madera y en botella

Se ha realizado el estudio de la evolución de los diferentes parámetros, variables y compuestos fenólicos estudiados en los vinos mediante un análisis de varianza (ANOVA), tanto durante el periodo en que el vino permanece en contacto con la madera, como durante su permanencia en la botella. Se ha analizado la importancia del origen de la madera (*Quercus alba*, *Quercus petraea* y *Quercus pyrenaica* Willd.) y el tamaño de la madera o el sistema de envejecimiento (astillas y tablonés). El anexo I muestra las tablas con los resultados obtenidos de los diferentes análisis realizados a todos los vinos (tablas 37 a 44).

#### 4.1.1. Estudio de la composición fenólica y sensorial de un vino tinto envejecido con astillas y tablonés de roble español

En este primer apartado se describen los resultados obtenidos sobre la composición fenólica y sensorial de los vinos envejecidos con *Quercus pyrenaica* Willd. y que han sido publicados en la revista *Food Science and Technology International* en 2011, cuya referencia es 2011 18(2): 151.



Article

### Phenolic compounds and sensorial characterization of wines aged with alternative to barrel products made of Spanish oak wood (*Quercus pyrenaica* Willd.)

L Gallego<sup>1</sup>, M Del Alamo<sup>1</sup>, I Nevares<sup>1</sup>, JA Fernández<sup>1</sup>, B Fernández de Simón<sup>2</sup> and E Cadahía<sup>2</sup>

Food Science and Technology International 18(2) 151-165

El objetivo principal de la publicación ha sido el estudio de la composición fenólica y sensorial de un vino tinto envejecido con astillas y tablonés de roble español (*Quercus pyrenaica* Willd.), en comparación con el mismo vino envejecido con madera de roble francés y americano (*Quercus petraea* y *Quercus alba*). Se ha estudiado el efecto del tamaño de la pieza de madera (astillas y tablonés) y el origen de la madera (*Quercus alba*, *Quercus petraea* y *Quercus pyrenaica* Willd.) durante el periodo de envejecimiento con la madera y botella (Gallego y col., 2011b).

#### 4.1.1.1. Análisis de varianza

Las tablas 24, 25 y 26 muestran los resultados del análisis de varianza y las medias obtenidas para cada compuesto analizado en los diferentes vinos en función del origen y el sistema de envejecimiento durante el periodo 1 (después de seis meses en contacto con la madera), periodo 2 (tras 6 meses de botella) y periodo 3 (tras 18 meses de botella). Como se puede observar las diferencias estadísticamente significativas aumentan con el tiempo de botella de los vinos.

Tabla 24- Resultados del análisis de varianza de los parámetros evaluados en los vinos tras 6 meses de permanencia con la madera

	Astillas			Tablones			p level
	<i>Q. pyrenaica</i>	<i>Q. alba</i>	<i>Q. petraea</i>	<i>Q. pyrenaica</i>	<i>Q. alba</i>	<i>Q. petraea</i>	
PT (mg/L)	2291,50 a	2189,00 a	2284,00 a	2276,50 a	2267,75 a	2306,50 a	
PPP (mg/L)	1540,88 a	1535,88 a	1511,50 a	1484,63 a	1479,00 a	1487,13 a	
PMP (mg/L)	750,63 a	653,13 a	772,50 a	791,88 a	788,75 a	819,38 a	
CAT(mg/L)	818,29 b	764,71 ab	817,57 b	710,43 a	755,43 ab	676,14 a	
ANT (mg/L)	454,13 cd	439,25 bc	466,81 d	410,38 a	434,00 b	412,56 a	*
Df-3-Gl (mg/L)	43,66 c	38,34 b	42,46 bc	26,20 a	27,54 a	27,44 a	
Cn-3-Gl (mg/L)	9,70 b	9,31 b	9,34 b	2,20 a	2,48 a	2,30 a	
Pt-3-Gl (mg/L)	30,10 c	25,82 ab	29,23 bc	24,61 a	26,24 abc	26,25 abc	
Pn-3-Gl (mg/L)	5,41 c	4,30 a	5,20 bc	4,22 a	4,72 abc	4,64 ab	*
Mv-3-Gl (mg/L)	100,14 c	83,19 a	97,88 bc	85,62 ab	91,40 abc	92,48 abc	
Vitisisina A (mg/L)	5,26 bc	5,79 c	5,27 bc	1,21 a	1,18 a	2,94 ab	
Pn-3-Gl-Ac (mg/L)	0,00 a	0,04 b	0,01 ac	0,03 bc	0,00 a	0,04 b	**
Df-3-Gl-Cm+							
Mv-3-Gl-Ac (mg/L)	7,36 c	4,15 a	6,85 cd	5,68 b	6,41 abc	6,22 bd	*
Cn-3-Gl-Cm(mg/L)	0,57 c	0,39 a	0,47 ab	0,54 c	0,58 c	0,59 c	*
Mv-3-Gl-Cm C (mg/L)	0,47 a	0,37 a	0,46 a	0,40 a	0,46 a	0,43 a	
Pt-3-Gl-Cm (mg/L)	2,56 a	2,43 a	2,68 a	2,62 a	2,83 a	2,82 a	
Mv-3-Gl-Cm T (mg/L)	12,06 b	9,93 ab	11,50 bc	9,36 a	10,51 abc	10,62 abc	*
lolin	23,63 a	26,05 abc	25,28 ab	30,00 d	27,79 bcd	28,88 cd	
Tan (g/L)	3,13 a	3,34 a	3,07 a	2,71 a	3,30 a	3,01 a	
Etlin	30,63 a	30,09 a	30,74 a	28,87 a	31,81 a	29,66 a	
Glin	70,31 a	66,85 a	66,76 a	54,88 a	59,38 a	62,72 a	
l	0,37 a	0,39 a	0,37 a	0,42 b	0,41 b	0,41 b	
li	0,11 a	0,12 b	0,11 a	0,14 d	0,13 c	0,13 cd	**
i/ii	3,41 c	3,26 b	3,46 c	3,02 a	3,08 a	3,06 a	*
C	1,88 a	1,75 a	1,80 a	1,77 a	1,78 a	1,89 a	
Ep	2,35 a	2,52 b	2,37 a	2,94 d	2,87 cd	2,86 c	**
TA	4,17 a	4,10 a	4,33 a	4,30 a	4,34 a	4,27 a	
FC	8,90 a	8,72 a	8,91 a	9,14 a	9,11 a	9,09 a	
IC	12,96 a	13,70 b	13,45 b	14,58 c	14,62 c	14,64 c	*
T	0,70 c	0,68 a	0,69 ab	0,69 b	0,69 ab	0,69 b	*
%A420	35,15 c	34,64 ab	34,80 b	34,65 ab	34,52 a	34,60 ab	
%A520	50,35 a	50,88 b	50,74 b	50,26 a	50,33 a	50,24 a	*
%A620	14,51 a	14,49 a	14,46 a	15,09 b	15,15 b	15,16 b	
%dA	50,69 a	51,72 b	51,46 b	50,51 a	50,65 a	50,48 a	*

Media calculada con 10 valores para cada parámetro. Diferentes letras muestran diferencias significativas con 95% (\*), 99% (\*\*) y 99,9% (\*\*\*), de acuerdo a los factores origen de la madera y sistema de envejecimiento.

Las principales diferencias que se han encontrado en los vinos tras permanecer seis meses en contacto con la madera han estado asociadas con el color y los compuestos relacionados. Según el sistema de envejecimiento (astillas y tablones), se ha observado que los vinos tratados con astillas y micro-oxigenación han mantenido mayor contenido de antocianos totales (ANT) que los vinos envejecidos con tablones y MOX ( $p < 0,05$ ). Además durante este periodo de permanencia del vino con la madera se ha observado un descenso en el contenido de antocianos pormenorizados en los vinos envejecidos con astillas y tablones de roble. Sin embargo, los vinos tratados con astillas y micro-oxigenación han mostrado mayor contenido de delfinidín 3  $\sigma$ -glucósido y cianidín 3  $\sigma$ -glucósido. Este descenso en el contenido de antocianos es debido a las reacciones en las que los antocianos están involucrados durante la

crianza (reacciones de degradación o polimerización). Estos resultados están relacionados con el mayor contenido de la componente roja (%A520 y %dA) observado en los vinos tratados con astillas y MOX, mientras que los vinos con tablones y MOX han presentado mayor contenido de pigmento polimérico (Ep), intensidad colorante (IC) e índice de ionización (Iion) (tabla 24).

En función del origen de la madera, los vinos envejecidos con tablones y micro-oxigenación de *Quercus pyrenaica* Willd. han mostrado menores niveles de antocianos totales (tabla 24), siendo los vinos con tablones de *Quercus alba* y los vinos con astillas de *Quercus petraea* + MOX los que han presentado mayor contenido.

Las diferencias observadas en los antocianos cumarilados y acetilados han dependido más del origen de la madera que de su tamaño (astillas-tablones). Este resultado está relacionado con las características cromáticas de los vinos, mostrando menor componente roja y significativamente menor intensidad colorante en los vinos tratados con astillas y MOX de roble español (*Quercus pyrenaica* Willd.). Se ha observado que el empleo de tablones y MOX ha dado lugar a vinos que han mostrado significativamente mayor edad química (ii) y además mayores niveles de pigmento polimérico (Ep). Por lo tanto, los vinos tratados con madera de *Quercus pyrenaica* Willd. al final del periodo de contacto del vino con la madera mostrarán un aspecto del color más evolucionado (tabla 24).

Las diferencias encontradas en los vinos según el sistema de envejecimiento se han acentuado tras 6 meses de botella, siendo envejecidos previamente con 6 meses de madera (tabla 25). Se ha encontrado que los vinos tratados con tablones de *Quercus pyrenaica* Willd. y astillas de *Quercus alba* han mantenido mayores niveles de polifenoles. Este resultado es debido principalmente a las mayores polimerizaciones que tienen lugar en estos vinos, presentando gran contenido de polifenoles muy polimerizados. Además se ha observado que los vinos tratados con tablones han mostrado mayor intensidad colorante, componente azul (%620), parámetros i e ii de la edad química, contenido de cofactores flavonoles (FC), TA, Ep e índice de ionización. Los vinos envejecidos con astillas y micro-oxigenación han mostrado el mayor contenido en catequinas (CAT), antocianos totales (ANT), taninos (TAN), tonalidad (T) y componente amarilla (%420) tras seis meses de botella.

Según el origen de la madera las diferencias encontradas han indicado que la tendencia de los antocianos fue muy similar a la ocurrida durante el periodo de contacto del vino con la madera, siendo los vinos tratados con astillas y micro-oxigenación de roble español y francés (*Quercus pyrenaica* Willd. y *Quercus petraea*) los que han mostrado el mayor contenido de antocianos pormenorizados tras seis meses de permanencia en botella ( $p < 0,001$ , tabla 25), excepto para la vitisina A y peonidín 3 *o*-acetilglucósido. Sin embargo, al emplear roble español (*Quercus pyrenaica* Willd.) los vinos tratados con tablones y micro-oxigenación han presentado significativamente menores niveles de antocianos (excepto peonidín 3 *o*-glucósido).

Las diferencias observadas en los derivados antociánicos cumarilados y acetilados en los vinos durante los seis primeros meses de botella han dependido del tipo de madera previamente empleada (tabla 25).

Tabla 25- Resultados del análisis de varianza de los parámetros evaluados en los vinos tras 6 meses de botella

	Astillas			Tablones			p level
	<i>Q. pyrenaica</i>	<i>Q. alba</i>	<i>Q. petraea</i>	<i>Q. pyrenaica</i>	<i>Q. alba</i>	<i>Q. petraea</i>	
PT (mg/L)	2238,88 b	2313,21 e	2221,32 a	2357,80 f	2309,15 d	2276,72 c	***
PPP (mg/L)	1152,40 e	1129,42 c	1183,48 f	1102,40 b	1084,83 a	1159,15 d	***
PMP (mg/L)	1086,49 b	1183,79 d	1037,84 a	1255,41 f	1224,33 e	1117,57 c	***
CAT(mg/L)	824,90 f	796,15 e	785,61 d	721,33 a	730,26 b	758,83 c	***
ANT (mg/L)	457,63 e	446,26 d	457,63 e	392,01 a	420,01 c	405,13 b	***
Df-3-GI(mg/L)	18,28 f	15,04 b	16,46 e	12,99 a	15,33 d	15,21 c	***
Cn-3-GI(mg/L)	5,32 e	5,09 b	5,19 d	4,96 a	5,10 c	5,10 c	***
Pt-3-GI(mg/L)	17,73 f	14,28 b	16,00 e	12,57 a	15,12 d	14,78 c	***
Pn-3-GI(mg/L)	6,78 f	6,15 d	6,35 e	5,77 b	5,60 a	6,11 c	***
Mv-3-GI(mg/L)	50,33 f	37,92 b	42,48 e	31,52 a	38,57 c	38,76 d	***
Vitisina A (mg/L)	6,72 f	6,24 b	5,91 a	6,34 c	6,52 d	6,70 e	***
Pn-3-GI-Ac (mg/L)	4,86 f	4,50 c	4,48 b	4,47 a	4,56 e	4,55 d	***
Df-3-GI-Cm+	0,01 a	0,01 a	0,01 a	0,01 a	0,01 a	0,01 a	
Mv-3-GI-Ac (mg/L)	0,01 a	0,01 a	0,01 a	0,01 a	0,01 a	0,01 a	
Cn-3-GI-Cm(mg/L)	4,61 d	4,60 d	4,63 e	4,52 a	4,57 c	4,55 b	***
Mv-3-GI-Cm C (mg/L)	4,66 e	4,57 b	4,66 e	4,51 a	4,63 c	4,65 d	***
Pt-3-GI-Cm (mg/L)	5,53 f	5,17 b	5,40 e	4,99 a	5,32 d	5,29 c	***
Mv-3-GI-Cm T (mg/L)	9,45 f	8,03 d	8,58 e	6,93 a	7,85 b	7,87 c	***
IoIn	16,13 a	18,97 c	17,36 b	22,64 e	20,44 d	23,52 f	***
Tan (g/L)	2,32 c	2,36 d	2,56 e	2,31 b	2,27 a	2,31 b	***
EtIn	23,82 e	21,43 b	21,48 c	22,98 d	20,53 a	25,87 f	***
GIn	69,75 e	54,87 b	72,81 f	37,87 a	62,97 c	64,55 d	***
I	0,39 a	0,40 b	0,39 ab	0,46 d	0,44 c	0,45 c	***
li	0,08 a	0,08 a	0,08 a	0,12 c	0,11 b	0,11 b	*
i/ii	2,44 a	2,44 a	2,44 a	2,15 b	2,22 c	2,23 c	***
C	2,86 f	2,45 c	2,74 e	2,23 a	2,56 d	2,44 b	***
Ep	1,95 a	2,19 c	2,04 b	2,74 f	2,61 d	2,62 e	***
TA	4,00 a	4,16 c	4,01 b	4,17 d	4,20 e	4,27 f	***
FC	8,83 a	9,01 c	8,79 b	9,35e	9,25 d	9,35 e	***
CI	8,71 a	9,61 c	9,30 b	10,99 e	10,51 d	11,06 f	***
T	0,83 e	0,79 bc	0,81 d	0,78 ab	0,79 c	0,77 a	***
%A420	39,55 f	38,23 d	38,76 e	37,71 b	38,01 c	37,56 a	***
%A520	47,71 a	48,76 e	48,34 c	48,55 d	48,29 b	48,78 f	***
%A620	12,76 a	13,03 c	12,92 b	13,76 f	13,72 e	13,67 d	***
%dA	45,19 a	47,44 e	46,55 c	47,00 d	46,45 b	47,50 f	***

Media calculada con 10 valores para cada parámetro. Diferentes letras muestran diferencias significativas con 95% (\*), 99% (\*\*) y 99,9% (\*\*\*), de acuerdo a los factores origen de la madera y sistema de envejecimiento.

Los vinos envejecidos con astillas de *Quercus pyrenaica* Willd. han mostrado los menores niveles del índice de ionización. Este resultado ha coincidido con lo observado en los parámetros de color, presentando significativamente menor contenido de componente roja (%A520) ( $p < 0,001$ ) que los otros vinos estudiados. Los vinos tratados con tablones de *Quercus pyrenaica* Willd. y micro-oxigenación han presentado mayor edad química (i, ii), lo que se relacionaba con el mayor contenido de pigmento polimérico, y además con mayores tonalidades azuladas (%A620) (tabla 25).

Además se ha observado que los vinos embotellados tratados con astillas y MOX han sido más tánicos y con mayores tonalidades pardas que al emplear tablones para su envejecimiento.

Respecto al origen de la madera, los vinos con tablonos y micro-oxigenación de *Quercus pyrenaica* Willd. han mostrado menor astringencia, siendo los vinos con astillas y tablonos de roble francés (*Quercus petraea*) los que han presentado mayor contenido de taninos astringentes (tabla 25).

Tabla 26- Resultados del análisis de varianza de los parámetros evaluados en los vinos tras 18 meses de botella

	Astillas			Tablonos			p level
	<i>Q. pyrenaica</i>	<i>Q. alba</i>	<i>Q. petraea</i>	<i>Q. pyrenaica</i>	<i>Q. alba</i>	<i>Q. petraea</i>	
PT (mg/L)	2393,76 e	2298,76 a	2373,76 c	2396,26 d	2316,26 b	2373,76 c	***
PPP (mg/L)	1256,26 e	1053,76 a	1093,76 d	1053,76 a	1086,26 c	1063,76 b	***
PMP (mg/L)	1137,51 a	1245,01 e	1280,01 c	1342,51 d	1230,01 b	1310,01 f	***
CAT(mg/L)	1036,81 f	994,81 d	960,81 e	858,81 a	932,81 c	898,81 b	***
ANT (mg/L)	387,63 f	364,88 d	366,63 e	312,38 a	342,13 c	332,51 b	***
Df-3-Gl(mg/L)	16,22 d	16,29 e	18,48 f	14,35 a	16,15 c	15,77 b	***
Cn-3-Gl(mg/L)	5,15 d	5,18 e	5,32 f	4,99 c	4,95 b	4,72 a	***
Pt-3-Gl(mg/L)	15,43 e	15,40 d	17,38 f	13,21 a	14,87 c	14,49 b	***
Pn-3-Gl(mg/L)	6,12 d	6,17 e	6,43 f	5,63 a	5,88 b	6,05 c	***
Mv-3-Gl(mg/L)	40,13 e	39,72 d	46,41 f	32,66 a	38,00 c	36,75 b	***
Vitisina A (mg/L)	5,50 b	5,51 c	5,82 f	5,52d	5,69e	5,29 a	***
Pn-3-Gl-Ac (mg/L)	6,10e	5,92c	6,42 f	5,56b	6,02 d	5,28a	***
Df-3-Gl-Cm+	11,45d	11,51e	11,73 f	10,63b	10,84c	10,44a	***
Mv-3-Gl-Ac (mg/L)	4,51c	4,46b	0,00 a	0,00 a	0,00a	0,00a	***
Cn-3-Gl-Cm(mg/L)	4,84 e	4,54c	4,60d	4,50 a	4,52b	4,52 b	***
Mv-3-Gl-Cm C (mg/L)	6,36 f	5,13 d	5,28 e	4,88 a	4,99 c	4,92 b	***
Pt-3-Gl-Cm (mg/L)	6,46 b	7,61 e	8,26 f	6,29 a	6,82 d	6,69 c	***
Mv-3-Gl-Cm T (mg/L)	11,99 a	16,39 b	16,60 c	20,21 e	18,47 d	25,16 f	***
IoIn	2,54 f	2,40 c	2,50 e	2,19 a	2,34 b	2,44 d	***
EtIn	27,12 d	22,83 a	25,52 b	26,97 c	27,81 f	27,53 e	***
GIIn	76,86 f	68,91 c	66,67 b	69,01 d	74,01 e	61,12 a	***
I	0,47 a	0,48 b	0,47 a	0,55 d	0,53 c	0,54 cd	***
li	0,17 a	0,18 ab	0,17 b	0,23 d	0,22 c	0,23 d	**
i/ii	2,90 f	2,77 d	2,78 e	2,37 b	2,43 c	2,35 a	***
C	2,80 a	3,30 d	3,45 e	3,26 c	3,13 b	3,29 d	***
Ep	4,14 a	4,34 c	4,24 b	4,97 e	4,87 d	4,89 f	***
TA	0,59 a	0,79 b	0,91 d	0,84 c	0,90 d	0,90 d	***
FC	7,77 a	7,87 b	8,09 c	8,21 e	8,27 f	8,17 d	***
Cl	9,96 a	10,80 c	10,56 b	12,63 f	12,28 d	12,39 e	***
T	0,79 d	0,76 b	0,77 c	0,76 ab	0,76 ab	0,75 a	***
%A420	36,79 f	35,96 d	36,21 e	35,74 c	35,70 b	35,55 a	***
%A520	46,64 a	47,55 c	47,21 b	47,63 e	47,60 d	47,74 f	***
%A620	16,59 b	16,50 a	16,59 b	16,65 c	16,71 d	16,73 e	***
%dA	42,79 a	44,84 c	44,08 b	45,01 e	44,95 d	45,27 f	***

Media calculada con 10 valores para cada parámetro. Diferentes letras muestran diferencias significativas con 95% (\*), 99% (\*\*) y 99,9% (\*\*\*), de acuerdo a los factores origen de la madera y sistema de envejecimiento.

Tras 18 meses de permanencia en botella se ha observado que la mayoría de los parámetros estudiados en los vinos han presentado diferencias significativas ( $p < 0,001$ ). Como en las tablas 24 y 25, los vinos tratados con astillas y micro-oxigenación han mostrado los mayores contenidos de antocianos totales, catequinas, taninos, tonalidad y componente amarilla (%A420) (tabla 26).

Los vinos envejecidos con tablonos + MOX tras 18 meses de permanencia en botella han presentado mayor intensidad colorante, tonos rojos y azules, pigmento polimérico, cofactores flavonoles (FC) y edad química (i, ii) (tabla 26).

Durante este periodo de estudio, los vinos envejecidos con madera de *Quercus pyrenaica* Willd. han mostrado mayores niveles de polifenoles totales, este nivel en los vinos con astillas fue debido a su contenido de polifenoles poco polimerizados (PPP), catequinas, taninos y antocianos totales, mientras que en los vinos con tablonos fue por su elevado contenido en polifenoles muy polimerizados (PMP) (tabla 26).

Los vinos con astillas de *Quercus pyrenaica* Willd. han mostrado el mayor contenido de antocianos totales tras 18 meses de permanencia en botella, pero también han sido los vinos más tánicos, y con mayor índice de gelatina y etanol (tabla 26).

#### 4.1.1.2. Análisis discriminante

Se ha realizado un análisis discriminante para identificar y evaluar los compuestos analizados que pudieran ser importantes para distinguir los vinos según el origen del roble empleado (*Quercus alba*, *Quercus petraea* y *Quercus pyrenaica* Willd.) y según el sistema de envejecimiento (astillas + MOX y tablonos + MOX).

La tabla 27 muestra las variables elegidas para la realización del análisis discriminante durante el periodo de permanencia del vino con la madera y durante el periodo de botella, los valores de las funciones canónicas 1 y 2, y la varianza total.

Tabla 27- Resultados del análisis discriminante llevado a cabo en vinos tintos tratados con astillas y tablonos de roble español, americano y francés

	Periodo madera		Periodo botella	
	F1	F2	F1	F2
PPP	-0,3212	0,0072	7,9016	0,8584
PMP	-0,8185	0,3997	12,1121	4,2470
CAT	-1,6815	0,2701	0,6786	-0,7203
Ant	0,7030	-1,8365	-3,1342	-1,9586
TAN	-0,1419	-0,3892	2,6091	-2,3022
i	-0,6074	-0,1155	1,9154	-4,5947
ii	0,4161	0,2282	1,3936	1,8918
C	-1,4582	1,1900	0,0674	1,4280
TA	8,0434	-1,6924	1,0365	-10,2365
Ep	2,1498	-0,3280	-12,0205	-5,2268
FC	-8,5709	2,4929	-4,8520	5,4856
EtIn	-0,9086	0,7474	0,8772	-0,2732
GIn	-0,1547	0,8384	0,2712	-0,3154
IIIn	-0,0489	0,3852	0,8292	0,5006
A420	5,4162	-4,9554	-5,8012	14,9276
A520	-0,0435	1,4060	8,5223	-7,2869
A620	-3,1426	2,7778	-3,5023	-1,0390
Eigenval	2,5892	1,3510	189,1760	2,5970
Varianza	56,1900	29,3100	97,0100	1,3300

La figura 58 muestra la distribución de las muestras de vino en el plano definidas por las dos funciones canónicas principales, tras seis meses de contacto con las astillas y tablonos de roble. La mayor separación de los vinos según su sistema de envejecimiento ha ocurrido a lo largo de la función F1, de forma que nos ha permitido clasificar y diferenciar los vinos tratados con astillas y micro-oxigenación y tablonos y micro-oxigenación.

Los vinos envejecidos con tablonos y micro-oxigenación han quedado situados en el eje positivo de la función 1, la cual ha quedado definida por el pigmento polimérico (Ep) y los antocianos libres (TA) (tabla 26). Los vinos envejecidos con astillas y MOX han quedado definidos en el eje negativo de la función canónica F1 relacionado con el contenido de catequinas y flavonoles (FC). Durante el periodo de contacto del vino con la madera se ha obtenido un eigenvalue de 2,58 con una correlación de 0,8493, mientras que 0,7580 es la correlación de F2 con un eigenvalue de 1,35.

La función 2 del análisis discriminante tiene una correlación positiva con la componente roja (A520) y los índices de gelatina e ionización, y una correlación negativa con el contenido de antocianos totales y taninos de los vinos (tabla 27).

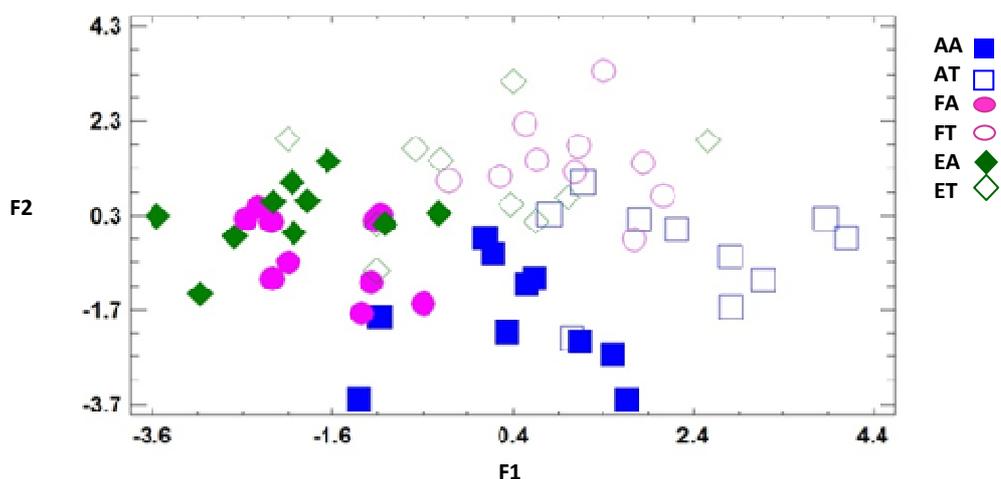


Figura 58- Representación de las funciones canónicas 1 y 2 durante el periodo de envejecimiento del vino con la madera

La matriz de clasificación del modelo cuando los vinos fueron envejecidos con astillas y MOX ha indicado una correcta clasificación del 70 y 80% para los vinos tratados con roble americano (*Quercus alba*) y francés (*Quercus petraea*) respectivamente, y del 60% para los vinos de astillas de roble español (*Quercus pyrenaica* Willd.). Se han encontrado resultados similares al envejecer los vinos con tablonos y micro-oxigenación, los cuales han mostrado una correcta clasificación del 80% para los vinos envejecidos con *Quercus petraea*, 70% para los vinos con tablonos de *Quercus alba*, y del 50% para los vinos con roble español.

Se ha observado que tras seis meses de contacto con la madera, los vinos tratados con astillas de *Quercus pyrenaica* Willd. han mostrado unas propiedades similares a los vinos envejecidos con astillas de roble francés (*Quercus petraea*) (figura 58). También se ha observado que al emplear tablonos y micro-oxigenación, los vinos envejecidos con roble español han quedado situados cerca de los vinos con tablonos de roble francés y micro-oxigenación (figura 58).

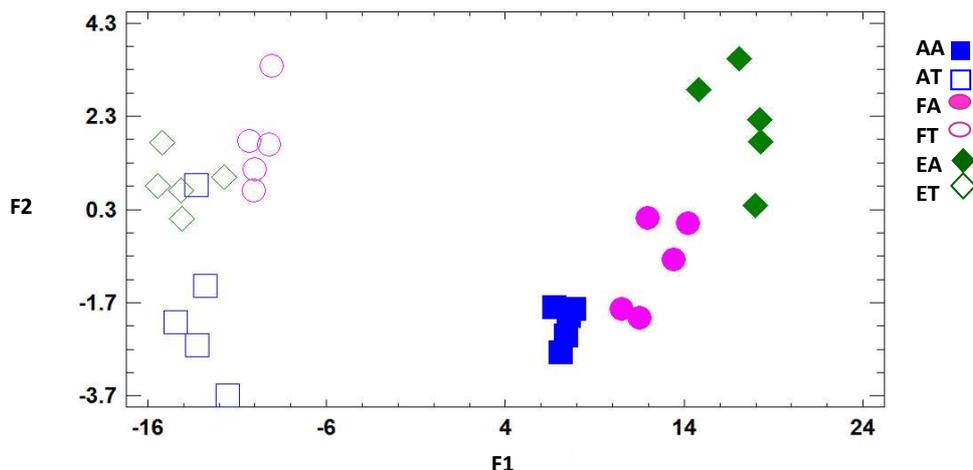


Figura 59- Representación de las funciones canónicas 1 y 2 durante el periodo de botella de los vinos analizados

Durante el periodo de permanencia del vino en botella (tabla 27, figura 59), la distribución de las muestras de vino estudiadas en el plano ha permitido diferenciar a los vinos según el sistema de envejecimiento (vinos con astillas y micro-oxigenación de los vinos con tablonés y micro-oxigenación).

Los grupos de las muestras de vino estudiadas según el origen del roble se han diferenciado mejor durante el periodo de botella (figura 59) que durante el periodo de madera (figura 58). Además los resultados obtenidos durante el periodo de botella han mostrado que, los vinos han adquirido características específicas las cuales han variado según el sistema de envejecimiento, lo que hace posible su diferenciación entre los vinos estudiados.

La función 1 ha permitido diferenciar las muestras de vino que han sido envejecidas durante 18 meses en botella. Se ha observado que los vinos envejecidos con astillas y MOX se han localizado en la zona positiva de la función discriminante 1 (principalmente debido a su mayor peso en compuestos fenólicos), mientras que los vinos tratados con tablonés y MOX se han situado en el eje negativo de la función 1, principalmente debido a su mayor peso en Ep, antocianos y componente azul (A620).

Teniendo en cuenta la posición de los vinos y la información proporcionada por los factores F1 y F2, se puede observar que la función discriminante 1 (F1) ha permitido la identificación de los vinos según el sistema de envejecimiento (astillas + MOX y tablonés + MOX) y la función F2 ha permitido la diferenciación de los vinos según el origen del roble empleado (americano, español y francés).

Es importante tener en cuenta que las muestras de vinos envejecidas con astillas de roble español y francés con micro-oxigenación han mostrado mayor distancia en el plano que los vinos tratados con astillas de roble americano, lo que indica una mayor heterogeneidad de estas muestras. Se ha observado que las muestras de los vinos envejecidos con tablonés de roble español (*Quercus pyrenaica* Willd.) y micro-oxigenación se han situado entre las muestras de vino con roble americano y francés (figura 59).

La función discriminante F2 se ha correlacionado de forma positiva con la componente amarilla (A420) y C, y de forma negativa con TA y el parámetro i de la edad química. Estas

variables tienen un efecto importante en los vinos envejecidos con madera de roble. El mayor porcentaje de los casos correctamente clasificados ha correspondido a los vinos tratados con astillas + MOX y vinos con tablonos + MOX con un 100% en todos los orígenes estudiados. Al final del estudio se ha observado que los vinos envejecidos con tablonos o astillas de roble español (*Quercus pyrenaica* Willd.), han mostrado propiedades fenólicas más cercanas a las de los vinos envejecidos con productos alternativos a las barricas de roble francés (*Quercus petraea*) que de americano (*Quercus alba*).

#### 4.1.1.3. Análisis sensorial

Durante todo el envejecimiento un grupo de expertos catadores de Castilla y León ha realizado el análisis organoléptico de las muestras de vino envejecidas con productos alternativos (astillas y tablonos + micro-oxigenación) de roble de diferentes orígenes (americano, francés y español).

Las tablas 28, 29 y 30 muestran la valoración de los atributos estudiados en los vinos tras seis meses de envejecimiento con la madera y después de 6 y 18 meses de envejecimiento en botella.

Tabla 28- Valor medio para cada atributo evaluado después de 6 meses de envejecimiento del vino con astillas y tablonos de roble español, americano y francés y micro-oxigenación

	Envejecimiento en madera (6 meses)						p
	AE	AA	AF	TE	AT	TF	
Intensidad	6,7 a	6,7 a	7,0 ab	7,7 b	7,8 b	7,3 ab	*
Luminosidad	7,0 a	7,0 a	7,5 a	7,3 a	7,0 a	7,0 a	
Azules	4,7 ab	4,3 a	5,0 ab	6,0 c	5,3 bc	6,0 c	**
Rojos	5,7 a	5,7 a	5,0 a	5,0 a	5,3 a	5,0 a	
Amarillos	1,0 b	0,7 b	0,5 ab	0,0 a	0,0 a	0,0 a	***
I. Aromática	6,3 a	5,0 a	6,0 a	5,7 a	5,3 a	5,7 a	
Complejidad	5,0 b	3,3 a	5,0 b	4,3 ab	4,0 ab	5,0 b	
Afrutados	3,3 a	4,0 a	4,0 a	3,3 a	3,3 a	4,0 a	
Maderizado	5,3 ab	4,7 a	5,0 ab	6,3 b	5,8 b	4,7 a	
Tostado	5,0 bc	3,3 a	5,5 bc	6,0 b	4,5 ac	4,7 abc	**
Balsámico	3,3 bd	2,0 a	4,5 cd	5,0 c	2,5 ab	4,3 cd	***
Vainilla	3,3 a	3,7 a	5,0 b	3,7 a	3,8 a	4,3 ab	
Coco	1,0 a	2,3 a	2,0 a	1,7 a	2,3 a	2,0 a	
Pimienta	1,7 a	1,3 a	1,5 a	2,7 a	1,3 a	2,7 a	
Canela	2,7 a	4,3 a	4,5 a	3,7 a	3,0 a	3,3 a	
Cacao	1,7 ab	1,0 a	2,0 abc	3,0 c	1,0 a	2,7 bc	**
Regaliz	2,3 a	2,0 a	3,5 a	2,7 a	2,3 a	3,0 a	
Volumen	6,0 a	5,7 a	6,5 a	6,3 a	5,3 a	6,3 a	
Acidez	5,0 b	5,0 b	5,0 b	5,0 b	4,5 a	5,0 b	**
I. Tánica	6,7 b	6,7 b	7,0 b	6,3 ab	5,8 a	6,3 ab	
Tan. redondo	1,7 a	2,3 a	2,0 a	2,3 a	2,5 a	2,0 a	
Tan. verde	2,7 a	2,3 a	2,5 a	3,0 a	2,3 a	2,7 a	
Tan. seco	5,3 a	4,3 a	5,0 a	5,0 a	4,0 a	5,3 a	
Armonía	4,7 a	5,0 a	6,5 b	5,7 ab	4,8 a	5,3 ab	
Persistencia	6,0 ab	5,3 ab	6,5 b	6,3 b	5,0 a	5,3 ab	
Valor. global	5,3 ab	5,3 ab	6,5 b	6,3 b	4,5 a	6,0 b	**

Media calculada con 10 valores para cada parámetro. Diferentes letras muestran diferencias significativas con 95% (\*), 99% (\*\*) y 99,9% (\*\*\*), de acuerdo a los factores origen de la madera y sistema de envejecimiento.

Los resultados han indicado que, los vinos envejecidos con productos alternativos a las barricas (astillas y tablonés) de roble español de Castilla y León (*Quercus pyrenaica* Willd.) y pequeñas dosis de oxígeno han estado muy bien valorados por los catadores. Esto confirma lo que ya ha sido publicado en otros trabajos sobre el envejecimiento de vinos en barricas de *Quercus pyrenaica* Willd. (Fernández de Simón y col., 2008). Los resultados obtenidos han puesto de manifiesto la gran influencia del origen del roble y del tamaño del producto alternativo empleado (astillas y tablonés) en muchos de los atributos evaluados en los vinos.

Tabla 29- Valor medio para cada atributo evaluado después de 6 meses de envejecimiento del vino con astillas y tablonés de roble español, americano y francés y micro-oxigenación y 6 meses de botella

	Envejecimiento en madera (6 meses) y botella (6 meses)						p
	AE	AA	AF	TE	AT	TF	
Intensidad	6,0 a	6,2 a	6,2 a	6,2 a	6,4 b	6,2 a	
Luminosidad	5,6 b	5,4 b	5,4 b	5,2 b	5,4 b	4,6 a	*
Azules	4,4 a	4,6 a	4,8 a	4,8 a	4,8 a	4,6 a	
Rojos	5,4 b	5,2 ab	5,2 ab	5,4 b	5,4 b	5,0 a	
Amarillos	2,2 a	1,6 a	1,6 a	1,2 a	1,0 a	1,2 a	
I. Aromática	7,6 c	5,8 a	6,0 ab	7,6 c	6,0 ab	6,4 b	***
Complejidad	6,0 c	4,6 ab	4,2 a	6,2 c	4,6 ab	5,6 bc	***
Afrutados	3,4 a	3,2 a	4,4 b	4,2 b	4,4 b	4,6 b	***
Maderizado	6,0 cd	4,6 b	3,2 a	6,2 d	5,2 bc	4,8 b	***
Tostado	5,4 c	4,2 ab	3,2 a	6,6 d	4,6 ab	4,4 bc	***
Balsámico	4,0 ab	3,4 a	3,4 a	5,0 b	4,6 ab	4,6 ab	*
Vainilla	5,2 c	4,2 bc	3,0 a	3,8 ab	4,4 bc	5,0 c	**
Coco	5,0 c	2,8 ab	2,0 a	2,6 a	4,0 bc	3,0 ab	***
Pimienta	2,4 ab	1,6 a	1,8 a	3,0 b	1,6 a	2,2 ab	**
Canela	5,4 b	3,0 a	3,2 a	4,0 ab	4,4 ab	5,6 b	**
Cacao	2,2 ab	2,2 ab	1,2 a	3,2 b	1,6 a	3,0 b	**
Regaliz	2,4 c	1,8 ab	1,4 a	2,0 bc	1,6 ab	1,8 ab	*
Volumen	6,0 ab	6,0 ab	5,8 ab	6,2 b	6,0 ab	5,4 a	
Acidez	4,8 a	4,8 a	4,4 a	4,8 a	4,8 a	4,8 a	
I. Tánica	5,8 ab	5,4 a	5,4 a	6,4 b	5,6 a	5,6 a	*
Tan. redondo	3,0 a	3,8 a	3,2 a	3,6 a	3,0 a	2,4 a	
Tan. verde	2,4 a	2,4 a	3,8 b	2,6 a	2,4 a	3,2 ab	**
Tan. seco	4,8 b	3,6 ac	2,8 a	4,4 bc	4,6 bc	4,4 bc	**
Armonía	5,6 a	5,6 a	5,6 a	6,2 a	5,6 a	6,0 a	
Persistencia	6,4 a	6,0 a	6,0 a	6,2 a	6,2 a	6,2 a	
Valor. global	6,4 c	6,0 bc	5,2 a	6,4 c	5,6 ab	6,2 bc	**

Media calculada con 10 valores para cada parámetro. Diferentes letras muestran diferencias significativas con 95% (\*), 99% (\*\*) y 99,9% (\*\*\*), de acuerdo a los factores origen de la madera y sistema de envejecimiento.

Se han encontrado algunas diferencias significativas en la fase visual de los vinos tras ser envejecidos durante seis meses con productos alternativos de roble. Los vinos envejecidos con astillas de roble, especialmente de *Quercus pyrenaica* Willd. han sido más pardos que los vinos tratados con tablonés y micro-oxigenación (tablas 24 y 28). Tras 18 meses de permanencia en la botella no se han encontrado diferencias significativas en el color rojo de los vinos envejecidos con astillas y tablonés de roble (tabla 30). Sin embargo, en las fases olfativa y gustativa si que se han encontrado diferencias, especialmente al pasar los vinos 6 meses en botella.

Tabla 30- Valor medio para cada atributo evaluado después de 6 meses de envejecimiento del vino con astillas y tablonos de roble español, americano y francés y micro-oxigenación y 18 meses de botella

	Envejecimiento en madera (6 meses) y botella (18 meses)						p
	AE	AA	AF	TE	AT	TF	
Intensidad	6,5 a	6,5 a	6,6 a	6,5 a	6,8 a	6,8 a	
Luminosidad	5,0 a	4,8 a	4,6 a	5,3 a	5,0 a	5,0 a	
Azules	3,3 a	2,3 a	2,8 a	2,8 a	3,0 a	3,0 a	
Rojos	5,5 a	5,8 a	6,0 a	5,5 a	5,5 a	5,5 a	
Amarillos	0,8 a	2,0 a	2,6 a	1,8 a	1,8 a	1,3 a	
I. Aromática	7,8 c	6,3 ab	5,6 a	7,0 bc	6,8 b	6,5 b	***
Complejidad	7,0 c	6,0 bc	4,6 a	6,3 bc	5,8 b	5,3 ab	**
Afrutados	2,5 a	3,5 a	2,6 a	3,5 a	3,3 a	3,3 a	
Maderizado	6,3 b	5,5 abc	4,8 a	5,8 bc	5,8 bc	5,3 ac	*
Tostado	5,5 c	4,3 bc	2,6 a	4,5 bc	4,8 bc	3,8 ab	**
Balsámico	3,5 ab	3,0 ab	2,4 a	4,0 b	3,5 ab	3,5 ab	
Vainilla	4,8 d	3,8 cd	1,6 a	3,0 bc	2,3 ab	2,5 ab	***
Coco	4,5 b	3,0 ab	2,4 a	2,8 ab	2,0 a	3,0 ab	
Pimienta	2,8 c	1,0 a	2,0 abc	1,8 abc	2,5 bc	1,3 ab	
Canela	5,0 c	3,0 ab	2,2 a	4,5 bc	2,3 a	2,8 a	***
Cacao	4,0 c	1,5 a	1,8 abc	3,3 bc	1,8 ab	1,8 ab	**
Regaliz	2,5 bc	1,3 a	1,6 abc	2,3 abc	3,0 c	2,3 abc	*
Volumen	6,0 a	6,3 a	6,0 a	5,8 a	7,0 bc	6,0 a	**
Acidez	5,3 a	4,5 a	5,2 a	4,8 a	4,8 a	4,8 a	
I. Tánica	6,3 a	6,0 a	6,2 a	6,3 a	6,5 a	6,0 a	
Tan. redondo	4,3 b	3,5 ab	2,8 a	4,3 b	3,5 ab	2,8 a	**
Tan. verde	3,0 a	2,8 a	2,6 a	3,0 a	3,3 a	2,8 a	
Tan. seco	2,5 a	3,0 a	5,2 b	3,5 a	3,5 a	3,5 a	**
Armonía	6,3 b	6,3 b	5,0 a	6,8 b	6,4 b	6,8 b	***
Persistencia	7,3 c	6,5 bc	5,4 a	7,3 c	6,9 bc	6,3 b	***
Valor. global	6,8 b	6,4 b	5,2 a	7,0 b	6,9 b	6,5 b	***

Media calculada con 10 valores para cada parámetro. Diferentes letras muestran diferencias significativas con 95% (\*), 99% (\*\*) y 99,9% (\*\*\*), de acuerdo a los factores origen de la madera y sistema de envejecimiento.

La figura 60 muestra el perfil sensorial de los vinos envejecidos con astillas y tablonos de roble español, americano y francés durante los tres periodos estudiados (periodo 1: envejecimiento en madera durante 6 meses, periodo 2: envejecimiento durante 6 meses en botella tras 6 meses de envejecimiento con la madera y periodo 3: envejecimiento durante 18 meses en botella tras 6 meses de contacto con la madera).

Respecto al perfil sensorial de los vinos, las principales diferencias se han encontrado en los atributos relacionados con el envejecimiento de los vinos (figura 60). Los vinos envejecidos con roble español (*Quercus pyrenaica* Willd.) han presentado mayores valores en el atributo maderizado y en los atributos relacionados con la interacción vino-madera. Coincidiendo estos resultados con los obtenidos al envejecer el vino en barricas de *Quercus pyrenaica* Willd. (Fernández de Simón y col., 2008).

Los vinos tratados con roble español han presentado unas características organolépticas de los vinos envejecidos con roble americano y francés, mostrando las típicas características de los vinos tratados con roble americano (vainilla y coco), además de importantes notas como ahumados o especiados, siendo estos atributos característicos de los vinos envejecidos con roble francés.

Durante el periodo de botella (6 y 18 meses) se ha encontrado que los vinos tratados con astillas y tablones y micro-oxigenación de *Quercus pyrenaica* Willd. han mostrado significativamente mayores niveles de intensidad aromática, complejidad aromática, maderizado, balsámicos y cacao (tablas 29 y 30), y además cuando se han empleado astillas de *Quercus pyrenaica* Willd. los vinos han presentado significativamente mayores niveles de tostado, vainilla, coco, pimienta, canela y regaliz (tablas 29 y 30).

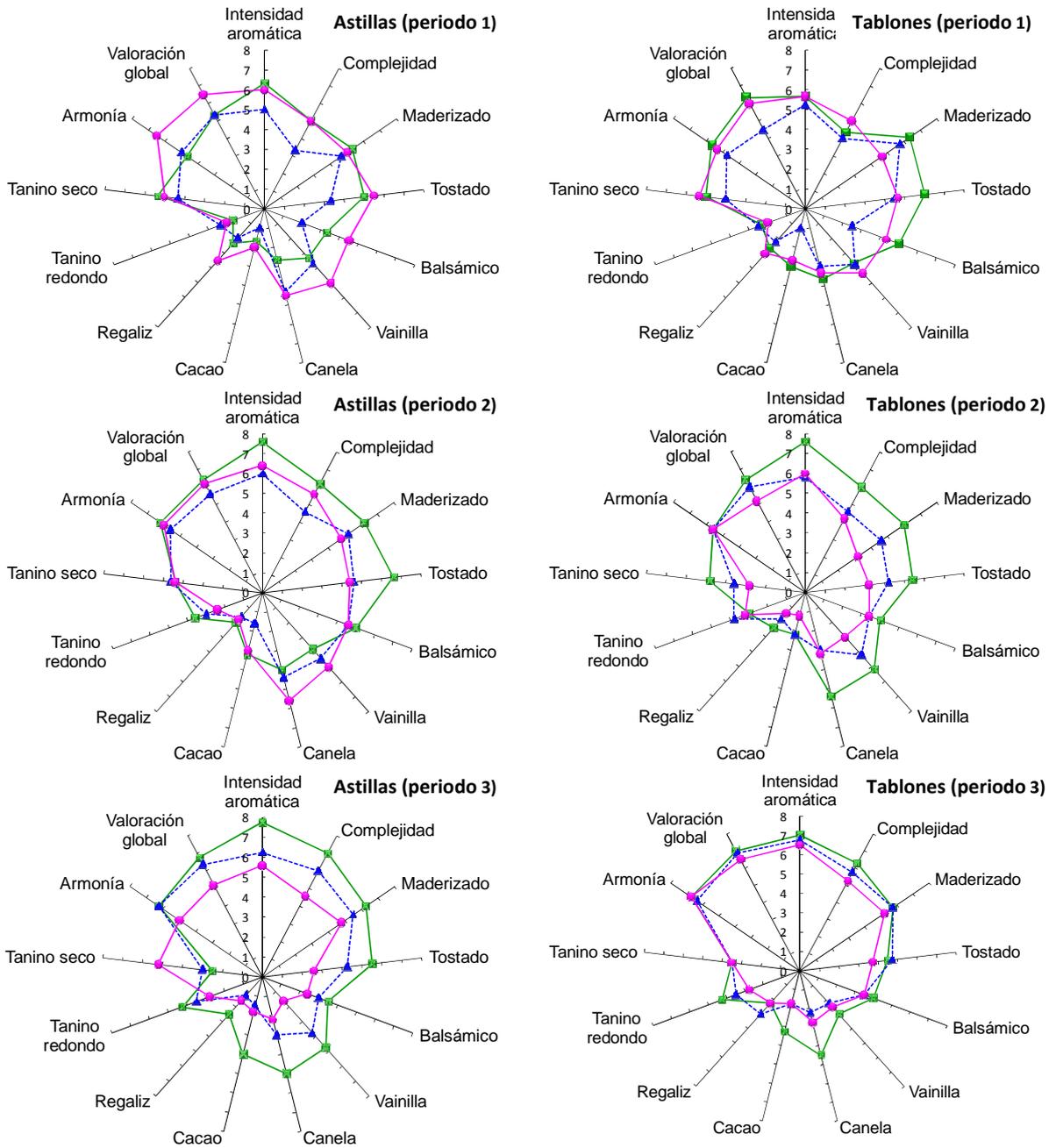


Figura 60- Perfil sensorial de los vinos envejecidos con astillas y tablones de roble español, americano y francés en los diferentes periodos estudiados

Los mayores atributos de balsámicos, tostado y pimienta han sido encontrados en los vinos envejecidos con tablonos y micro-oxigenación de roble español (*Quercus pyrenaica* Willd.) durante los primeros seis meses de envejecimiento en botella, decreciendo durante el siguiente año de envejecimiento en botella (tablas 29, y 30, figura 60 periodo 2).

Los vinos envejecidos con tablonos de *Quercus pyrenaica* Willd. y micro-oxigenación han sido los que mayor redondez en boca mostraron, siendo los vinos mejor valorados por los catadores. Al emplear astillas en el envejecimiento de los vinos, se ha observado que durante el periodo de botella los vinos tratados con roble español (*Quercus pyrenaica* Willd.) han mostrado los mayores niveles en intensidad aromática y vainilla (tablas 29 y 30, figura 60 periodos 2 y 3).

Tras 18 meses de envejecimiento en botella, los vinos tratados con astillas y tablonos + MOX de roble español han sido los mejor valorados en complejidad, intensidad aromática, armonía, tanino redondo, persistencia y valoración global (tabla 30, figura 60 periodo 3).

Los atributos de vainilla, balsámicos, canela y cacao presentes en vinos envejecidos con *Quercus pyrenaica* Willd. de Castilla y León han sido responsables de un toque peculiar muy valorado por los catadores.

Para conocer la influencia del consumo de oxígeno en las características sensoriales de los vinos durante la micro-oxigenación, se ha realizado un análisis de correlación entre los atributos evaluados por los catadores y el consumo total de oxígeno (TCO). La tabla 31 muestra los resultados obtenidos con un nivel de significación superior al 95% ( $p < 0,05$ ).

Se ha observado que el tiempo de envejecimiento ha sido el factor más importante, especialmente durante el periodo de 18 meses en botella al producirse en este periodo el mayor número de correlaciones significativas entre los atributos sensoriales y el consumo total de oxígeno en los vinos. Por lo tanto la cantidad de oxígeno consumido ha sido muy importante en las características de los vinos embotellados. Además, se ha observado que la relación entre el consumo total de oxígeno y los atributos sensoriales estudiados ha sido más significativa cuando los vinos fueron envejecidos con astillas que con tablonos, posiblemente debido a la mayor interacción vino-madera que tiene lugar al emplear astillas en el envejecimiento de los vinos.

En todos los casos se ha observado que los atributos más afectados por el consumo total de oxígeno (TCO) han sido la intensidad aromática, maderizado, tostado, vainilla, canela, coco, persistencia, tanino redondo y complejidad. Por tanto teniendo en cuenta que las correlaciones han tenido signo negativo, se puede asumir que un mayor consumo de oxígeno ha causado en los vinos menor nivel en los atributos mencionados.

Tabla 31- Nivel de correlación entre el consumo total de oxígeno (TCO) y los atributos estudiados en el análisis sensorial de los vinos

	Sistema de envejecimiento		Tiempo de envejecimiento			A		B		C	
	Ast.	Tabl.	A	B	C	Ast.	Tabl.	Ast.	Tabl.	Ast.	Tabl.
Intensidad											
Luminosidad				-0,32							
Azules			0,37								
Rojos											
Amarillos			-0,48								
I.aromática	-0,37	-0,24		-0,35	-0,3			-0,45	-0,53	-0,5	
Complejidad	-0,29				-0,4					-0,45	
Afrutados				0,43							
Maderizado	-0,35	-0,47		-0,26		-0,5	-0,51	-0,58			
Tostado	-0,33	-0,46					-0,38	-0,69	-0,43		
Balsámicos											
Vainilla	-0,33				-0,5		-0,42	0,37	-0,51		
Coco	-0,23						-0,37				
Pimienta											
Canela	-0,25				-0,4					-0,41	-0,42
Cacao					-0,3						
Regaliz				-0,3			-0,43				
Volumen								-0,49			
Acidez											
I.tánica								-0,37			
Tan. Redondo		-0,26			-0,4						-0,61
Tan. Verde											
Tan. Seco										0,46	
Armonía						0,52					
Persistencia		-0,27			-0,3					-0,43	-0,7
Valor. global										-0,42	-0,44

Nivel de correlación > 95% ( $p < 0,05$ )

Sistema de envejecimiento: Ast. (astillas), Tabl. (tablones)

Tiempo de envejecimiento: (A) 6 meses de envejecimiento con la madera, (B) 6 meses de envejecimiento en botella, (C) 18 meses de envejecimiento en botella

Las conclusiones más relevantes han sido las siguientes:

- Durante todo el periodo de estudio (envejecimiento con la madera y en botella), los vinos tratados con astillas y micro-oxigenación han presentado mayor contenido de antocianos totales que los vinos envejecidos con tablones y MOX, siendo significativas estas diferencias.
- Tras seis meses de permanencia con la madera, los vinos envejecidos con madera de *Quercus pyrenaica* Willd. y micro-oxigenación han mostrado características fenólicas y organolépticas similares a las de los vinos tratados con roble francés y MOX.

- Durante el envejecimiento en botella (6 y 18 meses) se han observado diferencias en la composición fenólica y en las características organolépticas de los vinos analizados. Tras 18 meses de permanencia en botella, las diferencias según el origen y tamaño de la madera empleada han sido significativas en la mayoría de los parámetros analizados en los vinos.

Los vinos envejecidos con astillas y micro-oxigenación han sido significativamente más tánicos que los vinos de tablones y MOX tras seis meses de permanencia en la botella. Los vinos embotellados (6 meses de botella) que previamente fueron envejecidos con tablones de *Quercus pyrenaica* Willd. y micro-oxigenación han sido significativamente menor tancidad que los obtenidos al emplear roble americano o francés.

Respecto al origen de la madera, los vinos con astillas de *Quercus pyrenaica* Willd. y micro-oxigenación tras seis meses de botella han mostrado niveles más altos de antocianos, catequinas y componente amarilla, que los vinos envejecidos con astillas de roble americano y francés.

- Respecto al análisis sensorial, es importante destacar la buena valoración y preferencia mostrada por los catadores hacia los vinos envejecidos con productos alternativos a las barricas de *Quercus pyrenaica* Willd. Los cuales han presentado características organolépticas típicas de los vinos envejecidos con roble americano y francés, al mostrar aromas de vainilla y coco (aromas típicos de los vinos envejecidos con roble americano), y notas de ahumados y especias (atributos destacables del envejecimiento de vinos con roble francés).

Durante el periodo de botella, los vinos tratados con madera de *Quercus pyrenaica* Willd. y micro-oxigenación han presentado mayor complejidad e intensidad aromática, y mayores atributos de balsámicos, tostado, maderizado y cacao que los vinos envejecidos con roble americano y francés, siendo significativas estas diferencias.

Respecto al sistema de envejecimiento, los vinos tratados con astillas de *Quercus pyrenaica* Willd. y micro-oxigenación han mostrado durante el periodo de permanencia en la botella niveles significativamente superiores de vainilla, tostados, coco, pimienta, regaliz y canela.

- El mayor o menor consumo de oxígeno de los vinos ha afectado a sus características organolépticas, se ha observado que los vinos que consumieron más oxígeno durante el envejecimiento presentaron menor intensidad y complejidad aromática, tanino redondo y persistencia, y menores notas de tostado, maderizado, vainilla, canela y coco.

#### **4.1.2. Efecto del origen y tamaño del producto alternativo en la gestión del oxígeno durante el envejecimiento**

El envejecimiento de los vinos con productos alternativos a las barricas lleva consigo la adición de pequeñas dosis de oxígeno (micro-oxigenación), reproduciendo de esta forma el envejecimiento de los vinos en barricas de roble.

Las dosis de oxígeno empleadas deben ser similares a la cantidad de oxígeno aportado al vino por la barrica durante su envejecimiento (las cuales han sido estimadas entre 2-4 mL/L-mes).

Se puede aportar una dosis fija de oxígeno a los vinos, la cual consiste en aportar una cantidad apropiada de oxígeno que sea consumida por el vino sin llegar a oxidarle (sin diferenciar por el tamaño, el origen o el tostado de la madera), o se puede emplear una micro-oxigenación adaptada al consumo de oxígeno de la especie de roble empleada (dosis flotante). En la dosis flotante se ajusta el nivel de oxígeno disuelto deseado en el vino, la cual se mantiene durante el envejecimiento para asegurar la mejor integración del vino con la madera. También es importante la diferenciación entre los distintos orígenes del roble basándose en las características de la madera, ya que determinan la cantidad de oxígeno que aporta la barrica. Los resultados de este apartado se han publicado en el año 2010 en la revista *Analytica Chimica Acta* y la referencia es 2010 660: 92.

Analytica Chimica Acta 660 (2010) 92–101



Contents lists available at ScienceDirect

Analytica Chimica Acta

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/aca](http://www.elsevier.com/locate/aca)



### Micro-oxygenation strategy depends on origin and size of oak chips or staves during accelerated red wine aging

María Del Álamo<sup>a,\*</sup>, Ignacio Nevares<sup>a,\*</sup>, Laura Gallego<sup>a</sup>, Brígida Fernández de Simón<sup>b</sup>, Estrella Cadahía<sup>b</sup>

<sup>a</sup>E.T.S. Ingenierías Agrarias, Universidad de Valladolid, Avda. Madrid 44, 34071 Palencia, Spain

<sup>b</sup>Departamento de Productos Forestales, Centro de Investigación Forestal (CIFOR), Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA), Apdo. 8111, 28080 Madrid, Spain

El objetivo principal de este trabajo ha sido el estudio del consumo de oxígeno y la evolución durante seis meses de envejecimiento de un mismo vino tinto D.O. Ribera del Duero (variedad Tinta del País) envejecido en sistemas alternativos a las barricas (astillas y tabloncillos de roble americano (*Quercus alba*), francés (*Quercus petraea*) y español (*Quercus pyrenaica* Willd.) y micro-oxigenación. También se ha analizado la estrategia de micro-oxigenación a seguir, teniendo en cuenta el origen y tamaño de la madera de roble empleada para el envejecimiento. Concretamente se ha llevado a cabo una gestión que intentó mantener en el vino una cantidad de oxígeno disuelto semejante a la habitual en los vinos envejecidos en barricas, para ello se situó en 20 ppb la cantidad consigna a mantener en los vinos envejecidos. A esta forma de micro-oxigenar a la demanda, la llamamos micro-oxigenación flotante (FMOX) (Del Álamo y col., 2010).

En este trabajo se recoge la evolución de los compuestos volátiles procedentes de la madera realizados por el INIA, las familias de compuestos fenólicos y el color de los vinos realizados siguiendo los métodos descritos en el presente capítulo, así como la relación con la evolución del consumo de oxígeno en el vino y la estrategia de micro-oxigenación desarrollada.

#### **4.1.2.1. Estrategia de micro-oxigenación y evolución del consumo de oxígeno en los vinos**

La figura 61 representa la tendencia media en la evolución del consumo de oxígeno en el vino envejecido con productos alternativos de roble americano, español y francés con MOX flotante. Como se puede observar la estrategia de la dosis de demanda es claramente visible

donde el punto de consigna se ha situado en 20  $\mu\text{g/L}$  (ppb), siendo el nivel típico de oxígeno disuelto empleado en barricas y establecido en trabajos previos del grupo (Nevares y col., 2007, 2008). En todos los sistemas de envejecimiento empleados, los niveles de oxígeno descendieron rápidamente durante los primeros diez días de contacto del vino con la madera, a partir de este momento se comenzó a micro-oxigenar el vino con unos niveles iniciales de 1,5 mL/L-mes y cada dos días se ajustó hasta alcanzar el punto de consigna fijado. De aquí en adelante, comenzó una lenta diferenciación en los vinos según el sistema de envejecimiento (astillas y tablones) y el origen del roble (americano, español y francés).

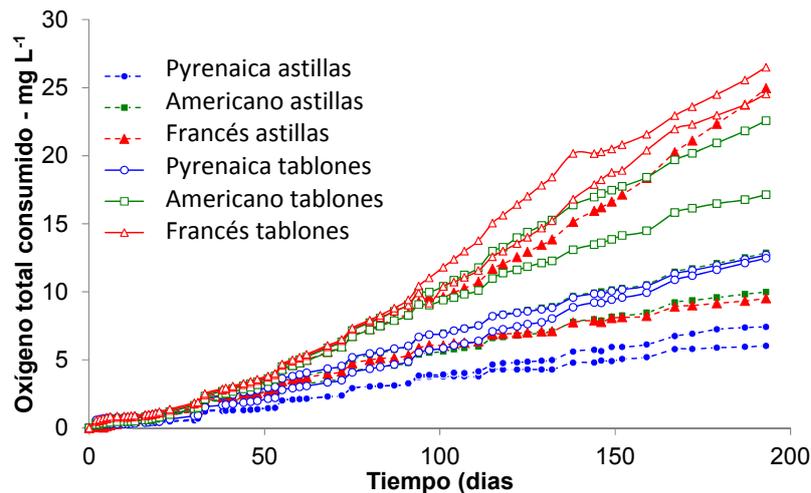


Figura 61- Evolución del consumo de oxígeno en los vinos envejecidos con productos alternativos (astillas y tablones) de roble francés, americano y español con FMOX

Los vinos tratados con astillas de *Quercus pyrenaica* Willd. han necesitado menor cantidad de oxígeno para continuar en el punto de partida fijado, siendo la dosis media de oxígeno durante todo el envejecimiento de 0,50 mg/L-mes, y para los tablones la dosis necesitada fue de más del doble que para los vinos con astillas (1,34 mg/L-mes) (tabla 32).

Tabla 32- Dosis llevadas a cabo durante la micro-oxigenación flotante en el envejecimiento de los vinos

	Español ( <i>Quercus pyrenaica</i> )		Americano ( <i>Quercus alba</i> )		Francés ( <i>Quercus petraea</i> )							
	Astillas	Tablones	Astillas	Tablones	Astillas	Tablones						
	Media	S.D.	Media	S.D.	Media	S.D.	Media	S.D.	Media	S.D.		
Dosis MOX (mL/L)	2,37	0,83	6,37	0,15	5,87	1,48	11,70	2,73	10,14	8,07	15,71	0,97
Dosis MOX (mL/L-mes)	0,37	0,13	0,99	0,02	0,91	0,23	1,82	0,42	1,04	0,50	2,44	0,15
Total O2 inputs (mg/L)	6,70	1,12	12,11	0,20	11,43	2,00	19,29	3,68	17,19	10,90	24,71	1,31
Dosis MOX (mg/L)	3,20	1,12	8,61	0,20	7,93	2,00	15,79	3,68	13,69	10,90	21,21	1,31
Dosis MOX (mg/L-mes)	0,50	0,17	1,34	0,03	1,23	0,31	2,45	0,57	2,13	1,69	3,30	0,20
Relación dosis Tabl./Ast.	2,69				1,99				1,55			

Los vinos tratados con roble americano (*Quercus alba*) y francés (*Quercus petraea*) han consumido mayor cantidad de oxígeno que los vinos envejecidos con roble español. Los vinos

con astillas de roble americano y francés han tenido un consumo de oxígeno de 1,23 y 2,13 mg/L-mes respectivamente, aumentando este consumo de oxígeno al envejecer con tablonos (3,30 mg/L-mes los vinos con tablonos de *Quercus petraea* y 2,45 mg/L-mes los vinos con tablonos de *Quercus alba*) (tabla 32). El resultado obtenido en los vinos tratados con astillas ha sido muy heterogéneo no siendo las diferencias muy evidentes (figura 61).

#### 4.1.2.2. Correlaciones entre los compuestos del vino y el oxígeno consumido

La tabla 33 muestra el valor de correlación (r) entre el oxígeno consumido por el vino y los compuestos analizados. Las correlaciones han sido calculadas con los valores de acumulación del oxígeno consumido (TCO) y la variación de cada parámetro analizado con respecto a su valor inicial de cada periodo estudiado (Delta). Una correlación positiva nos indica un incremento en la concentración del compuesto, mientras que una correlación negativa indica un descenso. Se ha observado que las mayores correlaciones encontradas entre el oxígeno total consumido y muchos de los compuestos del vino han dependido exclusivamente del tipo de madera empleada para el envejecimiento.

Las figuras 62, 63 y 64 representan gráficamente las regresiones obtenidas entre la correlación del oxígeno total consumido y varios de los compuestos estudiados en los vinos envejecidos con productos alternativos (astillas + MOX y tablonos + MOX) de roble americano (*Quercus alba*), francés (*Quercus petraea*) y español (*Quercus pyrenaica* Willd.), mostrándose el grado de significación de las regresiones en la tabla 33.

Se han encontrado correlaciones significativas entre el oxígeno consumido y bastantes de los compuestos procedentes de la madera en los vinos tratados con astillas y tablonos, especialmente al emplear roble americano (*Quercus alba*) y español (*Quercus pyrenaica* Willd.). Se han encontrado correlaciones positivas entre los compuestos 2-furanmetanol, maltol, cis y trans W-lactona, 4 etil fenol y vainillina y el oxígeno total consumido (TCO) en los vinos tratados con astillas de roble americano y español. Sin embargo cuando los vinos han sido envejecidos con tablonos y micro-oxigenación, el oxígeno que han consumido estaba muy relacionado positivamente con el 5MF (al emplear roble americano, francés y español), maltol (vinos con roble americano y francés) y con el furfural, guayacol y eugenol al usar en el envejecimiento roble americano y español. Por lo tanto, el origen del roble ha sido un factor clave en el manejo del envejecimiento del vino en depósitos, al estar relacionada la demanda de oxígeno por el vino con la transferencia de estos compuestos de la madera al vino.

En la figura 62 se puede observar que el 5HMF, compuesto relacionado con el descriptor caramelo en los vinos, ha aumentado significativamente más en los vinos envejecidos con tablonos y MOX que en los tratados con astillas y micro-oxigenación, estando este incremento relacionado con el consumo de oxígeno, siendo significativamente diferentes las regresiones obtenidas en los vinos tratados con roble español, francés y americano ( $p < 0,001$ ) (tabla 33, figura 62).

Al final del periodo estudiado, los vinos envejecidos con madera de roble español (*Quercus pyrenaica* Willd.) han sido los que mayor concentración de 5HMF y los que menor consumo de oxígeno presentaron. Esta tendencia también ha sido observada en otros derivados furánicos (5MF, 2-furanmetanol), los cuales han aumentado significativamente su concentración en los vinos envejecidos con *Quercus pyrenaica* Willd.

Tabla 33- Coeficientes de correlación entre los parámetros analizados y el oxígeno consumido por los vinos según el origen del roble y el sistema de envejecimiento

	Astillas				Tablones			
	Español	Americano	Francés	p*	Español	Americano	Francés	p*
<b>Compuestos de la madera</b>								
Furfural (15-35360)	0,28	0,30	0,22	***	0,66	0,57	0,22	***
5MF (1-2500)	0,43	0,39	0,41	**	0,87	0,84	0,67	**
5HMF (24-7500)	-0,14	0,26	-0,13		0,30	0,46	0,33	***
2-furanmetanol(80-4365)	0,72	0,54	0,62	***	0,74	0,34	0,57	***
W lactona T (0-153)	0,65	0,65	0,52	***	0,20	0,65	0,07	***
W lactona C (0-678)	0,66	0,59	0,46	***	0,49	0,63	-0,52	***
Maltol (28-533)	0,53	0,54	0,31	***	0,24	0,74	0,72	***
Guayacol (4-49)	0,28	0,63	0,28	**	0,72	0,53	0,48	***
4-metilguayacol (1-58)	0,44	0,66	0,40	*	0,52	0,38	0,48	*
4-etilguaiacol (0,32-7)	-0,55	-0,24	-0,36		-0,46	-0,22	-0,23	
4-etilfenol (5-18)	0,74	0,78	0,53	***	0,62	0,39	0,55	*
4-vinilguayacol (12-249)	-0,44	-0,29	-0,43		-0,29	-0,21	-0,18	
4-vinilfenol (1940-23823)	-0,52	-0,32	-0,43		-0,41	-0,26	-0,21	
Eugenol (6-46)	-0,15	0,10	-0,29	**	0,79	0,58	0,32	***
Isoeugenol C-T (7-186)	-0,13	0,16	-0,14		0,22	0,17	0,07	
Siringol (21-293)	0,16	0,73	0,13	***	0,28	-0,11	0,19	
Vainillina (14-1319)	0,54	0,66	0,39	***	0,31	0,21	0,28	***
Siringaldehído (23-8000)	0,52	0,58	0,46	***	0,69	0,35	0,34	**
Cicloteno (0-80)	0,60	0,56	0,49	***	0,89	0,89	0,88	***
<b>Antocianos y taninos</b>								
ANT (409-660)	-0,87	-0,94	-0,82	***	-0,96	-0,92	-0,94	***
IIn (15-40)	0,59	0,73	0,63	***	0,79	0,69	0,78	***
Df-3-Gl (22-67)	-0,81	-0,87	-0,85	***	-0,96	-0,94	-0,98	***
Ci-3-Gl (1-5)	0,23	0,19	0,17		-0,97	-0,92	-0,95	***
Pt-3-Gl (21-70)	-0,92	-0,90	-0,84	***	-0,96	-0,94	-0,98	***
Pn-3-Gl (2-14)	-0,91	-0,87	-0,81	***	-0,94	-0,93	-0,97	***
Mv-3-Gl (70-234)	-0,94	-0,89	-0,83	***	-0,96	-0,82	-0,99	***
Vitisín A (0-9)	-0,18	-0,13	-0,26		-0,61	-0,63	-0,48	
Pe-3-Gl-Ac (0-1)	-0,77	-0,67	-0,56	***	-0,61	-0,53	-0,62	
Df-3-Gl-Cm+ Mv-3-Gl-Ac (0-18)	-0,89	-0,87	-0,78	***	-0,91	-0,89	-0,93	**
Ci-3-Gl-Cm (0-2)	-0,61	-0,53	-0,62	**	-0,65	-0,67	-0,58	***
Mv-3-Gl-Cm C (0-3)	-0,83	-0,86	-0,75	***	-0,88	-0,83	-0,86	***
Pt-3-Gl-Cm (0-6)	-0,87	-0,85	-0,76	***	-0,87	-0,86	-0,88	***
Mv-3-Gl-Cm T (0-33)	-0,86	-0,88	-0,80	***	-0,95	-0,92	-0,96	***
Scum (0-40)	-0,87	-0,88	-0,80	***	-0,95	-0,92	-0,96	***
Ep (2-3)	0,45	0,76	0,47	**	0,89	0,83	0,69	***
CAT (441-1439)	-0,46	-0,46	-0,33		-0,39	-0,51	-0,42	
TAN (2-4)	0,46	0,42	0,31		0,59	0,46	0,27	
EtIn (7-70)	-0,57	-0,41	-0,21		-0,47	-0,43	-0,35	
GIn (35-100)	-0,43	-0,10	-0,22		-0,54	-0,66	-0,56	**
<b>Color y edad química</b>								
IC (10-15)	0,29	0,66	0,54	***	0,74	0,67	0,69	***
%A420 (33-37)	-0,05	-0,25	-0,17		-0,19	-0,15	-0,19	
%A520 (49-53)	-0,13	-0,07	-0,11		-0,39	-0,32	-0,32	
%A620 (11-15)	0,19	0,27	0,25		0,48	0,47	0,48	*
L (59-70)	-0,52	-0,73	-0,59	***	-0,75	-0,75	-0,74	***
a* (30-39)	-0,06	0,46	0,40		0,55	0,43	0,60	**
b* (-3,6-3,3)	0,63	0,66	0,38	**	0,11	0,36	0,21	
H (0-25)	-0,74	-0,72	-0,45	***	-0,42	-0,41	-0,40	
C* (31-39)	-0,07	0,45	0,39		0,55	0,43	0,60	**
i (0,2-0,4)	0,86	0,82	0,81	***	0,98	0,97	0,99	***
ii (0,06-0,14)	0,61	0,64	0,63	***	0,93	0,71	0,95	***
i/ii (2,7-4,5)	-0,23	-0,14	-0,18		-0,61	-0,09	-0,60	**

Nivel de correlación > 95% ( $p < 0,05$ ). Entre paréntesis se incluyen los rangos de concentración. (\*)  $p$ -valor, \*( $p < 0,05$ ), \*\*( $p < 0,01$ ), \*\*\* ( $p < 0,001$ )

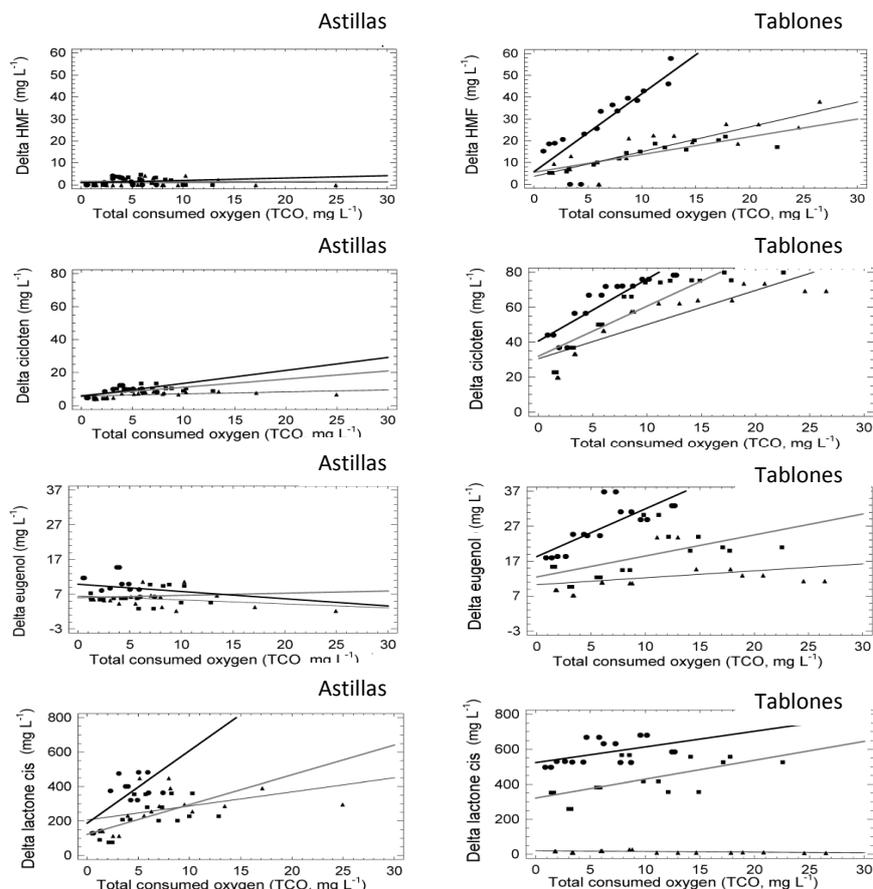


Figura 62- Representación gráfica de las regresiones obtenidas entre la correlación del oxígeno total consumido y 5HMF, cicloteno, eugenol y Cis W-lactona en los vinos envejecidos con productos alternativos (astillas y tablones) de roble francés ( $\Delta$ ), americano ( $\square$ ) y español ( $\circ$ ) con FMOX

El incremento presentado por el 2-furanmetanol ha estado significativamente relacionado con el consumo de oxígeno en los vinos tratados con astillas ( $r=0,72$ ) y tablones ( $r=0,74$ ) de *Quercus pyrenaica* Willd., en contraste con los vinos envejecidos con astillas y tablones de roble americano (*Quercus alba*) ( $r=0,54$  y  $0,34$  respectivamente) o con roble francés (*Quercus petraea*) ( $r=0,62$  y  $0,57$  para astillas y tablones) (tabla 33), siendo estas tendencias significativamente diferentes ( $p<0,001$ ).

Se ha observado que el incremento de maltol en los vinos ha estado significativamente relacionado con el consumo de oxígeno en los vinos tratados con astillas de roble americano (*Quercus alba*) ( $r=0,54$ ) y español (*Quercus pyrenaica* Willd.) ( $r=0,53$ ), y especialmente en los vinos envejecidos con tablones de roble americano ( $r=0,74$ ) y francés ( $r=0,72$ ), siendo significativamente diferentes las regresiones obtenidas en todos los casos (tabla 33).

El consumo de oxígeno también ha estado relacionado con el aumento en los vinos del cicloteno, compuesto que participa en el aroma de caramelo de los vinos, cuya mayor correlación ha sido presentada por los vinos envejecidos con tablones de roble español ( $r=0,89$ ), americano ( $r=0,89$ ) o francés ( $r=0,88$ ). Sin embargo, cuando se han empleado astillas para el envejecimiento de los vinos esta correlación ha sido menor y sólo fue significativa

( $p < 0,001$ ) en los vinos tratados con roble español ( $r=0,56$ ) y americano ( $r=0,60$ ) (tabla 33, figura 62).

La mayor correlación entre el oxígeno total consumido y el guayacol y 4 metil guayacol ha tenido lugar en los vinos envejecidos con astillas de roble americano ( $r=0,63$  y  $0,66$  respectivamente). Al emplear tablonos para el envejecimiento de los vinos, la mayor correlación ha tenido lugar en los vinos con *Quercus pyrenaica* Willd. ( $r=0,72$ ), siendo esta correlación de  $0,53$  al emplear *Quercus alba* (tabla 33). Sin embargo, se ha observado que el oxígeno no ha afectado a otros derivados del guayacol, al no existir diferencias significativas entre el consumo de oxígeno en los vinos y la evolución del 4 etil y vinil guayacol en los vinos envejecidos con astillas y tablonos de roble español, americano y francés (tabla 33).

El eugenol, compuesto responsable del aroma especiado de los vinos (clavo), ha aumentado su concentración en los vinos de forma proporcional y significativa en los vinos envejecidos con tablonos de roble español ( $r=0,79$ ) y roble americano ( $r=0,58$ ), mientras que su evolución en los vinos tratados con astillas no ha estado relacionada significativamente con el consumo de oxígeno (tabla 33, figura 62).

En cuanto a los compuestos derivados de la lignina, se ha observado que los vinos envejecidos con astillas y MOX han sido más ricos en estos compuestos. El incremento observado de trans W-lactona fue más importante en los vinos tratados con astillas que con tablonos (tabla 33), estando además relacionado con el consumo de oxígeno por el vino. Las correlaciones han sido mayores cuando el vino fue envejecido con astillas de *Quercus pyrenaica* Willd. y *Quercus alba* ( $0,65$ ) que con *Quercus petraea* ( $0,52$ ), siendo además las regresiones obtenidas significativamente diferentes ( $p < 0,001$ ), siendo este resultado bastante similar al observado en el compuesto cis W-lactona (figura 62).

La evolución de los antocianos y taninos también ha estado relacionada con el consumo de oxígeno, la pérdida de antocianos (figura 63) y taninos, y el incremento del pigmento polimérico (figura 64) en el vino ha estado relacionada con el TCO en los vinos envejecidos con productos alternativos a las barricas (astillas y tablonos) (tabla 33). La pérdida de antocianos ha sido más rápida en los vinos tratados con roble español (*Quercus pyrenaica* Willd.), mientras que este descenso ha sido menor al envejecer con roble francés (*Quercus petraea*) (figura 63). Se ha observado que este descenso de antocianos en los vinos ha sido más rápido al envejecer con astillas que con tablonos, tendencia bastante similar en los vinos envejecidos con tablonos de roble francés (*Quercus petraea*) y americano (*Quercus alba*) (figura 63), coincidiendo con lo obtenido en trabajos previos del grupo (Del Álamo y col., 2006b).

El contenido de antocianos monoglucósidos en los vinos ha descendido de forma similar en los vinos con astillas y tablonos de roble americano, francés y español (figura 63). En todos los vinos estudiados se ha observado que el descenso de Mv-3-gl, Pt-3-gl y la suma de derivados cumarilados (Scum) han sido más pronunciados en aquellos vinos con menor consumo de oxígeno (figura 63).

Se han encontrado diferencias significativas ( $p < 0,01$ ) en las correlaciones entre el oxígeno total consumido y los antocianos monoglucosilados de los vinos estudiados, excepto en el caso de vitisín A y Ci-3-gl (tabla 33).

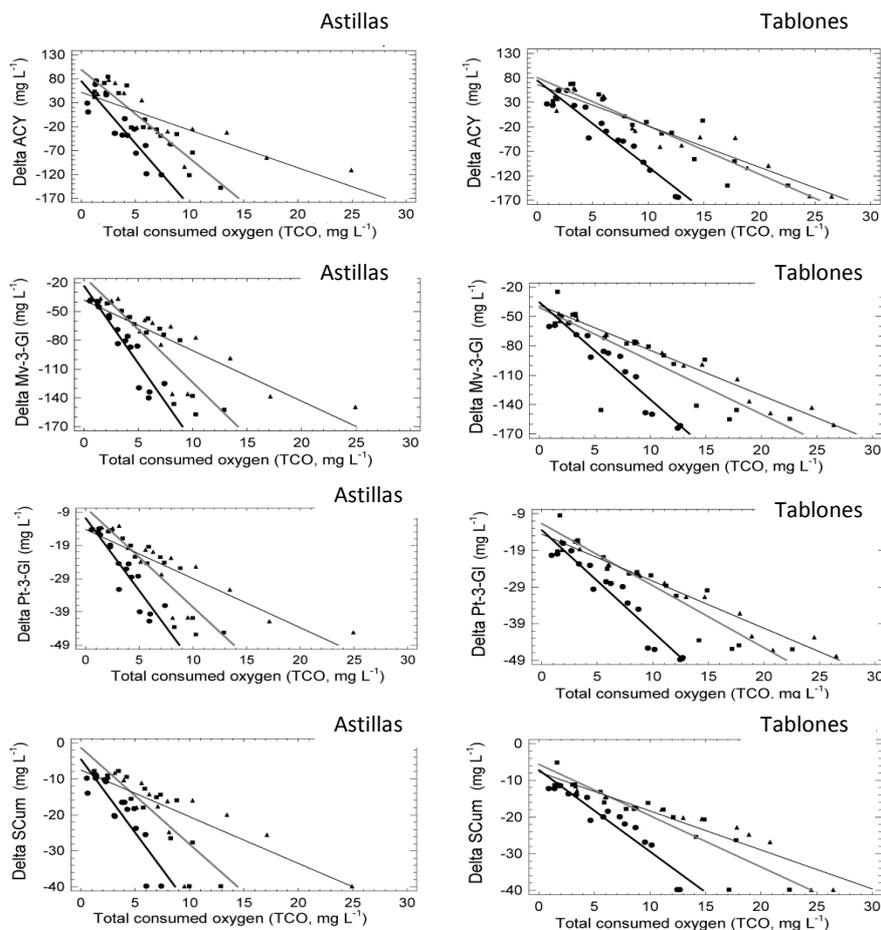


Figura 63- Representación gráfica de las regresiones obtenidas entre la correlación del oxígeno total consumido y la correlación de los antocianos totales, Mv-3-gl, Pt-3-gl y Scum en los vinos envejecidos con productos alternativos (astillas y tablones) de roble francés ( $\Delta$ ), americano ( $\square$ ) y español (o) con FMOX

El descenso de las catequinas presentado en los vinos ha estado de cierta forma relacionado con el consumo de oxígeno, tanto en los vinos con astillas (-0,46 roble español, -0,46 roble americano y -0,33 roble francés), como con tablones (-0,39 roble español, -0,51 roble americano y -0,42 roble francés) (tabla 33), siendo significativa esta correlación en los vinos con tablones de roble americano (*Quercus alba*). Los vinos envejecidos con astillas han tenido una pérdida más rápida de catequinas que los vinos con tablones (figura 64). Este descenso en el contenido de catequinas en los vinos ha sido positivo, y ha estado significativamente relacionado con la pérdida de 4 etil guayacol, 4 vinil fenol y 4 vinil guayacol en los vinos, formando nuevos pigmentos (oaklinks) de color rojo-teja los cuales han influido en el aumento de color de los vinos (Sousa y col., 2005).

El incremento de los parámetros de la edad química (i e ii) y del pigmento polimérico ha estado relacionado con el consumo de oxígeno de los vinos. Se ha observado que los vinos envejecidos con tablones de roble español (*Quercus pyrenaica* Willd.) necesitaron menos oxígeno que al emplear roble francés para obtener un nivel similar de pigmento polimérico. Los vinos tratados con astillas de roble español y americano han mostrado características similares, siendo muy diferentes al emplear tablones para el envejecimiento de los vinos (figura 64).

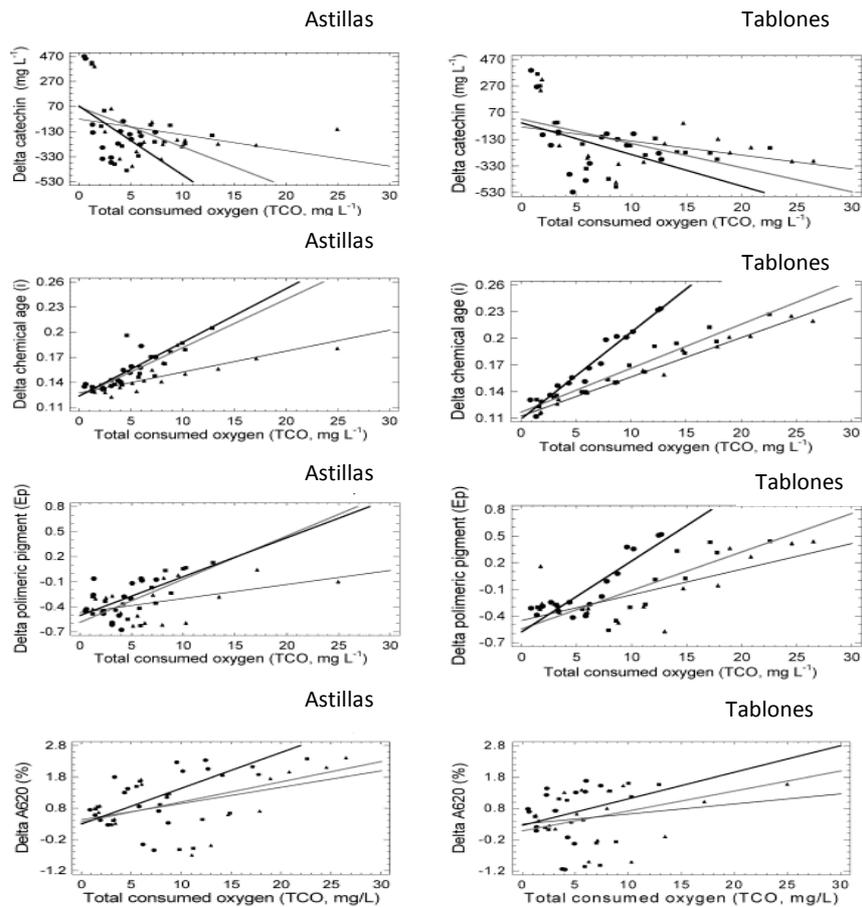


Figura 64- Representación gráfica de las regresiones obtenidas entre la correlación del oxígeno total consumido y catequina, Ep, parámetro  $i$  de edad química y A620(%) en los vinos envejecidos con productos alternativos (astillas y tablones) de roble francés ( $\Delta$ ), americano ( $\square$ ) y español ( $\circ$ ) con FMOX

Respecto al color de los vinos se ha observado que, el consumo de oxígeno en los vinos ha estado significativamente correlacionado con el aumento de la intensidad colorante (IC) en los vinos envejecidos con tablones que con astillas (tabla 33). Como en trabajos anteriores, se ha encontrado un incremento en la componente azul de los vinos (%A620) en los vinos envejecidos con productos alternativos a las barricas y micro-oxigenación (figura 64). Estos resultados obtenidos han mostrado la importancia de la dosis de oxígeno en la formación de nuevos pigmentos (etil pigmentos), cuya absorbancia a 620 nm es mayor que la de los antocianos (Del Álamo y *col.*, 2006b). Este efecto observado ha sido más evidente en los vinos envejecidos con tablones, mostrando mayores correlaciones con el consumo de oxígeno (TCO) al emplear tablones de roble americano (0,47) y francés o español (0,48), siendo las correlaciones al emplear astillas de roble americano, francés y español de 0,27, 0,25 y 0,19 respectivamente (tabla 33).

La tonalidad ha estado relacionada de forma negativa con el consumo de oxígeno de los vinos, por lo que el descenso durante todo el periodo de estudio ha indicado la falta de pardeamiento en los vinos envejecidos con productos alternativos y micro-oxigenación (tabla 33).

Los resultados más destacables han indicado que según la especie de roble empleada para el envejecimiento de los vinos tintos la cantidad de oxígeno necesaria fue distinta. Así, los vinos con roble francés (*Quercus petraea*) han necesitado mayor cantidad de oxígeno que los vinos con roble americano (*Quercus alba*) y español (*Quercus pyrenaica* Willd.). Los vinos tratados con *Quercus pyrenaica* Willd. han sido los que menor cantidad de oxígeno necesitaron, tanto al emplear astillas como tablones, destacando estos vinos por su mayor concentración en compuestos volátiles procedentes de la madera y menor contenido de antocianos y taninos. Además estos vinos han presentado mayor intensidad de color (niveles más altos de pigmento polimérico) y tonalidad azul que los vinos envejecidos con roble americano y francés.

También se ha analizado el efecto que ha tenido el tamaño de los productos alternativos empleados en la cantidad de oxígeno que ha sido consumido por el vino. Se ha observado que a mayor tamaño de las piezas de madera de roble empleadas, mayor ha sido la demanda de oxígeno en el vino, siendo los vinos tratados con astillas y micro-oxigenación los que han necesitado menor cantidad de oxígeno durante el envejecimiento.

Se ha observado que el consumo de oxígeno ha estado relacionado con la evolución de los compuestos volátiles procedentes de la madera, así como de los compuestos fenólicos del vino. El descenso en la concentración de antocianos en los vinos ha sido más rápida al envejecer con madera de *Quercus pyrenaica* Willd., y más lenta al emplear roble francés. Al final del envejecimiento, los vinos tratados con astillas y micro-oxigenación han mostrado menor contenido de catequinas y menor envejecimiento (edad química) que los vinos envejecidos con tablones y micro-oxigenación, debido al menor consumo de oxígeno. También se ha observado un incremento significativo en el contenido de 5HMF en los vinos tratados con tablones y micro-oxigenación respecto a los vinos con astillas y micro-oxigenación, siendo éstos los que presentaron mayor riqueza de compuestos procedentes de la lignina.

Al final del periodo de estudio, los vinos con madera de *Quercus pyrenaica* Willd. han presentado mayor concentración de aldehídos furánicos (5HMF, 5MF y furanmetanol), lo que ha coincidido con su menor consumo de oxígeno respecto a los vinos con madera americana y francesa. Por todo ello es necesario indicar que la gestión del oxígeno debe adecuarse a cada tipo de vino, tipo de madera y tamaño del producto alternativo, y por ello es recomendable realizar una dosificación de oxígeno adaptada al nivel de oxígeno disponible en los vinos si se quiere reproducir las condiciones del envejecimiento en barrica.

#### **4.1.3. Compuestos fenólicos no volátiles de bajo peso molecular**

Este apartado recoge los resultados del seguimiento de los compuestos fenólicos de bajo peso molecular en los vinos envejecidos en contacto con diferentes maderas de roble y su posterior permanencia en botella.

Las tablas 34 y 35 muestran el contenido promedio y el valor *p* en función del factor estudiado: tamaño (astillas y tablones) y origen (*Quercus alba*, *Quercus petraea* y *Quercus pyrenaica* Willd.) de los compuestos fenólicos de bajo peso molecular analizados según el apartado 3.6.6 en los vinos estudiados.

Tabla 34- Contenido promedio de compuestos de bajo peso molecular (mg/L) presentes en el vino en función del tamaño de la madera y origen del roble durante el envejecimiento en madera y resultados de la ANOVA

	Tamaño			Origen			
	Astillas	Tablones	<i>p</i> level	<i>Q. pyrenaica</i>	<i>Q. alba</i>	<i>Q. petraea</i>	<i>p</i> level
Ác. gálico	84,11 a	89,12 b	<b>0,027</b>	88,80 b	83,30 a	87,74 ab	0,107
Ác. siríngico	16,60 a	15,69 a	0,127	15,42 a	16,87 b	16,15 ab	0,136
Ác. <i>p</i> -cumárico	34,13 b	32,42 a	<b>0,025</b>	33,03 a	33,57 a	33,22 a	0,839
Ác. protocatéquico	10,57 a	15,24 b	<b>0,011</b>	12,24 a	13,16 a	13,32 a	0,871
Ác. vainillínico	11,51 a	11,38 a	0,896	11,26 a	11,54 a	11,54 a	0,964
Ác. Trans-caftárico	25,87 a	25,47 a	0,477	25,25 a	25,56 a	26,21 a	0,364
Ác. Trans-cutárico	10,48 a	10,34 a	0,742	10,34 a	10,31 a	10,57 a	0,845
Ác. gentísico	15,83 a	15,47 a	0,938	15,45 a	14,94 a	16,56 a	0,956
Ác. clorogénico	1,35 a	1,29 a	0,422	1,29 a	1,32 a	1,36 a	0,787
Ác. caféico	66,71 a	64,74 a	0,108	64,74 a	65,76 a	66,67 a	0,432
Ác. ferúlico	3,34 a	3,36 a	0,943	3,34 a	3,26 a	3,45 a	0,873
Ác. sinápico	1,11 a	0,95 a	0,203	1,03 a	1,10 a	0,95 a	0,636
Ald. protocatéquico	8,41 a	8,51 a	0,859	8,41 a	8,23 a	8,73 a	0,785
5HMF	1,44 a	18,61 b	<b>0,000</b>	14,40 b	6,78 a	8,90a	<b>0,000</b>
Furfural	3,02 a	3,29 a	0,355	2,89 a	3,48 a	3,09 a	0,226
Vainillina	2,63 a	2,27 a	0,206	2,28 a	2,36 a	2,71 a	0,409
Escopoletina	23,17 a	22,53 a	0,839	22,42 a	23,35 a	22,77 a	0,970
<i>p</i> -hidroxibenzald.	0,60 b	0,51 a	<b>0,043</b>	0,54 a	0,59 a	0,53 a	0,452
Catequina	53,65 a	51,17 a	0,268	51,31 a	53,60 a	52,32 a	0,703
Epicatequina	11,40 a	11,40 a	0,995	10,74 a	10,94 a	12,52 a	0,205

(Para cada factor, letras distintas en filas indican diferencias estadísticamente significativas. En negrita se muestra el *p* level con significación > 95% ( $p < 0,05$ ))

Tabla 35- Contenido promedio de compuestos de bajo peso molecular (mg/L) presentes en el vino en función del tamaño de la madera y origen del roble durante el envejecimiento en botella y resultados de la ANOVA

	Tamaño			Origen			
	Astillas	Tablones	<i>p</i> level	<i>Q. pyrenaica</i>	<i>Q. alba</i>	<i>Q. petraea</i>	<i>p</i> level
Ác. gálico	82,23 a	89,36 a	0,223	88,17 a	82,12 a	86,37 a	0,666
Ác. siríngico	13,54 a	11,19 a	0,110	11,43 a	13,59 a	12,31 a	0,554
Ác. <i>p</i> -cumárico	18,70 a	16,86 a	0,604	17,86 a	17,23 a	18,29 a	0,963
Ác. protocatéquico	13,50 a	20,56 b	<b>0,028</b>	15,57 a	17,94 a	17,31 a	0,763
Ác. vainillínico	8,76 a	7,93 a	0,446	8,21 a	7,57 a	9,23 a	0,477
Ác. Trans-caftárico	13,27 a	13,17 a	0,961	13,10 a	13,31 a	13,27 a	0,998
Ác. Trans-cutárico	6,79 a	6,73 a	0,956	6,60 a	6,88 a	6,80 a	0,960
Ác. gentísico	26,80 a	26,63 a	0,995	26,32 a	27,31 a	26,59 a	0,987
Ác. clorogénico	0,42 a	0,36 a	0,654	0,39 a	0,39 a	0,38 a	0,995
Ác. caféico	25,93 a	23,34 a	0,703	25,59 a	23,90 a	24,46 a	0,977
Ác. ferúlico	2,77 a	3,30 a	0,296	2,94 a	3,32 a	2,84 a	0,681
Ác. sinápico	0,96 a	0,85 a	0,275	1,00 a	0,99 a	0,75 a	0,121
Ald. protocatéquico	3,84 a	4,21 a	0,625	3,76 a	4,29 a	4,02 a	0,855
5HMF	0,87 a	8,85 b	<b>0,000</b>	6,09 a	3,53a	4,56 a	0,454
Furfural	2,62 a	2,77 a	0,617	2,71 a	2,70 a	2,67 a	0,993
Vainillina	2,10 a	2,46 a	0,200	2,14 a	2,12 a	2,57 a	0,341
Escopoletina	12,81a	12,14 a	0,854	11,86 a	12,42 a	13,15 a	0,961
<i>p</i> -hidroxibenzald.	0,39 a	0,52 a	0,089	0,38 a	0,39 a	0,59 b	<b>0,036</b>
Catequina	28,86 a	25,03 a	0,091	27,76 a	25,49 a	27,62 a	0,628
Epicatequina	7,75 a	6,77 a	0,508	7,21 a	6,57 a	7,98 a	0,746

(Para cada factor, letras distintas en filas indican diferencias estadísticamente significativas. En negrita se muestra el *p* level con significación > 95% ( $p < 0,05$ ))

El tamaño de la madera para envejecer ha influido en la concentración de estos compuestos en el vino de forma más importante que el origen de la madera, sobre todo durante el periodo de contacto del vino con la madera.

El tamaño de los productos alternativos a las barricas ha sido un factor que ha definido el contenido medio del 5HMF, *p*-hidroxibenzaldehído y los ácidos gálico, *p*-cumárico y protocatéquico durante el envejecimiento del vino con la madera (tabla 34), siendo en todos los casos significativamente más elevado en el vino de tablonés. Durante el periodo de permanencia del vino en la botella, únicamente el contenido del 5HMF y del ácido protocatéquico ha estado influido estadísticamente por el tamaño de la madera empleada (tabla 35), siendo superior en el vino de tablonés y micro-oxigenación, además durante este periodo el *p*-hidroxibenzaldehído ha sido significativamente más alto en los vinos envejecidos con *Quercus petraea*.

Coincidiendo con lo expuesto con Hernández y *col.* durante 2007, el ácido gálico, catequina, seguidos de los compuestos hidroxicinámicos en formas libres han sido los compuestos más abundantes en los vinos embotellados, independientemente del origen de la madera empleada (tabla 35).

El ácido gálico es uno de los principales ácidos benzóicos encontrados en la uva, aunque su origen también se debe a la hidrólisis química, oxidación y degradación enzimática de los elagitaninos y lignina de la madera de roble (Cadahía y *col.*, 2001a, 2009a; Zamora, 2003). Durante el periodo de contacto del vino con la madera el contenido de ácido gálico ha aumentado de forma diferente en función del tamaño del PAB. Los vinos envejecidos con tablonés de roble y micro-oxigenación han presentado mayor concentración de ácido gálico durante el envejecimiento con la madera y el periodo de botella que los vinos tratados con astillas + MOX (tablas 34 y 35, figura 65).

Concretamente los vinos envejecidos con madera de roble Europeo (*Quercus petraea* y *Quercus pyrenaica* Willd.) han presentado mayor contenido de ácido gálico que el vino envejecido con roble americano (*Quercus alba*), siendo más visible este resultado al tratar los vinos con tablonés de roble y MOX (tablas 34 y 35, figura 65). Coincidiendo este resultado con lo publicado por Cadahía y su equipo de investigación durante los años 2004, 2008 y 2009, estos autores describieron que los vinos envejecidos con barricas de roble francés y español presentaban diferencias poco significativas en el contenido de ácido gálico, siendo mayor el contenido de ácido gálico en el vino envejecido con barricas de roble español (Cadahía y *col.*, 2004, 2008, 2009b). Otro trabajo de estos autores indicaba que el vino envejecido con madera de roble americano era el que presentaba menor contenido de ácido gálico (Fernández de Simón y *col.*, 1996b). También han coincidido estos resultados con lo publicado por De Beer durante el año 2008, quienes observaron un mayor contenido de ácido gálico en los vinos envejecidos con madera que en el vino control (De Beer y *col.*, 2008).

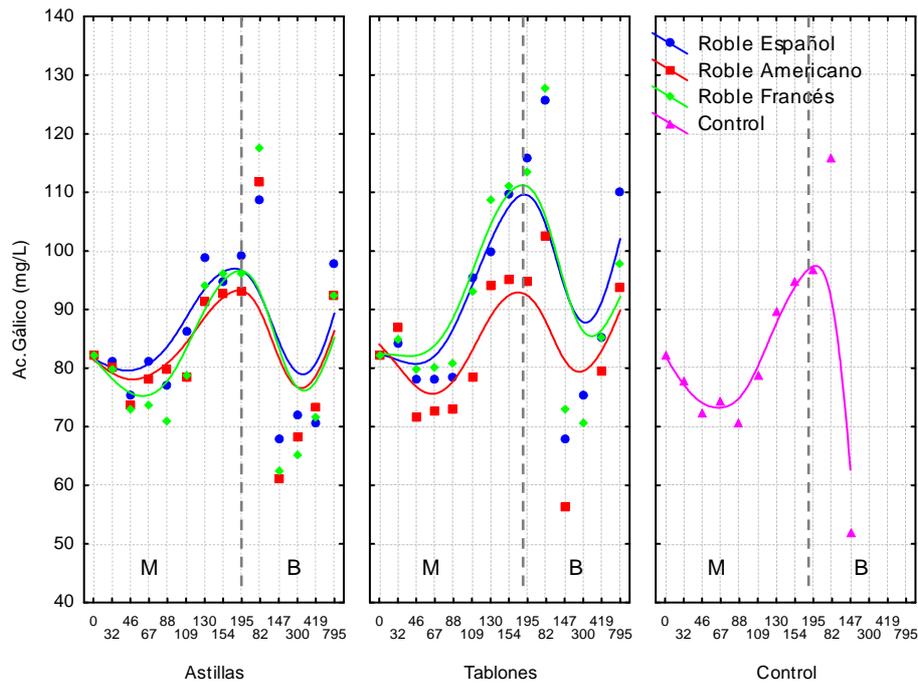


Figura 65- Evolución del ácido gálico (mg/L) durante el envejecimiento en madera (M) y botella (B) de los vinos con astillas y tablones de roble

Los ácidos hidroxibenzóicos siríngico y vainillínico son extraídos de las semillas de las uvas durante la maceración y fermentación, pero además proceden de la degradación de la lignina y de los elagitaninos de la madera de roble (Cadahía y col., 2001a, 2009a; Monagas y col., 2005b). El contenido de los ácidos siríngico y vainillínico ha descendido a lo largo del envejecimiento tanto durante el periodo de contacto del vino con la madera como durante su permanencia en botella. Las modificaciones en su concentración media no se han debido ni al tamaño ni al origen de la madera, aunque el envejecimiento del vino con astillas de roble y micro-oxigenación ha dado lugar a un contenido ligeramente superior de estos dos ácidos hidroxibenzóicos (tablas 34 y 35, figura 66).

Respecto al empleo de madera de diferente origen, se ha encontrado que los vinos envejecidos con productos alternativos a las barricas de roble americano (*Quercus alba*) han presentado un contenido de ácido siríngico ligeramente superior que los vinos envejecidos con madera de roble de procedencia europea (*Quercus petraea* y *Quercus pyrenaica* Willd.). Siendo gráficamente más visible este resultado al emplear astillas de roble y micro-oxigenación para el envejecimiento de los vinos (figura 66). Coincidiendo con lo publicado durante 2008 por Cadahía y su equipo, al encontrar que los vinos de Ribera del Duero envejecidos durante 6 meses con barricas de roble francés y rebollo (*Quercus pyrenaica* Willd.) mostraban menor contenido de ácido siríngico (Cadahía y col., 2008). De igual manera, en el año 2009 el grupo de Martínez observó que los vinos con astillas de roble americano destacaban por su mayor contenido de ácido siríngico frente a los vinos con astillas de roble francés (Martínez y col., 2009).

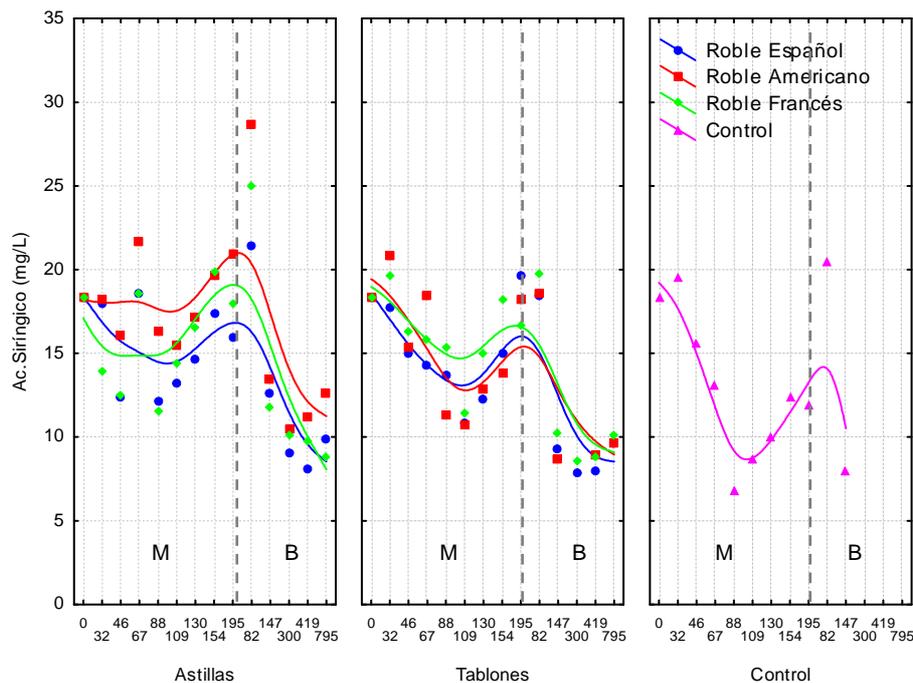


Figura 66- Evolución del ácido siríngico (mg/L) de los vinos con astillas y tablones de roble francés, americano y español durante el periodo de contacto vino-madera (M) y periodo de botella (B)

Durante el periodo de contacto vino-madera, el contenido medio de ácido vainillínico en el vino ha sido muy similar al envejecer con los tres tipos de roble (tabla 34), siendo ligeramente superior al contacto con roble americano y francés, coincidiendo con los resultados descritos en el año 1996 por Fernández de Simón y su grupo, que observaron que el vino envejecido con madera de roble americano presentaba mayor contenido de este ácido que el tratado con madera de roble español (*Quercus pyrenaica*, *Quercus robur*, *Quercus petraea* y *Quercus faginea*) (Fernández de Simón y col., 1996b).

Durante el periodo de botella, los vinos envejecidos con productos alternativos de *Quercus petraea* y micro-oxigenación han presentado una concentración media ligeramente superior de ácido vainillínico (tabla 35).

El ácido protocatéquico es extraído de las semillas de las uvas durante la maceración y fermentación de los vinos (Monagas y col., 2005b). El contenido de ácido protocatéquico ha aumentado a lo largo del envejecimiento con la madera en todos los vinos estudiados, debido a que este compuesto también es formado a partir de la madera de roble por las reacciones de degradación de la lignina y los elagitaninos que tienen lugar (Cadahía y col., 2008). Durante el periodo de permanencia en botella su evolución ha sido diferente según el producto alternativo empleado para su envejecimiento, los vinos envejecidos con astillas y MOX ha mostrado un aumento en el contenido de ácido protocatéquico, pero los vinos tratados con tablones y micro-oxigenación han sufrido un ligero descenso en su concentración (tablas 34 y 35, figura 67).

El tamaño del producto alternativo a las barricas ha afectado de forma significativa al contenido de este ácido en los vinos, ya que los vinos envejecidos con tablones de roble y

micro-oxigenación han presentado mayor contenido de ácido protocatéutico (tablas 34 y 35, figura 67).

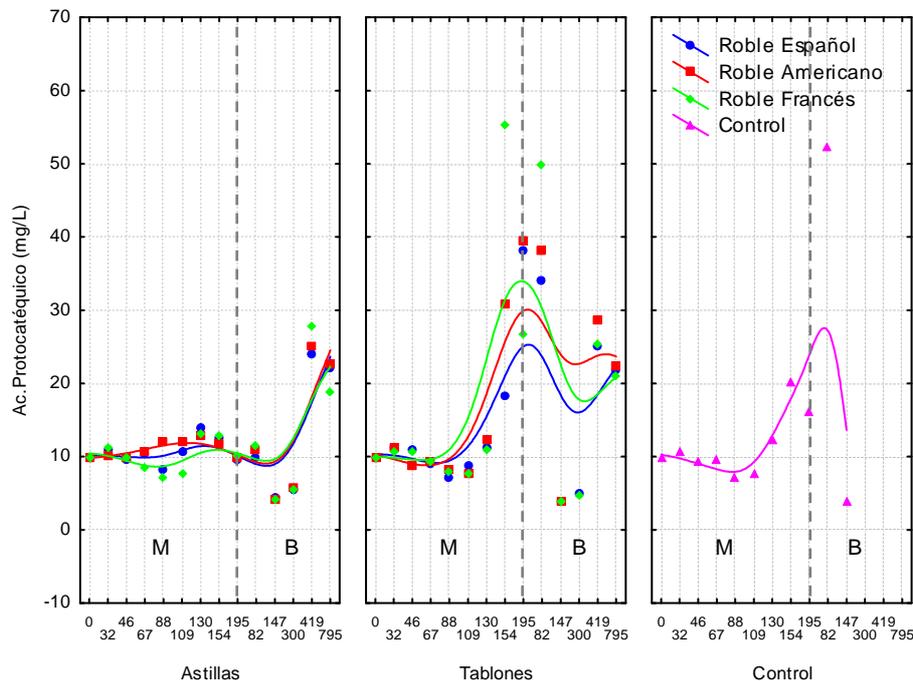


Figura 67- Evolución del ácido protocatéutico (mg/L) durante el envejecimiento en madera (M) y botella (B) en vinos con astillas y tablones de roble

Sin embargo, el origen de la madera de roble no ha afectado significativamente al contenido de este ácido hidroxibenzóico. Durante el periodo de permanencia del vino con la madera, los vinos envejecidos con roble francés (*Quercus petraea*) y micro-oxigenación han presentado un contenido de ácido protocatéutico ligeramente superior, coincidiendo este resultado con otros autores (Martínez y col., 2009). Los vinos envejecidos con roble español (*Quercus pyrenaica* Willd.) y MOX han sido los que menor concentración mostraron de ácido protocatéutico, resultado coincidente a lo publicado en 2008 por Cadahía y su equipo (Cadahía y col., 2008).

Durante el periodo de botella, los vinos envejecidos con madera de roble americano (*Quercus alba*) + MOX han mostrado un contenido de ácido protocatéutico ligeramente superior que el encontrado en los vinos con madera de roble francés (*Quercus petraea*) y español (*Quercus pyrenaica* Willd.) y micro-oxigenación. Siendo más representativos gráficamente estos resultados en los vinos tratados con tablones de roble (tablas 34 y 35, figura 67).

La figura 68 muestra la evolución del *p*-hidroxibenzaldehído, en ella se observa pequeñas variaciones de este compuesto en el vino durante su envejecimiento en madera y el posterior periodo de botella.

Durante el periodo de contacto vino-madera se ha observado que los vinos tratados con astillas de roble y micro-oxigenación han tenido mayor contenido de *p*-hidroxibenzaldehído que los envejecidos con tablones y MOX (tabla 34, figura 68). Sin embargo, durante el periodo de botella han sido los vinos tratados con tablones y micro-oxigenación los que han mostrado

una concentración media ligeramente superior que al emplear astillas y micro-oxigenación en el envejecimiento de los vinos (tabla 35, figura 68).

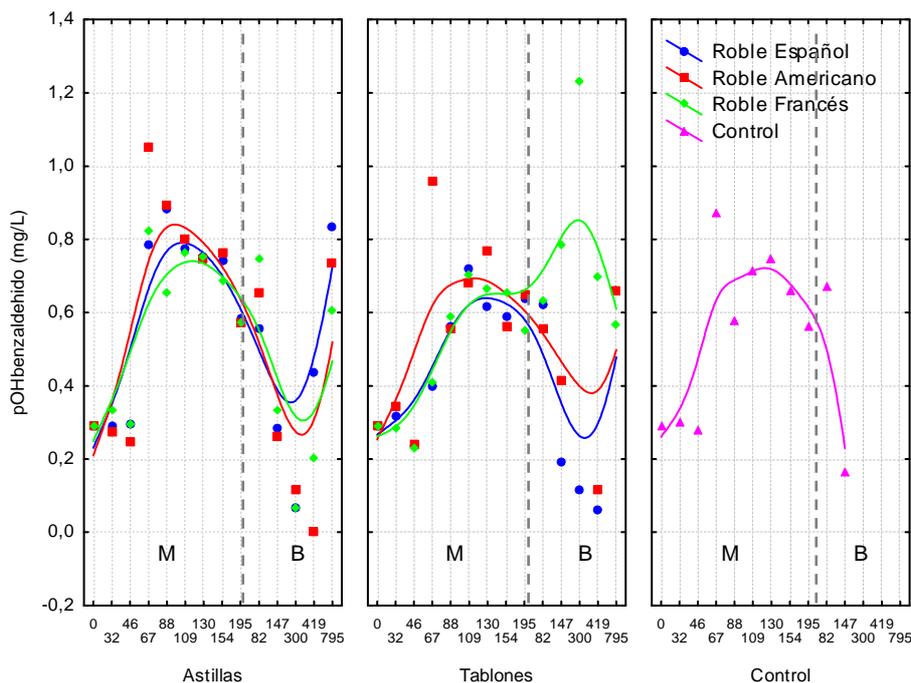


Figura 68- Evolución del pOHbenzaldehído (mg/L) en vinos tratados con astillas y tablones de roble tras su envejecimiento en madera (M) y periodo de botella (B)

Durante el periodo de permanencia del vino con la madera, todos los vinos han presentado concentraciones de *p*-hidroxibenzaldehído similares independientemente de la procedencia del roble, destacando las concentraciones ligeramente superiores encontradas en los vinos al emplear roble americano (*Quercus alba*) (tabla 34, figura 68). Estas diferencias poco significativas también fueron encontradas por el grupo de investigación de Cadahía en el año 2009 para la concentración de *p*-hidroxibenzaldehído en los vinos envejecidos con barricas de roble francés y español (Cadahía y col., 2009b).

Durante el periodo de permanencia del vino en botella, el tipo de madera ha sido un factor que ha influido estadísticamente en el contenido de *p*-hidroxibenzaldehído de los vinos. Los vinos tratados con productos alternativos a las barricas de roble francés (*Quercus petraea*) y micro-oxigenación han mostrado unas concentraciones de *p*-hidroxibenzaldehído superiores a los vinos envejecidos con roble americano (*Quercus alba*) o rebollo (*Quercus pyrenaica* Willd.) y micro-oxigenación, siendo más evidente este resultado en los vinos tratados con tablones (tabla 35, figura 68). Resultado que coincide con lo descrito por otros autores (Hernández y col., 2007).

Los ácidos hidroxicinámicos, el ácido caféico y el ácido *p*-cumárico descendieron su concentración en el vino durante el envejecimiento en madera, acentuándose durante el periodo de botella (figuras 69 y 71). Este descenso se relaciona con las reacciones de copigmentación y de condensación oxidativa que tienen lugar durante el envejecimiento de los vinos, así como por las reacciones de esterificación en las que están implicadas sus respectivos ésteres (ácidos trans-caftárico y trans-cutárico), que aumentan su concentración en el vino durante el periodo de contacto con la madera (figuras 70 y 72) (Cadahía y col., 2008).

La concentración media de estos dos ácidos hidroxicinámicos (caféico y *p*-cumárico) y sus respectivos ésteres tartáricos ha sido superior en los vinos envejecidos con astillas de roble y micro-oxigenación, tanto durante el periodo de contacto del vino con la madera como durante el periodo de botella. Siendo significativas las diferencias para el ácido *p*-cumárico durante el periodo de envejecimiento con la madera (tablas 34 y 35, figuras 69 a 72).

El origen del roble empleado no ha afectado estadísticamente en el contenido medio de estos ácidos y sus ésteres en los vinos estudiados a lo largo de todo el envejecimiento (periodo de contacto vino-madera y periodo de botella) (tablas 34 y 35), coincidiendo con lo publicado en 2008 por el grupo de Cadahía (Cadahía y *col.*, 2008).

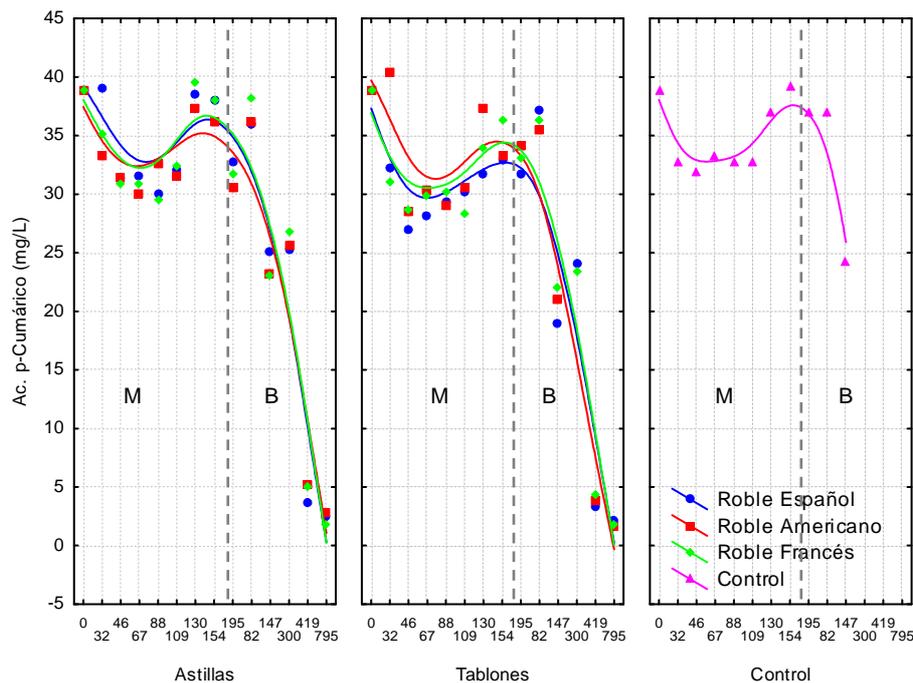


Figura 69- Evolución del ácido *p*-cumárico (mg/L) en el vino tratado con astillas y tablones de diferentes orígenes durante el envejecimiento en madera (M) y botella (B)

Durante el periodo de envejecimiento con la madera, el contenido de ácido *p*-cumárico en los vinos ha sido ligeramente superior al emplear roble americano (*Quercus alba*) frente al envejecimiento con roble europeo (*Quercus petraea* y *Quercus pyrenaica* Willd.), resultado gráficamente más evidente en el vino envejecido con tablones y micro-oxigenación (tabla 34, figura 69).

Los vinos envejecidos con madera de roble de origen europeo (francés y español) han mostrado durante el periodo de botella una concentración de ácido *p*-cumárico muy similar, siendo superior que al envejecer los vinos con roble americano (tabla 35, figura 69).

El empleo de madera de roble francés (*Quercus petraea*) y micro-oxigenación en el envejecimiento de los vinos ha proporcionado una concentración de ácido caféico y los ésteres tartáricos (trans-caftárico y trans-cutárico) ligeramente superior que al emplear roble americano y/o español y MOX (tabla 34, figuras 70 a 72). Siendo este resultado más evidente al emplear tablones de roble y micro-oxigenación para el envejecimiento de vinos, aunque estas diferencias no han sido significativas, al igual que lo obtenido en 2004 por Cadahía y su

equipo de investigación (Cadahía y col., 2004), cuyos resultados mostraban que los vinos envejecidos durante 12 meses con barricas de roble americano presentaban menores concentraciones de ácido trans-cutárico.

Sin embargo, durante el periodo de botella se ha encontrado que el contenido de los ésteres tartáricos ha sido ligeramente superior en los vinos tratados con madera de roble americano (*Quercus alba*), y el mayor contenido de ácido caféico se ha encontrado en los vinos con madera de roble español (*Quercus pyrenaica* Willd.) (tabla 35).

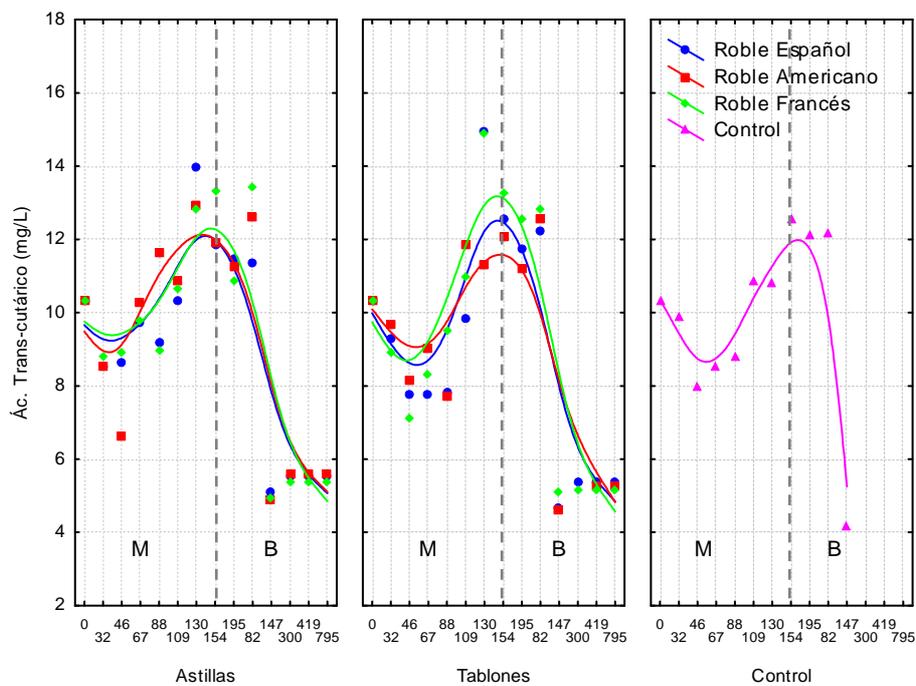


Figura 70- Evolución del ácido trans-cutárico en vinos con astillas y tablonas durante su envejecimiento en madera (M) y periodo de botella (B)

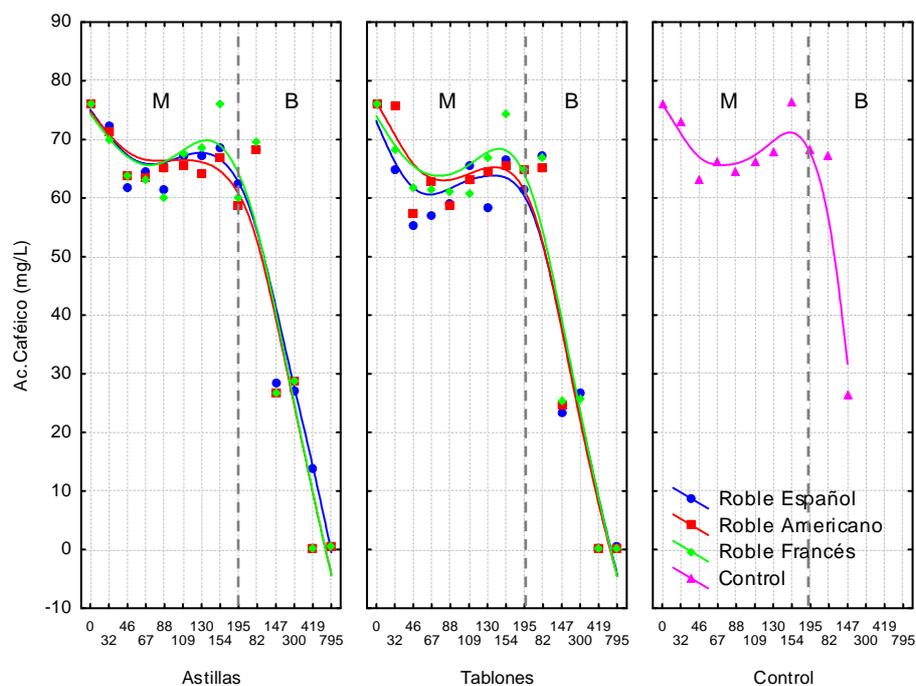


Figura 71- Evolución del ácido caféico (mg/L) en vinos tintos tratados con astillas y tablonas de roble durante el periodo de contacto del vino-madera (M) y botella (B)

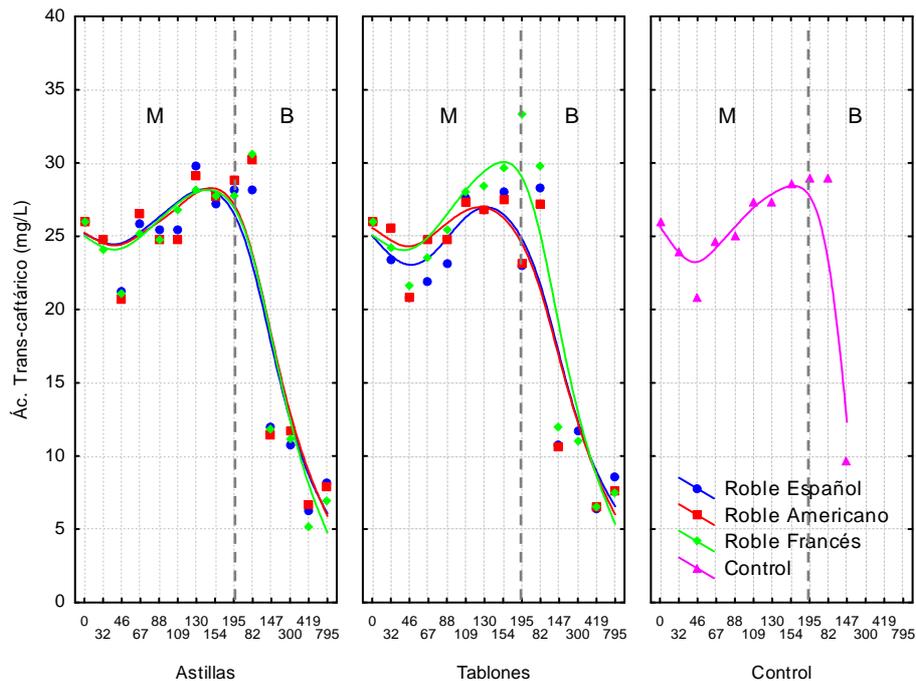


Figura 72- Evolución del contenido del ácido trans-caftárico (mg/L) en vinos tintos tratados con productos alternativos (astillas y tablones de roble) durante su envejecimiento en madera (M) y botella (B)

El ácido clorogénico procede de la combinación del ácido caféico con el ácido quínico, siendo éste ácido el compuesto más conocido de estas combinaciones (Rebolo, 2007).

La concentración de ácido clorogénico en el vino ha disminuido durante todo el envejecimiento, tanto a lo largo del periodo de contacto vino-madera como en el periodo de botella. Su concentración media no se ha visto afectada significativamente por los factores estudiados (tamaño y origen de la madera), presentando todos los vinos estudiados un contenido de ácido clorogénico muy similar.

Los vinos envejecidos con astillas de roble y micro-oxigenación han presentado durante todo el estudio una concentración ligeramente superior que el vino tratado con tablones y MOX (tablas 34 y 35, figura 73).

Los vinos tratados con madera de *Quercus pyrenaica* Willd. y micro-oxigenación han sido los que menor cantidad de ácido clorogénico han contenido durante el periodo en que el vino ha permanecido con la madera (tabla 34, figura 73). Durante el periodo de botella se han encontrado concentraciones de ácido clorogénico ligeramente superiores en los vinos con madera de roble americano y español y MOX (tabla 35).

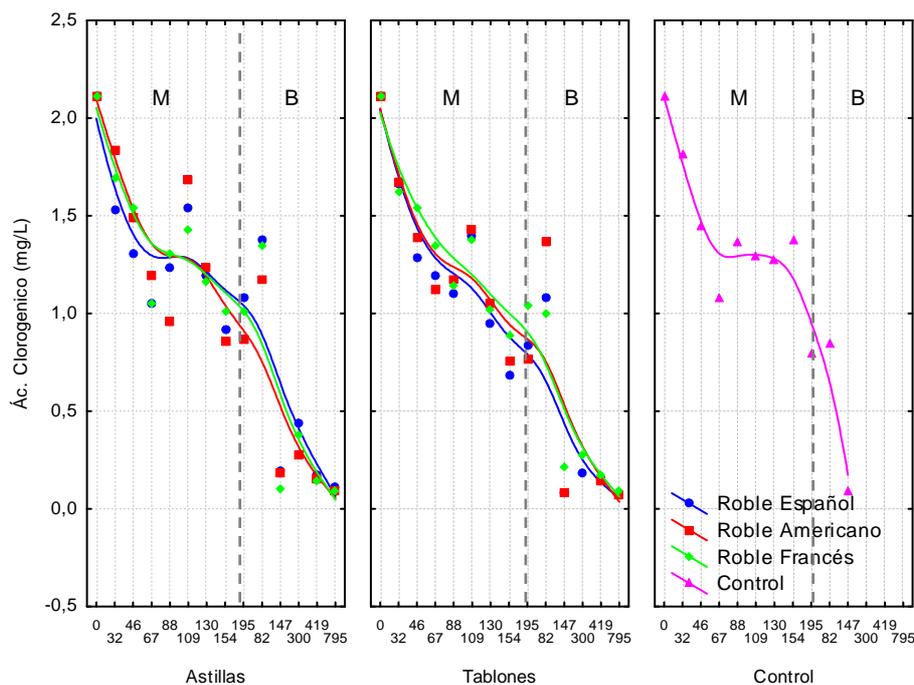


Figura 73- Evolución del contenido de ácido clorogénico (mg/L) durante envejecimiento en madera (M) y periodo de botella (B) en vinos tintos con productos alternativos de roble (astillas y tablones)

Respecto a los derivados furánicos (furfural y 5HMF) se han encontrado tendencias muy similares, con un aumento de su concentración en los vinos durante el envejecimiento con la madera, al ser compuestos que se extraen de la madera (figuras 74 y 75). Son compuestos formados principalmente durante el tostado de la madera, procedentes de la degradación térmica de la celulosa y hemicelulosa de la madera de roble. El 5HMF y 5MF son formados a partir de la glucosa de la celulosa (hexosas), mientras que las pentosas, principal constituyente de la hemicelulosa, produce furfural por reacciones catalizadas de ácido acético (Arapitsas y col., 2004; Cadahía y col., 2003; Chatonnet, 2007; Cutzach y col., 1999; Fernández de Simón y col., 2007, Garde y col., 2002, 2004; Rodríguez y col., 2009, Silva, 2006).

La concentración de 5HMF de los vinos analizados durante todo el envejecimiento ha sido significativamente más alta en los vinos tratados con tablones de roble y micro-oxigenación, alcanzando durante el periodo de contacto vino-madera niveles de 18,61 mg/L frente a los 1,44 mg/L de 5HMF en los vinos envejecidos con astillas y micro-oxigenación, y concentraciones de 8,85 mg/L y 0,87 mg/L de 5HMF en vinos con tablones y astillas + MOX respectivamente durante el periodo de botella (tablas 34 y 35, figura 74). Es importante destacar el gran incremento en el contenido de 5HMF en los vinos tratados con tablones y micro-oxigenación, cantidad que ha descendido en todos los vinos analizados durante el periodo de permanencia en botella (figura 74).

Se han encontrado diferencias significativas en la concentración de 5HMF en los vinos estudiados en función del tipo de roble empleado durante el periodo de envejecimiento con la madera. Han destacado las elevadas concentraciones de este derivado furánico en los vinos envejecidos con madera de roble español (*Quercus pyrenaica* Willd.) (tabla 34), siendo más representativo gráficamente en los vinos tratados con tablones y MOX (figura 74).

Los grupos de investigación de Fernández de Simón y Cadahía encontraron resultados semejantes en vinos envejecidos durante 12 meses en barricas de *Quercus pyrenaica* Willd., los cuales presentaban concentraciones significativamente superiores de 5HMF (Fernández de Simón y col., 2008), sin embargo en otros trabajos suyos, las mayores concentraciones de 5HMF se encontraban en los vinos envejecidos con barricas de roble americano frente a los vinos con roble francés y español (*Quercus robur*, *Quercus faginea*, *Quercus pyrenaica*) (Cadahía y col., 2004).

La concentración media de 5HMF en los vinos embotellados también ha sido superior en los vinos tratados con madera de *Quercus pyrenaica* Willd., siendo los vinos con madera de roble americano (*Quercus alba*) los que han presentado el menor contenido (tabla 35). Estos resultados han coincidido con lo descrito en los trabajos de Martínez en 2006 y 2011, donde las barricas de roble español (*Quercus pyrenaica*) aportaban mayor contenido de 5HMF y las barricas de roble americano el menor contenido de 5HMF a los vinos (Martínez y col., 2006, 2011), o con el trabajo de Cadahía, en el que se destacaba que los vinos tratados con astillas de *Quercus pyrenaica* tenían la mayor concentración de 5HMF (Cadahía y col., 2009a).

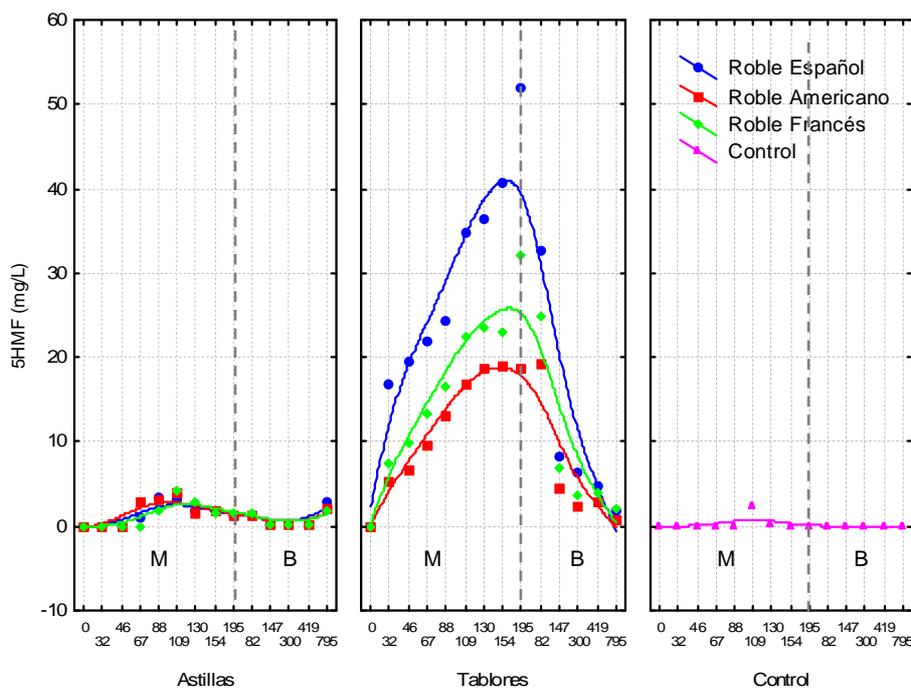


Figura 74- Evolución del contenido de 5HMF (mg/L) en vinos tintos envejecidos con astillas y tablones de roble durante el periodo de contacto vino-madera (M) y botella (B)

Según el tipo de roble empleado, durante el periodo de contacto del vino con la madera se han alcanzado niveles medios de 5HMF de 14,40 mg/L al emplear roble español, 8,90 mg/L en los vinos envejecidos con roble francés y 6,78 mg/L de 5HMF en los vinos tratados con madera de roble americano. Durante el periodo de botella la concentración en los vinos ha sido de 6,09, 4,56 y 3,53 mg/L de 5HMF al emplear madera de roble español (*Quercus pyrenaica* Willd.), francés (*Quercus petraea*) y americano (*Quercus alba*) respectivamente (tablas 34 y 35).

La concentración media de furfural en todos los vinos estudiados ha sido muy similar. Durante el periodo de contacto del vino con la madera el contenido de furfural en los vinos ha

aumentado progresivamente, mientras que en el periodo de botella la concentración de furfural descendió (figura 75).

En función del tamaño del PAB, tanto en el periodo de contacto vino-madera como en el periodo de botella, los vinos envejecidos con tablones y micro-oxigenación han mostrado un contenido medio de furfural ligeramente superior al de los vinos con astillas y MOX, alcanzando valores durante el periodo de contacto vino-madera de 3,29 y 3,02 mg/L respectivamente, y 2,77 y 2,62 mg/L de furfural en los vinos embotellados (tablas 34 y 35, figura 75).

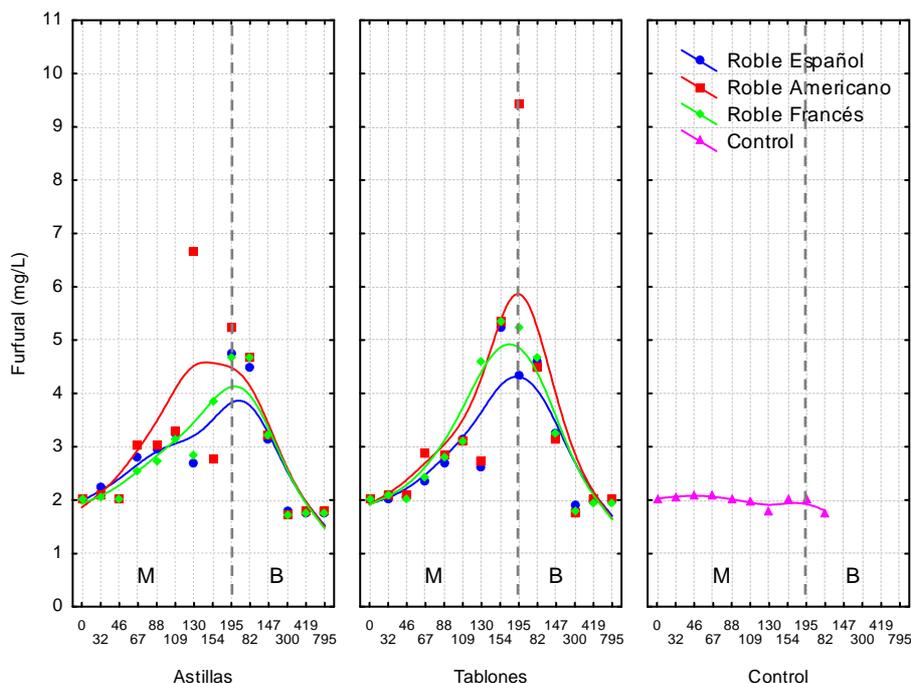


Figura 75- Evolución del furfural (mg/L) durante el envejecimiento en madera (M) y periodo de botella (B) en vinos Tintos tratados con astillas y tablones de roble

Los vinos envejecidos con madera de roble americano (*Quercus alba*) han mostrado un contenido medio de furfural ligeramente superior a los vinos envejecidos con robles europeos (*Quercus pyrenaica* Willd. y *Quercus petraea*), siendo la madera de roble español (*Quercus pyrenaica* Willd.) la que ha aportado menos furfural a los vinos (tabla 34, figura 75). Resultado coincidente con lo expuesto por otros autores (Fernández de Simón y col., 2003, 2006a, 2008; Martínez y col., 2009), pero difiere con lo descrito por el grupo de investigación de Garde en 2002 y 2010, y de Orriols en 2011, quienes encontraron que la concentración de furfural fue superior en los vinos envejecidos con roble francés (Garde y col., 2002, 2010; Orriols y col., 2011), y por Rodríguez y su equipo de investigación durante el año 2009, que indicaron que los vinos tratados con astillas de roble español fueron los que presentaron mayor contenido de furfural (Rodríguez y col., 2009).

Durante el periodo de botella, todos los vinos estudiados han alcanzado una concentración media de furfural muy similar (tabla 35, figura 75).

La vainillina es un aldehído fenólico procedente de lignina de la madera de roble, el cual proviene de su degradación térmica durante el tostado (Arapitsas y col., 2004; Bautista y col., 2008; Campbell y col., 2005; Esteruelas y col., 2009; Fernández de Simón y col., 2007; Garde y col., 2002, 2004; Spillman y col., 1998).

El contenido de vainillina en los vinos estudiados ha sufrido una evolución con pequeños cambios (figura 76), que no se han debido de forma estadísticamente significativa ni al tamaño de la madera ni al origen del roble utilizado (tablas 34 y 35). Durante los primeros meses de envejecimiento con la madera, el contenido de vainillina en los vinos ha aumentado, siendo más marcado este incremento en los vinos envejecidos con astillas y micro-oxigenación (figura 76), coincidiendo con lo descrito por otros autores (Bautista y col., 2008). La concentración de vainillina en los vinos embotellados ha sido muy similar (tabla 35, figura 76).

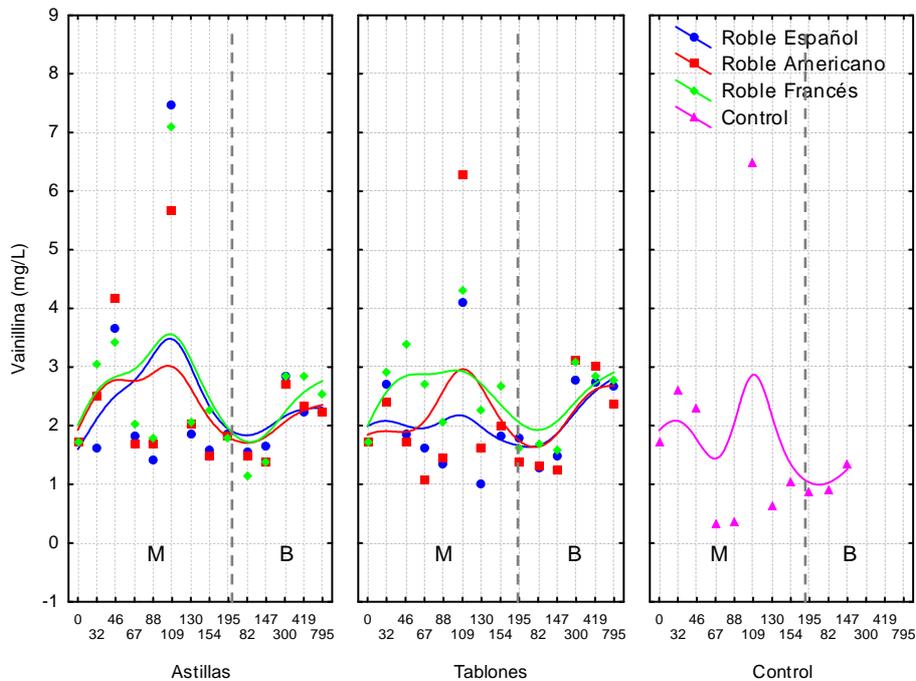


Figura 76- Evolución de vainillina (mg/L) en vinos tintos tratados con productos alternativos a las barricas durante su envejecimiento en madera (M) y periodo de botella (B)

Teniendo en cuenta el origen del roble empleado, a lo largo de todo el estudio (periodo contacto vino-madera y botella) los vinos envejecidos con roble francés (*Quercus petraea*) han presentado un nivel de vainillina mayor que el vino envejecido con roble americano o español, con un contenido medio durante el periodo de contacto vino-madera de 2,71, 2,36 y 2,28 mg/L respectivamente (tabla 34), resultado visiblemente más claro en los vinos tratados con tablones y micro-oxigenación (figura 76).

Numerosos autores han estudiado el efecto del tipo de roble en la concentración de vainillina de los vinos envejecidos, el grupo de investigación de Fernández de Simón observaron que la extracción de vainillina de las barricas al vino estaba relacionada con el origen del roble y el tipo de vino, los vinos envejecidos con barricas de roble americano presentaban mayor contenido de vainillina que al emplear barricas de roble francés o español (Fernández de Simón y col., 1996b, 2008). Estos resultados difieren con lo descrito por otros autores, al comprobar que el envejecimiento con roble francés aportaba mayor contenido de vainillina a los vinos que el roble americano (Garde y col., 2002; Martínez y col., 2006; Orriols y col., 2011), y por lo observado por el grupo de Martínez en el año 2011, en el que las barricas de roble español (*Quercus pyrenaica* y *Quercus petraea*) aportaban a los vinos un contenido superior de vainillina que las barricas de roble americano o francés (Martínez y col., 2011).

En función del origen del PAB, en el año 2009 los grupos de investigación de Cadahía y Martínez observaron que los vinos tratados con astillas de roble francés presentaban mayor contenido de vainillina que al emplear astillas de roble americano (Cadahía y col., 2009a; Martínez y col., 2009), mientras que Rodríguez y su equipo observaron en 2009 que los vinos con astillas de roble americano presentaban una concentración de vainillina significativamente mayor que al emplear astillas francesas o españolas en el envejecimiento de los vinos (Rodríguez y col., 2009).

Las catequinas son componentes importantes de las semillas de las uvas, las cuales son extraídas durante la maceración del vino (Peña y col., 2000).

El contenido de los flavanoles (+)-catequina y (-)-epicatequina en los vinos ha disminuido a lo largo de todo el envejecimiento (periodo de contacto vino-madera y periodo de botella), siendo más marcado para la (+)-catequina (figuras 77 y 78), descenso que no ha dependido ni del tamaño ni del origen de la madera de roble. Este descenso en el contenido de flavanoles en los vinos ha estado relacionado con las reacciones de condensación, polimerización, copigmentación, etc. en las que participan con otros compuestos no procedentes de la madera de roble, así como con los procesos oxidativos que tienen lugar durante la crianza de los vinos (Cadahía y col., 2008).

Los vinos tratados con astillas y micro-oxigenación han presentado unos niveles medios ligeramente superiores de (+)-catequina, tanto durante el envejecimiento del vino con la madera como durante el periodo de permanencia en botella (tablas 34 y 35, figura 77). Alcanzando valores de (+)-catequina de 53,65 mg/L los vinos tratados con astillas y MOX y de 51,17 mg/L en los vinos envejecidos con tablonos de roble y micro-oxigenación (tabla 34). Durante el periodo de botella se han observado unas concentraciones medias de 28,86 y 25,03 mg/L de (+)-catequina en los vinos con astillas y tablonos y micro-oxigenación respectivamente (tabla 35).

No se han encontrado diferencias de concentración de (+)-catequina en los vinos tratados con madera de roble, coincidiendo con lo publicado por otros autores (Cadahía y col., 2009b). Durante el periodo de contacto del vino con la madera han destacado los vinos con madera de *Quercus alba* por su contenido ligeramente superior de (+)-catequina (tabla 34), siendo este resultado más visible en los vinos de tablonos y micro-oxigenación (figura 77). El grupo de Cadahía en 2008 describió que los vinos envejecidos en barricas de roble americano presentaban mayor contenido de (+)-catequina (Cadahía y col., 2008).

Durante el periodo de botella, los vinos envejecidos con roble europeo (*Quercus petraea* y *Quercus pyrenaica* Willd.) han mostrado mayor contenido de (+)-catequina que los vinos con roble americano (*Quercus alba*) (tabla 35), resultado más evidente al envejecer los vinos con astillas y micro-oxigenación (figura 77). Aspecto diferente a lo publicado en el año 2007 por Hernández y su equipo de investigación, que encontraron mayor concentración de (-)-epicatequina y menor contenido de (+)-catequina en los vinos embotellados que fueron envejecidos previamente en barricas de roble americano (Hernández y col., 2007).

Los vinos envejecidos con madera de roble francés (*Quercus petraea*) han mostrado unos niveles de (-)-epicatequina ligeramente superiores que los envejecidos con roble americano (*Quercus alba*) o español (*Quercus pyrenaica* Willd.), aunque las diferencias no han sido significativas (tabla 34 y 35). Estas diferencias observadas han sido mas visibles gráficamente en los vinos tratados con tablonces y micro-oxigenación (figura 78), coincidiendo este resultado con lo publicado por otros autores (Cadahía y col., 2008).

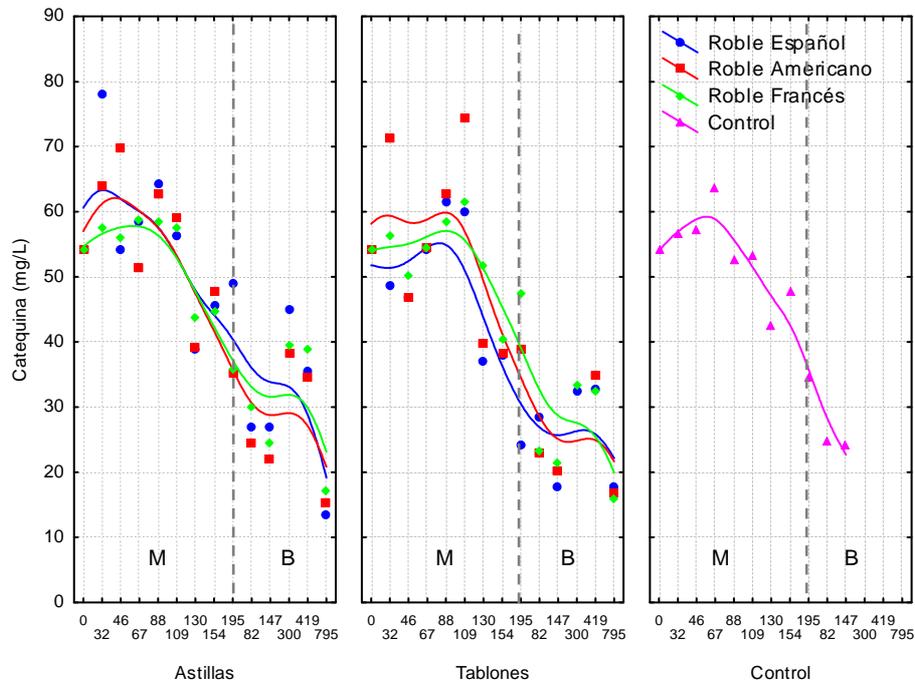


Figura 77- Evolución de la catequina (mg/L) tras el envejecimiento en madera (M) y botella (B) de vinos tintos con astillas y tablonces de roble

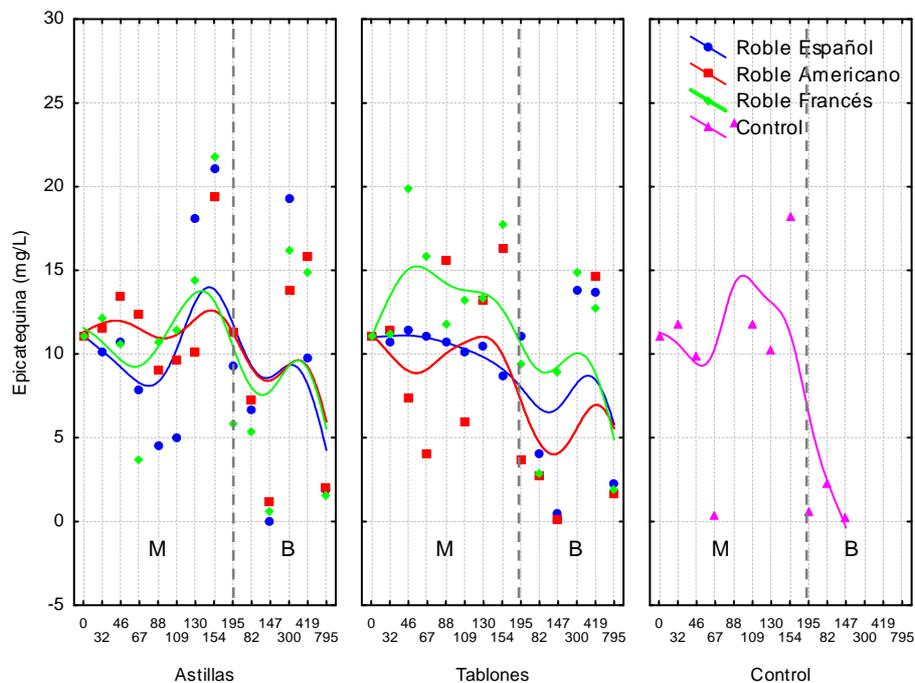


Figura 78- Evolución de epicatequina (mg/L) en vinos tintos tratados con astillas y tablonces de roble durante su envejecimiento en madera (M) y periodo de botella (B)

## 4.2. Análisis Discriminante

Finalmente se ha realizado un análisis discriminante con los parámetros analizados en el vino que mostraron diferencias estadísticamente significativas ( $p$  level<0,05) según el tipo de roble o el tamaño del producto empleado para el envejecimiento de los vinos. Se han incluido las familias de compuestos fenólicos, color, edad química, parámetros de copigmentación y compuestos antocianicos y de bajo peso molecular durante los seis meses de envejecimiento en madera y posteriormente durante su permanencia en botella. Se pretende así conocer la capacidad de diferenciación de los vinos estudiados en base a las variables mencionadas teniendo en cuenta el sistema de envejecimiento (astillas y tablones) y el origen de la madera de roble (*Quercus alba*, *Quercus petraea* y *Quercus pyrenaica* Willd.). La tabla 36 muestra los coeficientes estándar de las funciones discriminantes 1 y 2 del análisis canónico discriminante. La distribución de las muestras según las variables indicadas se presenta en las figuras 79 y 80.

Tabla 36- Resultados del análisis discriminante de los vinos envejecidos con astillas y tablones de roble español, americano y francés en dos periodos diferentes (madera y botella)

	Periodo madera		Periodo botella	
	F1	F2	F1	F2
Grado alcohólico	-0,2743	0,8932	-1,5954	0,0240
Densidad relativa	-0,1143	-0,4143	-3,9404	0,4997
Acidez total	-0,1536	0,4928	0,8117	1,0919
Acidez volátil	-0,1436	0,7891	-1,3001	-0,4625
Catequinas totales	-0,1922	-0,3688	0,3098	0,2178
Antocianos totales	0,1597	0,0500	1,3296	3,9360
$\alpha$	-0,7105	-0,4124	-3,1754	-2,7925
$\alpha\alpha$	-0,9919	0,8672	3,3734	-0,6698
i	-1,8025	-0,3207	8,1773	5,2844
ii	3,2551	-1,7119	-7,9521	4,0932
Ep	0,1593	-0,0865	-0,1448	0,2765
Fc	-0,1672	0,7004	-1,9765	-0,3521
PP	-0,0846	-0,2782	-0,7904	-2,5220
lIn	-0,0721	-1,1336	-3,4747	0,2538
A420	-0,0407	0,6934	1,1825	1,5515
A620	-0,8052	1,2205	1,4784	5,0972
Ácido Protocatéquico	0,1395	0,7382	4,0975	-2,3865
5HMF	-1,6269	-0,0820	-6,3756	1,4788
pOHbenzaldehido	0,4007	-0,1320	0,0328	-1,0028
Malvidín 3 $\sigma$ -glucósido	-0,5038	-1,6816	0,3879	-0,2728
Eigenval	4,0332	0,5226	128,0553	24,6967
Cum. Prop	0,7664	0,8657	0,8081	0,9640

Durante el periodo de madera la función discriminante 1 ha permitido diferenciar y clasificar a los vinos envejecidos según el sistema de envejecimiento (astillas y tablones). Los vinos con astillas y micro-oxigenación han quedado situados en el eje positivo de F1, el cual ha estado

definido por el contenido de antocianos totales (Ant) y el contenido de  $p$ OHbenzaldehído (tabla 36). Por otro lado, los vinos con tablonos y MOX se han encontrado en el eje negativo de F1, el cual se correlacionaba principalmente con el parámetro  $i$  de la edad química del vino y con la concentración del derivado furánico 5HMF, por lo tanto han sido vinos definidos por la pérdida de antocianos ionizables ( $i$ ) y por las altas concentraciones de 5HMF.

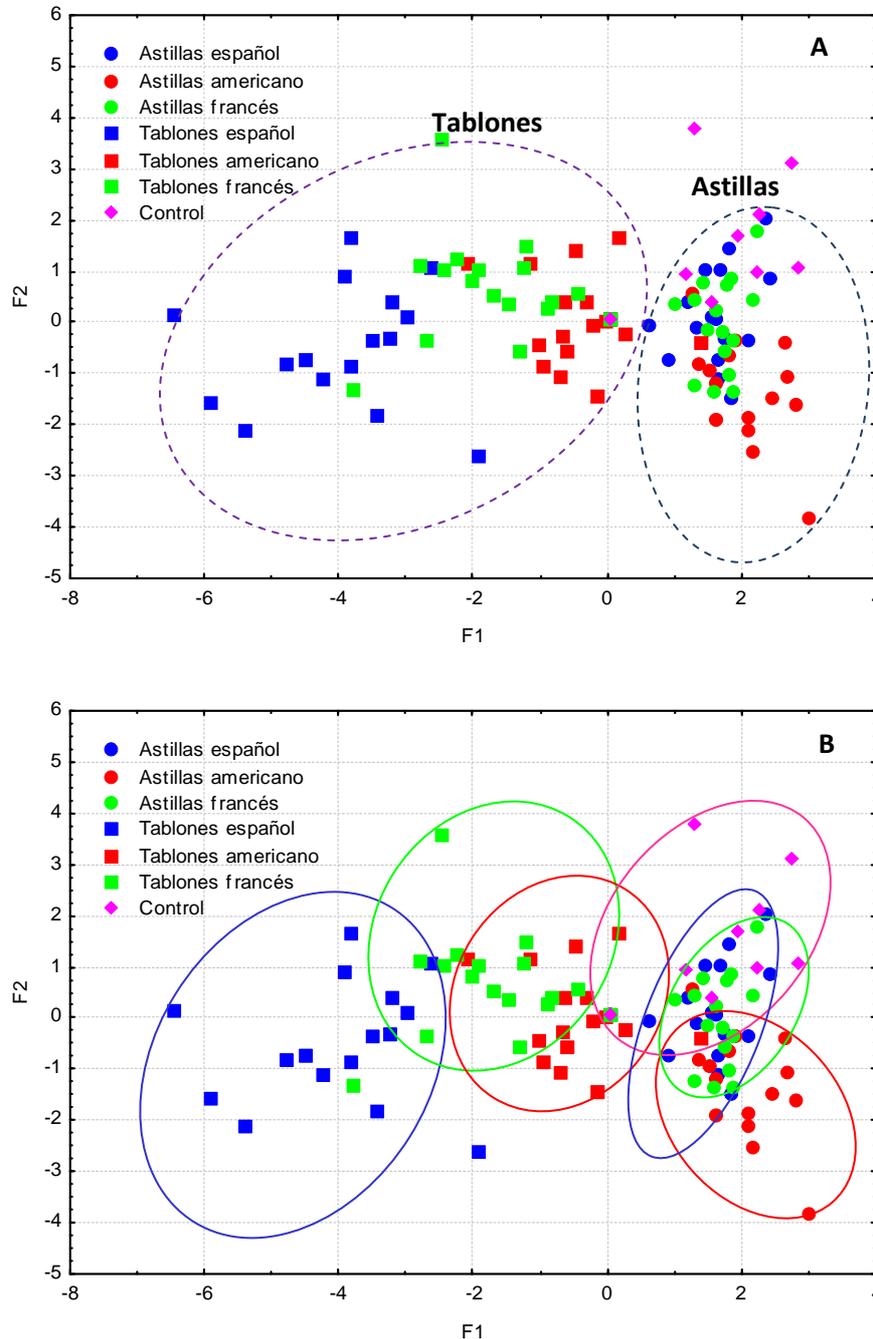


Figura 79- Representación del análisis discriminante de los vinos envejecidos durante 6 meses con roble francés, americano y español. A) Grupo astillas-tablonos, B) Grupo según origen

Tras seis meses de envejecimiento, se ha observado una cierta distancia entre las muestras de cada grupo, especialmente en las muestras de vino envejecidas con tablonos y MOX y el vino control (figura 79A). Los vinos envejecidos con tablonos de *Quercus pyrenaica* Willd. y MOX han quedado situados más cerca de los vinos envejecidos con tablonos de roble francés

(*Quercus petraea*) que de los tratados con roble americano (*Quercus alba*) (figura 79B). Sin embargo la evolución de todos los vinos tratados con astillas y micro-oxigenación ha sido muy similar, formando un grupo más homogéneo lo que ha hecho complicada su diferenciación según la procedencia de la madera (figura 79A).

Por otro lado, las muestras de vino tratado con tablonos de roble español situadas en el eje positivo de la función discriminante 2 (F2) han estado definidas por el parámetro de copigmentación FC, el grado alcohólico, la acidez total y volátil, el contenido de ácido protocatéuico y la componente azul (A620). Mientras que el índice de ionización, el contenido de catequinas y malvidín 3 *o*-glucósido, la densidad relativa y el parámetro de copigmentación PP han definido a los vinos posicionados en el eje negativo (muestras de vino tratado con tablonos de roble francés), los cuales han estado caracterizados por presentar mayor componente azul, mayor acidez volátil y mayor contenido de ácido protocatéuico y malvidín 3 *o*-glucósido (tabla 36).

Tras seis meses de envejecimiento la clasificación matriz del análisis canónico discriminante ha sido superior al 72% en los vinos tratados con tablonos y micro-oxigenación, y superior al 44% en los vinos con astillas y micro-oxigenación. Se han clasificado correctamente un 44 y 50% de los vinos envejecidos con astillas de origen francés y español respectivamente, y más de un 64% de los vinos tratados con astillas de roble americano y micro-oxigenación. El 72% de los vinos envejecidos con tablonos de roble francés y americano y más del 88% de los vinos envejecidos con madera de *Quercus pyrenaica* Willd. se han clasificado correctamente.

Durante la permanencia del vino en botella, se ha obtenido una mayor diferenciación de los vinos analizados según el sistema de envejecimiento y origen del roble (figura 80). El contenido de catequinas y malvidín 3 *o*-glucósido han sido las variables que más han influido en los vinos posicionados en la zona positiva del eje canónico 1 (F1) (muestras de los vinos tratados con astillas). El eje negativo ha quedado definido por la densidad relativa, acidez volátil, los parámetros de la edad química  $\alpha$  e  $i$ , el índice de ionización y el contenido de 5HMF, variables que han afectado más a los vinos tratados con tablonos y micro-oxigenación (tabla 35). La distribución de los vinos en la función 2 ha estado explicada por el parámetro de copigmentación Ep, la acidez total, el contenido de antocianos totales y las componentes amarilla y azul en el eje positivo, mientras que el contenido de *p*OHbenzaldehído y el parámetro PP de copigmentación ha presentado mayor incidencia en el eje negativo de la función discriminante 2 (F2) (tabla 36).

Tras 24 meses en botella se ha observado una diferenciación muy clara de los vinos según el sistema de envejecimiento (figura 80). Las funciones discriminantes 1 y 2 han permitido diferenciar las muestras estudiadas, de forma que los vinos de astillas y MOX se han encontrado situados en la zona positiva de las funciones canónicas 1 y 2 (F1 y F2), definidos por el contenido de catequinas totales, malvidín 3 *o*-glucósido, la componente amarilla (A420) y el contenido de antocianos totales, mientras que los vinos de tablonos y micro-oxigenación han estado localizados en el eje negativo de F2 y el eje positivo de F1 (figura 80). Estos vinos han quedado definidos por el contenido de *p*OHbenzaldehído, ácido protocatéuico, el parámetro PP (fracción del color debida al pigmento polimérico) de copigmentación y los parámetros de la edad química ( $\alpha$  e  $i$ ). Durante el periodo de permanencia del vino en la

botella, la clasificación matriz del análisis discriminante de las muestras de vino tratadas con astillas y tablonos de diferentes orígenes + MOX ha sido del 100%, excepto las muestras de astillas de roble francés cuya clasificación matriz ha sido del 70%.

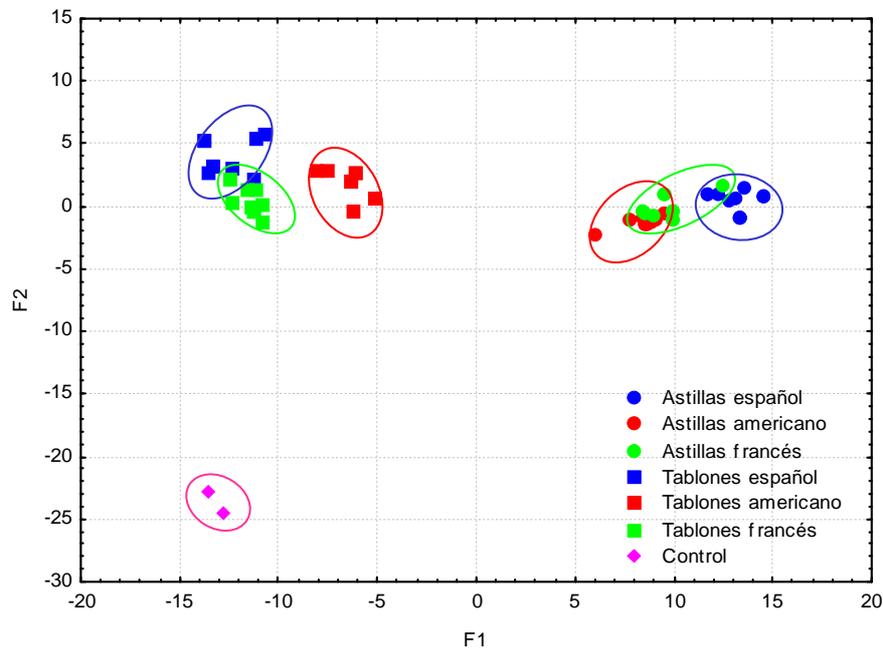


Figura 80- Representación del análisis discriminante de los vinos envejecidos durante 24 meses en botella, tras su envejecimiento con roble americano, francés y español

Cabe destacar que durante el envejecimiento en botella, las distancias estadísticas entre las muestras analizadas han dependido del origen de la madera (americano, francés, español) y el sistema de envejecimiento (astillas, tablonos), siendo estas distancias dentro de cada grupo muy pequeñas, lo que ha indicado la gran homogeneidad presentada por las muestras estudiadas en su evolución (figura 80). Los vinos envejecidos con astillas y micro-oxigenación y tablonos y micro-oxigenación de *Quercus pyrenaica* Willd. han mostrado características fenólicas semejantes a las presentadas por los vinos tratados con roble francés (*Quercus petraea*) (figura 80).



## **Capítulo 1- Conclusiones**



## 5- Conclusiones

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos en el presente capítulo de la Tesis Doctoral, se enumeran las conclusiones más relevantes:

- ~ Las diferencias encontradas en la evolución de los parámetros estudiados en un mismo vino tinto D.O. Ribera del Duero envejecido en depósitos de acero inoxidable con madera y micro-oxigenación, se han debido fundamentalmente al tamaño de la madera empleada (astillas o tablones), y por consiguiente al oxígeno consumido.
  - o De forma general, se ha observado que los vinos envejecidos con astillas y MOX:
    - Durante todo el envejecimiento (contacto vino-madera y periodo de botella) han presentado mayores niveles de componente amarilla, luminosidad, polifenoles poco polimerizados, i/ii, antocianos totales y mayor carga tánica que los vinos con tablones y MOX. Siendo significativas estas diferencias para la luminosidad e i/ii durante todo el periodo de estudio y para los antocianos totales y componente amarilla durante el periodo de permanencia en la botella. Resultado que indica la mayor y más rápida extracción de los fenoles de la madera hacia el vino cuanto menor es el tamaño del producto alternativo (astillas).
    - De manera pormenorizada, los vinos tratados con astillas de *Quercus pyrenaica* Willd. y micro-oxigenación han mostrado mayor contenido en antocianos totales, catequinas, taninos, componente amarilla e índice de gelatina que los envejecidos con astillas de roble americano o francés.
    - Han destacado durante todo el periodo de estudio (madera y botella) por presentar mayor nivel del flavanol catequina y los ácidos siríntrico, vainillínico, trans-caftárico, gentísico, clorogénico y sináptico que los vinos de tablones.
    - En general, estos vinos han presentado mayor nivel de antocianos pormenorizados durante todo el envejecimiento (contacto vino-madera y botella), siendo significativas estas diferencias para el malvidín 3-*o*-glucósido durante el periodo de botella.
  - o En general, los vinos envejecidos con tablones y micro-oxigenación:
    - Han sufrido mayores procesos de polimerización y copigmentación durante todo el estudio, dando lugar a mayor intensidad colorante, componente azul, i e índice de ionización, además han presentado mayor nivel de taninos combinados con polisacáridos, lo que hace que sean vinos con mayor volumen y suavidad en boca.
    - Los vinos tratados con *Quercus pyrenaica* Willd. y micro-oxigenación han presentado mayores tonalidades azules y han sufrido más polimerizaciones que los envejecidos con tablones de roble americano o francés.
    - Han presentado durante todo el envejecimiento mayor contenido de furfural, 5HMF, aldehído protocatéutico y ácidos gálico y protocatéutico, siendo significativas estas diferencias para el 5HMF y los ácidos gálico y protocatéutico que los vinos tratados con astillas.

- Durante su permanencia en botella han presentado mayor acidez total y volátil, intensidad colorante, grado alcohólico y densidad relativa que los vinos envejecidos con astillas de roble.
  
- ~ Respecto a la dosis de oxígeno aportada al vino, se ha observado que las necesidades de oxígeno durante el envejecimiento han variado en los vinos sometidos a diferentes productos alternativos. Los vinos tratados con roble francés han sido los que mayor cantidad de oxígeno han demandado, seguidos de los vinos envejecidos con roble americano, mientras que los vinos con madera de *Quercus pyrenaica* Willd. han sido los de menor demanda de oxígeno.
  
- ~ Respecto al origen de la madera de los productos alternativos a las barricas (astillas y tablones):
  - Han destacado los vinos tratados con *Quercus alba* por presentar niveles significativamente mayores de acidez volátil durante el periodo de botella, y además durante todo el envejecimiento (madera y botella) han presentado mayores tonos rojizos, intensidad colorante y aspecto del color, frente a los vinos tratados con roble europeo (*Quercus petraea* y *Quercus pyrenaica* Willd.).
  - Se ha observado que los vinos envejecidos con roble español (*Quercus pyrenaica* Willd.) y micro-oxigenación han presentado una concentración de los compuestos de bajo peso molecular estudiados similar a la de los vinos envejecidos con roble francés y americano.
  - De manera global durante todo el periodo de estudio (madera y botella) los vinos envejecidos con roble español y micro-oxigenación han presentado contenidos significativamente superiores de 5HMF. Los vinos con roble francés han destacado por sus altos niveles de vainillina y epicatequina, y los vinos con roble americano por su contenido en furfural y ácido sirínico.
  - Durante el periodo de contacto del vino con la madera, el contenido de antocianos pormenorizados en los vinos tratados con roble americano (*Quercus alba*) y micro-oxigenación ha sido ligeramente superior que el presentado en vinos envejecidos con roble europeo (*Quercus petraea* y *Quercus pyrenaica* Willd.). Sin embargo, durante el periodo de botella, han sido los vinos con roble europeo los que han sufrido las menores pérdidas, mostrando mayores concentraciones de antocianos pormenorizados.
  
- ~ Respecto al análisis organoléptico:
  - Los vinos tratados con productos alternativos a las barricas (astillas y tablones) de *Quercus pyrenaica* Willd. y micro-oxigenación han presentado mayores atributos relacionados con el envejecimiento, mostrando altas notas de tabaco y especias (propias del envejecimiento con roble francés) y también características organolépticas del envejecimiento con roble americano (mayores notas a coco y vainilla). Estando estos vinos muy bien valorados, y siendo los preferidos por el panel de catadores.
  - Durante el periodo de botella, los vinos tratados con roble español (*Quercus pyrenaica* Willd.) han sido valorados positivamente por mostrar mayor

complejidad e intensidad colorante, destacando por sus notas de madera, vainilla, balsámicos, canela y cacao.

- ~ De forma general, los vinos envejecidos con productos alternativos a las barricas (PAB) de madera de *Quercus pyrenaica* Willd. y micro-oxigenación han presentado características fenólicas y organolépticas intermedias a los elaborados con roble americano (*Quercus alba*) o francés (*Quercus petraea*), siendo más parecidos a los vinos envejecidos con roble francés.

Con todo lo mencionado se puede concluir que los productos alternativos de madera de *Quercus pyrenaica* Willd. son perfectamente aptos para el envejecimiento de vinos tintos, y se postulan como productos enológicos con una calidad similar a la habitualmente empleada de roble francés o americano. De forma que el empleo de productos alternativos de madera de *Quercus pyrenaica* Willd. permitirá un aprovechamiento de la masa forestal disponible actualmente dando un valor añadido a los vinos. Sin embargo, se hace necesario optimizar los procesos de tratamiento de la madera en tonelería, ya que el curado y tostado de los productos alternativos fabricados con madera de rebollo deben adecuarse a este tipo de madera para obtener un producto alternativo que represente adecuadamente todo el potencial de la madera, este aspecto es precisamente el principal objetivo del capítulo 2 de esta Tesis Doctoral.



## **Capítulo 1- Anejo I**



ANEJO I- Tablas de resultados obtenidos en el  
análisis de los vinos estudiados



Tabla 37- Contenido promedio de los parámetros básicos de los vinos en función del tamaño de la madera y origen del roble durante el envejecimiento en madera y resultados de la ANOVA

	Tamaño			Origen			
	Astillas	Tablones	p level	<i>Q. pyrenaica</i>	<i>Q. alba</i>	<i>Q. petraea</i>	p level
Grado (% VOL)	13,79 a	13,78 a	0,892	13,76 a	13,79 a	13,80 a	0,841
Ex. seco (g/L)	29,85 a	30,13 a	0,383	29,97 a	29,89 a	30,10 a	0,869
Densidad	0,994 a	0,994 a	0,928	0,994 a	0,994 a	0,994 a	0,668
Ac. Tot. (g/L)	4,92 a	4,97 a	0,179	4,94 a	4,94 a	4,95 a	0,959
Ac. Vol. (g/L)	0,55 a	0,60 a	0,198	0,57 a	0,56 a	0,59 a	0,841
pH	3,77 a	3,75 a	0,184	3,76 a	3,75 a	3,76 a	0,949
Azúc. (g/L)	1,36 a	1,36 a	0,917	1,36 a	1,36 a	1,35 a	0,618
SO <sub>2</sub> L (mg/L)	9,13 a	8,87 a	0,821	8,86 a	8,89 a	9,25 a	0,953
SO <sub>2</sub> T (mg/L)	23,87 a	22,93 a	0,891	25,08 a	22,92 a	22,19 a	0,938
MH <sub>2</sub> (mg/L)	0,13 a	0,14 a	0,427	0,14 a	0,13 a	0,14 a	0,960
TH <sub>2</sub> (mg/L)	1,32 a	1,25 a	0,105	1,28 a	1,28 a	1,29 a	0,959
K (mg/L)	1487,59 a	1473,33	0,688	1475,83 a	1478,89 a	1486,67 a	0,967
Glicer. (g/L)	8,91 a	8,96 a	0,178	8,97 a	8,88 a	8,95 a	0,149

(Para cada factor, letras distintas en filas indican diferencias estadísticamente significativas. En negrita se muestra el p level con significación > 95% (p<0,05)

Tabla 38- Contenido promedio de los parámetros básicos de los vinos en función del tamaño de la madera y origen del roble durante el período de botella y resultados de la ANOVA

	Tamaño			Origen			
	Astillas	Tablones	p level	<i>Q. pyrenaica</i>	<i>Q. alba</i>	<i>Q. petraea</i>	p level
Grado (% VOL)	14,03 b	13,98 a	<b>0,045</b>	14,00 a	14,01 a	14,01 a	0,964
Ex. seco (g/L)	29,11 a	29,21 a	0,342	29,18 a	29,10 a	29,21 a	0,675
Densidad	0,993 a	0,993 b	<b>0,000</b>	0,993 a	0,993 a	0,993 a	0,353
Ac. Tot. (g/L)	4,80 a	4,89 b	<b>0,000</b>	4,82 a	4,84 a	4,86 a	0,331
Ac. Vol. (g/L)	0,50 a	0,55 b	<b>0,000</b>	0,51 a	0,54 b	0,52 ab	<b>0,047</b>
pH	3,77 a	3,76 a	0,468	3,67 a	3,77 a	3,76 a	0,944
Gluc. + Fruc. (g/L)	0,22 a	0,21 a	0,756	0,23 a	0,21 a	0,20 a	0,618
Azúc. (g/L)	1,42 a	1,41 a	0,756	1,43 a	1,41 a	1,40 a	0,618
SO <sub>2</sub> L (mg/L)	10,60 a	10,00 a	0,738	11,00 a	10,30 a	9,60 a	0,815
SO <sub>2</sub> T (mg/L)	48,47 a	51,93 a	0,449	53,40 a	47,60 a	49,60 a	0,575
MH <sub>2</sub> (mg/L)	0,11 a	0,11 a	0,653	0,11 a	0,12 a	0,11 a	0,627
TH <sub>2</sub> (mg/L)	1,38 a	1,29 a	0,187	1,35 a	1,31 a	1,33 a	0,896
K (mg/L)	1466,20 a	1491,93 a	0,273	1486,70 a	1471,30 a	1479,20 a	0,864
Glicer. (g/L)	9,29 a	9,29 a	0,919	9,30 a	9,21 a	9,36 a	0,177

(Para cada factor, letras distintas en filas indican diferencias estadísticamente significativas. En negrita se muestra el p level con significación > 95% (p<0,05)

Tabla 39- Contenido promedio de las familias de compuestos fenólicos presentes en el vino en función del tamaño de la madera y origen del roble durante el envejecimiento en madera y resultados de la ANOVA

	Tamaño			Origen			
	Astillas	Tablones	<i>p</i> level	<i>Q. pyrenaica</i>	<i>Q. alba</i>	<i>Q. petraea</i>	<i>p</i> level
PT (mg/L)	2162,43 a	2151,12 a	0,590	2177,28 b	2121,75 a	2171,42 b	<b>0,036</b>
PPP (mg/L)	1454,20 a	1411,80 a	0,117	1470,55 a	1405,63 a	1421,96 a	0,130
PMP (mg/L)	708,23 a	739,32 a	0,129	706,72 a	716,13 a	749,46 a	0,198
CAT (mg/L)	817,42 a	823,49 a	0,751	829,11 a	813,82 a	819,03 a	0,848
ANT (mg/L)	544,53 a	538,07 a	0,597	536,59 a	546,18 a	540,66 a	0,834
TAN (g/L)	2,68 a	2,51 a	0,055	2,57 a	2,67 a	2,53 a	0,325
Edad química							
i	0,32 a	0,34 a	0,255	0,33 a	0,34 a	0,33 a	0,934
ii	0,09 a	0,10 b	<b>0,003</b>	0,10 a	0,09 a	0,10 a	0,873
i/ii	3,58 b	3,35 a	<b>0,001</b>	3,42 a	3,55 a	3,41 a	0,197
α	17,58 a	18,64 a	0,133	18,07 a	17,97 a	18,35 a	0,893
αα	21,55 a	23,08 b	<b>0,000</b>	22,61 ab	21,72 a	22,70 b	0,069
Copigmentación							
C	1,87 a	2,02 a	0,279	1,99 a	1,96 a	1,90 a	0,874
TA	4,23 a	4,25 a	0,860	4,21 a	4,23 a	4,27 a	0,924
Ep	2,16 a	2,38 b	<b>0,001</b>	2,27 a	2,29 a	2,26 a	0,945
FC	9,30 a	9,48 a	0,101	9,42 a	9,30 a	9,46 a	0,471
TP	63,78 a	68,22 b	<b>0,021</b>	66,99 a	66,50 a	64,76 a	0,618
COP	0,22 a	0,23 a	0,561	0,23 a	0,23 a	0,22 a	0,833
AL	0,52 a	0,49 a	0,157	0,50 a	0,50 a	0,51 a	0,861
PP	0,22 a	0,28 a	0,071	0,27 a	0,27 a	0,27 a	0,966
Índice etanol	22,42 a	23,07 a	0,610	23,12 a	23,14 a	22,02 a	0,730
Índice gelatina	59,97 a	61,48 a	0,572	60,81 a	60,69 a	60,74 a	0,999
Índice ionización	24,32 a	25,78 a	0,147	25,15 a	25,04 a	25,03 a	0,998

(Para cada factor, letras distintas en filas indican diferencias estadísticamente significativas. En negrita se muestra el *p* level con significación > 95% ( $p < 0,05$ ))

Tabla 40- Contenido promedio de las familias de compuestos fenólicos presentes en el vino en función del tamaño de la madera y origen del roble durante el período de botella y resultados de la ANOVA

	Tamaño			Origen			
	Astillas	Tablones	p level	<i>Q. pyrenaica</i>	<i>Q. alba</i>	<i>Q. petraea</i>	p level
PT (mg/L)	2273,72 a	2277,17 a	0,861	2306,51 b	2265,44 ab	2254,38 a	0,082
PPP (mg/L)	1232,97 a	1190,33 a	0,491	1209,12 a	1189,09 a	1236,74 a	0,818
PMP (mg/L)	1040,75 a	1086,84 a	0,519	1097,39 a	1076,35 a	1017,65 a	0,639
CAT (mg/L)	806,53 b	723,81 a	<b>0,000</b>	756,19 a	771,16 a	768,16 a	0,654
ANT (mg/L)	389,99 b	351,75 a	<b>0,018</b>	369,38 a	369,64 a	373,58 a	0,970
TAN (g/L)	2,55 a	2,45 a	0,222	2,49 a	2,46 a	2,54 a	0,735
Edad química							
i	0,46 a	0,52 b	<b>0,015</b>	0,49 a	0,49 a	0,49 a	0,978
ii	0,15 a	0,19 b	<b>0,001</b>	0,17 a	0,17 a	0,17 a	0,983
i/ii	3,19 b	2,77 a	<b>0,001</b>	3,04 a	2,99 a	2,92 a	0,723
α	14,71 a	19,82 b	<b>0,000</b>	16,88 a	17,20 a	17,71 a	0,833
αα	23,56 a	26,41 b	<b>0,013</b>	24,80 a	24,72 a	25,43 a	0,848
Copigmentación							
C	2,38 a	2,08 a	0,402	2,28 a	2,13 a	2,27 a	0,931
TA	2,40 a	2,47 a	0,825	2,35 a	2,50 a	2,46 a	0,926
Ep	2,26 a	2,75 b	<b>0,000</b>	2,47 a	2,60 a	2,45 a	0,199
FC	8,63 a	8,92 b	<b>0,009</b>	8,72 a	8,84 a	8,77 a	0,671
TP	68,42 a	72,39 a	0,155	71,59 a	69,06 a	70,58 a	0,752
COP	0,30 a	0,24 a	0,127	0,28 a	0,26 a	0,27 a	0,851
AL	0,33 a	0,33 a	0,963	0,32 a	0,34 a	0,34 a	0,938
PP	0,37 a	0,43 b	<b>0,042</b>	0,39 a	0,40 a	0,39 a	0,957
Índice etanol	24,60 a	27,55 b	<b>0,014</b>	25,40 a	25,74 a	27,08 a	0,461
Índice gelatina	63,07 a	63,84 a	0,760	64,16 a	63,41 a	62,80 a	0,906
Índice ionización	22,27 a	31,02 b	<b>0,000</b>	25,49 a	26,96 a	27,48 a	0,720

(Para cada factor, letras distintas en filas indican diferencias estadísticamente significativas. En negrita se muestra el p level con significación > 95% (p<0,05))

Tabla 41- Contenido promedio de los componentes del color en el vino en función del tamaño de la madera y origen del roble durante el envejecimiento en madera y resultados de la ANOVA

	Tamaño			Origen			
	Astillas	Tablones	p level	<i>Q. pyrenaica</i>	<i>Q. alba</i>	<i>Q. petraea</i>	p level
<b>Glories</b>							
IC	12,86 a	13,49 b	<b>0,000</b>	13,09 a	13,30 a	13,16 a	0,552
Tonalidad	0,68 a	0,68 a	0,328	0,68 a	0,67 a	0,68 a	0,375
420%	34,91 a	34,88 a	0,853	35,00 a	34,76 a	34,92 a	0,433
520%	51,70 a	51,27 a	0,056	51,36 a	51,63 a	51,42 a	0,538
620%	13,40 a	13,85 b	<b>0,022</b>	13,63 a	13,61 a	13,65 a	0,965
%dA	53,25 a	52,44 a	0,051	52,61 a	53,13 a	52,73 a	0,526
<b>CIELab</b>							
Luminosidad	65,66 b	63,45 a	<b>0,000</b>	64,81 a	64,34 a	64,42 a	0,598
a*	35,92 a	37,61 b	<b>0,000</b>	36,47 a	36,98 a	36,93 a	0,419
b*	1,34 a	1,02 a	0,065	1,21 a	1,12 a	1,20 a	0,903
C*	35,95 a	37,64 b	<b>0,000</b>	36,49 a	37,00 a	36,96 a	0,419
H	2,16 b	1,56 a	<b>0,024</b>	1,93 a	1,74 a	1,88 a	0,842

(Para cada factor, letras distintas en filas indican diferencias estadísticamente significativas. En negrita se muestra el p level con significación > 95% (p<0,05)

Tabla 42- Contenido promedio de los componentes del color en el vino en función del tamaño de la madera y origen del roble durante el período de botella y resultados de la ANOVA

	Tamaño			Origen			
	Astillas	Tablones	p level	<i>Q. pyrenaica</i>	<i>Q. alba</i>	<i>Q. petraea</i>	p level
<b>Glories</b>							
IC	9,25 a	11,07 b	<b>0,000</b>	10,02 a	10,25 a	10,21 a	0,591
Tonalidad	0,80 b	0,77 a	<b>0,000</b>	0,80 b	0,78 a	0,78 ab	<b>0,046</b>
420%	38,59 b	37,43 a	<b>0,001</b>	38,35 a	37,70 a	37,98 a	0,299
520%	48,26 a	48,65 a	0,122	48,15 a	48,65 a	48,56 a	0,224
620%	13,15 a	13,93 a	0,104	13,50 a	13,65 a	13,46 a	0,938
%dA	46,36 a	47,18 a	0,115	46,13 a	47,18 a	46,99 a	0,216
<b>CIELab</b>							
Luminosidad	71,12 b	66,40 a	<b>0,000</b>	69,16 a	68,58 a	68,54 a	0,847
a*	24,98 a	29,01 b	<b>0,000</b>	26,50 a	27,27 b	27,23 b	<b>0,001</b>
b*	4,64 a	4,61 a	0,951	4,76 a	4,56 a	4,55 a	0,949
C*	25,49 a	29,47 b	<b>0,000</b>	27,02 a	27,74 b	27,68 b	<b>0,003</b>
H	10,52 a	8,95 a	0,210	10,22 a	9,46 a	9,53 a	0,856

(Para cada factor, letras distintas en filas indican diferencias estadísticamente significativas. En negrita se muestra el p level con significación > 95% (p<0,05)

Tabla 43- Contenido medio de los compuestos antociánicos (mg/L) en el vino cuantificados mediante HPLC en función del tamaño de la madera y origen del roble durante el envejecimiento en madera y resultados de la ANOVA

	Tamaño			Origen			
	Astillas	Tablones	<i>p</i> level	<i>Q. pyrenaica</i>	<i>Q. alba</i>	<i>Q. petraea</i>	<i>p</i> level
Df- 3-gl.	49,83 a	47,68 a	0,342	47,29 a	49,71 a	49,31 a	0,651
Ci-3-gl.	3,37 a	3,24 a	0,424	3,25 a	3,38 a	3,29 a	0,807
Pt- 3-gl.	51,08 a	48,56 a	0,314	48,56 a	50,64 a	50,30 a	0,790
Pe-3-gl.	9,82 a	9,09 a	0,172	9,26 a	9,50 a	9,62 a	0,891
Mv- 3-gl.	176,95 a	168,07 a	0,272	168,48 a	174,97 a	174,30 a	0,802
Vitisín A	3,79 a	3,56 a	0,303	3,45 a	3,87 a	3,72 a	0,283
Derivados acetilados/cumarilados							
Mv- 3-gl-Ac + Df-3-gl-Cm.	13,14 a	12,20 a	0,118	12,32 a	12,96 a	12,75 a	0,717
Pe-3-gl-Ac.	0,53 a	0,48 a	0,206	0,50 a	0,51 a	0,51 a	0,977
Ci-3-gl-Cm.	0,66 a	0,67 a	0,725	0,64 a	0,69 a	0,66 a	0,678
Pt- 3-gl-Cm	4,11 a	3,71 a	0,100	3,80 a	4,04 a	3,90 a	0,759
Mv- 3-gl-Cm. Cis	0,63 a	0,58 a	0,206	0,59 a	0,62 a	0,61 a	0,722
Mv-3-gl-Cm. Trans	22,68 a	21,15 a	0,267	20,96 a	22,54 a	22,29 a	0,613

(Para cada factor, letras distintas en filas indican diferencias estadísticamente significativas. En negrita se muestra el *p* level con significación > 95% ( $p < 0,05$ ))

Tabla 44- Contenido medio de los compuestos antociánicos (mg/L) en el vino cuantificados mediante HPLC en función del tamaño de la madera y origen del roble durante el periodo de botella y resultados de la ANOVA

	Tamaño			Origen			
	Astillas	Tablones	<i>p</i> level	<i>Q. pyrenaica</i>	<i>Q. alba</i>	<i>Q. petraea</i>	<i>p</i> level
Df- 3-gl.	17,35 a	15,45 a	0,134	16,99 a	15,75 a	16,62 a	0,751
Ci-3-gl.	2,50 a	2,11 a	0,320	2,36 a	2,34 a	2,25 a	0,970
Pt- 3-gl.	16,07 a	15,57 a	0,723	15,73 a	16,46 a	15,28 a	0,819
Pe-3-gl.	2,68 a	2,67 a	0,937	2,98 a	2,47 a	2,61 a	0,472
Mv- 3-gl.	45,95 b	38,22 a	<b>0,020</b>	43,66 a	40,45 a	42,70 a	0,770
Vitisín A	4,30 a	4,58 a	0,550	4,69 a	4,34 a	4,29 a	0,762
Derivados acetilados/cumarilados							
Mv- 3-gl-Ac + Df-3-gl-Cm.	9,67 a	9,05 a	0,601	10,03 a	9,01 a	9,13 a	0,646
Pe-3-gl-Ac.	7,82 a	9,67 a	0,410	12,31 a	8,15 a	6,05 a	0,159
Ci-3-gl-Cm.	4,21 a	3,89 a	0,689	4,58 a	3,67 a	3,96 a	0,571
Pt- 3-gl-Cm	4,26 a	4,22 a	0,987	4,60 a	4,04 a	4,13 a	0,638
Mv- 3-gl-Cm. Cis	3,51 a	3,68 a	0,648	3,86 a	3,46 a	3,48 a	0,682
Mv-3-gl-Cm. Trans	7,09 a	6,56 a	0,348	6,93 a	6,64 a	6,94 a	0,878

(Para cada factor, letras distintas en filas indican diferencias estadísticamente significativas. En negrita se muestra el *p* level con significación > 95% ( $p < 0,05$ ))



## **Capítulo 1- Bibliografía**



## 6- Bibliografía

- Abril, I. y Casp., A., **1999**. Los compuestos fenólicos del vino. *Alimentos: equipos y tecnología*. 97-103.
- Alañón, M. E.; Pérez-Coello, M. S.; Díaz-Maroto, I. J.; Martín-Álvarez, P. J.; Vila-Lameiro, P. y Díaz-Maroto, M.C., **2011**. Influence of geographical location, site and silvicultural parameters, on volatile composition of *Quercus pyrenaica* Willd. wood used in wine aging. *Forest Ecology and Management*. 262, 2, 124-130.
- Alañón, M.E.; Schumacher, R.; Castro-Vázquez, L.; Díaz-Maroto, I.J.; Díaz-Maroto, M.C. y Pérez-Coello, M.S., **2013a**. Enological potential of chestnut wood for aging Tempranillo wines part I: Volatile compounds and sensorial properties. *Food Research International*. 51, 325-334.
- Alañón, M.E.; Schumacher, R.; Castro-Vázquez, L.; Díaz-Maroto, M.C.; Hermosín-Gutiérrez, I. y Pérez-Coello, M.S., **2013b**. Enological potential of chestnut wood for aging Tempranillo wines part II: Phenolic compounds and chromatic characteristics. *Food Research International*. 51, 535-543.
- Ancín, C.; Garde, T.; Torrea, D. y Jimenez, N., **2004**. Extraction of volatile compounds in model wine from different oak woods: effect of SO<sub>2</sub>. *Food Research International*. 37, 4, 375-383.
- Arapitsas, P.; A. A., Stefanou, E. y Dourtoglou, V.G., **2004**. Artificial aging of wines using oak chips. *Food Chemistry*. 86, 563-570.
- Bakker, J.; Preston, N. W. y Timberlake, C. F., **1986**. The Determination of Anthocyanins in Aging Red Wines: Comparison of HPLC and Spectral Methods. *American Journal of Enology and Viticulture*. 37, 2, 121-126.
- Bautista, A.B.; Lencina, A.G.; Cano-López, M.; Pardo-Mínguez, F.; López-Roca, J. M. y Gómez-Plaza, E., **2008**. The use of oak chips during the ageing of a red wine in stainless steel tanks or used barrels: Effect of the contact time and size of the oak chips on aroma compounds. *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 14, 2, 63-70.
- Boulton, R., **2001**. The copigmentation of anthocyanins and its role in the color of red wine: A critical review. *American Journal of Enology and Viticulture*. 52, 2, 67-87.
- Cadahía, E.; Muñoz, L.; Fernández de Simón, B. y García-Vallejo, M. C., **2001a**. Changes in low molecular weight phenolic compounds in Spanish, French, and American oak woods during natural seasoning and toasting. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 49, 4, 1790-1798.
- Cadahía, E.; Varea, S.; Muñoz, L.; Fernández de Simón, B. y García-Vallejo, M. C., **2001b**. Evolution of ellagitannins in Spanish, French, and American oak woods during natural seasoning and toasting. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 49, 8, 3677-3684.
- Cadahía, E.; Fernández de Simón, B. y Jalocho, J., **2003**. Volatile compounds in Spanish, French, and American oak woods after natural seasoning and toasting. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51, 20, 5923-5932.
- Cadahía, E. y Fernández de Simón, B., **2004**. Utilización del roble español en el envejecimiento de vinos. Comparación con roble francés y americano, Vol. nº10. Monografías INIA: Serie forestal.

- Cadahía, E.; Fernández de Simón, B.; Poveda, P. y Sanz, M., **2008**. Utilización de *Quercus pyrenaica* Willd. de Castilla y León en el envejecimiento de vinos. Comparación con roble francés y americano, Vol nº 18. Monografías INIA: Serie forestal.
- Cadahía E. y Fernández de Simón, B., **2009a**. Chips de *Quercus pyrenaica* en la panorámica del mercado. *Nuevos horizontes en la Viticultura y Enología*. 461-464.
- Cadahía, E.; Fernández de Simón, B.; Sanz, M.; Poveda, P. y Colio, J., **2009b**. Chemical and chromatic characteristics of Tempranillo, Cabernet Sauvignon and Merlot wines from DO Navarra aged in Spanish and French oak barrels. *Food Chemistry*. 115, 2, 639-649.
- Caldeira, I.; Belchior, A. P.; Clímaco, M. C. y Bruno de Sousa, R., **2002**. Aroma profile of Portuguese brandies aged in chestnut and oak woods. *Analytica Chimica Acta*. 458, 1, 55-62.
- Caldeira, I.; Clímaco, M. C.; Bruno De Sousa, R. y Belchior, A. P., **2006**. Volatile composition of oak and chestnut woods used in brandy ageing: Modification induced by heat treatment. *Journal of Food Engineering*. 76, 2, 202-211.
- Caldeira, I.; Anjos, O.; Portal, V.; Belchior, A. P. y Canas, S., **2010**. Sensory and chemical modifications of wine-brandy aged with chestnut and oak wood fragments in comparison to wooden barrels. *Analytica Chimica Acta*. 660, 1-2, 43-52.
- Campbell, J.I.; Sykes, M.; Sefton, M.A. y Pollnitz, A.P., **2005**. The effects of size, temperature and air contact on the outcome of heating oak fragments. *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 11, 348-354.
- Campbell, J.I.; Pollnitz, A.P.; Sefton, M.A.; Herderich, M.J. y Pretorius, I.S., **2006**. Factors affecting the influence of oak chips on wine flavour. *Wine Industry Journal*. 21 nº4, 38-42.
- Canas, S.; Belchior, A.P.; Falcão, A.; Gonçalves, J.A.; Spranger, M.I. y Bruno-de-Sousa, R., **2007**. Effect of heat treatment on the thermal and chemical modifications of oak and chestnut wood used in brandy ageings. *Ciência e Técnica Vitivinícola*. 22, 1, 5-14.
- Canas, S.; Caldeira, I. y Belchior, A. P., **2009a**. Comparison of alternative systems for the ageing of wine brandy. Wood shape and wood botanical species effect. *Comparaçãõ de sistemas alternativos para o envelhecimento de aguardente vínica. Efeito da forma e da espécie botânica da Madeira*. 24, 2, 91-99.
- Canas, S.; Caldeira, I. y Belchior, A. P., **2009b**. Comparison of alternative systems for the ageing of wine brandy. Oxygenation and wood shape effect. *Comparaçãõ de sistemas alternativos para o envelhecimento de aguardente vínica. Efeito da oxigenaçãõ e da forma da Madeira*. 24, 1, 33-40.
- Cano, M.; Pardo, F.; López, J.M. y Gómez, E., **2007**. Chromatic characteristics and anthocyanin profile of a micro-oxygenated red wine after oak or bottle maturation. *European Food Research and Technology*. 225, 1, 127-132.
- Cejudo, M.J.; Hermosín, I. y Pérez, M.S., **2011a**. Micro-oxygenation and oak chip treatments of red wines: Effects on colour-related phenolics, volatile composition and sensory characteristics. Part I: Petit Verdot wines. *Food Chemistry*. 124, 3, 727-737.

- Cejudo, M.J.; Hermosín, I. y Pérez, M.S., **2011b**. Micro-oxygenation and oak chip treatments of red wines: Effects on colour-related phenolics, volatile composition and sensory characteristics. Part II: Merlot wines. *Food Chemistry*. 124, 3, 738-748.
- Chassaing, S.; Lefeuvre, D.; Jacquet, R.; Jourdes, M.; Ducasse, L.; Galland, S.; Grelard, A.; Saucier, C.; Teissedre, P.L.; Dangles, O. y Quideau, S., **2010**. Physicochemical studies of new anthocyano-ellagitannin hybrid pigments: about the origin of the influence of oak C-Glycosidic ellagitannins on wine color. *European Journal of Organic Chemistry*. 55-63.
- Chatonnet, P., **2007**. Productos alternativos a la crianza en barricas de los vinos. Influencia de los parámetros de fabricación y uso. *Enología*. Nº3, Julio/Agosto, 2-24.
- CIE (Comission Internationale de l'Eclairage), **1986**. Colorimetry. Viena: CIE central Bureau, Public, 15.2).
- Cutzach, I.; Chatonnet, P. y Dubourdiou, D., **1999**. Study of the formation mechanisms of some volatile compounds during the aging of sweet fortified wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 47, 2837-2846.
- De Beer, D.; Joubert, E.; Marais, J.; du Toit, W.; Fourie, B. y Manley, M., **2008**. Characterization of Pinotage Wine During Maturation on Different Oak Products. *South African Journal for Enology and Viticulture*. 29, 39-49.
- De Coninck, G.; Jordão, A. M.; Ricardo-Da-Silva, J. M. y Laureano, O., **2006**. Evolution of phenolic composition and sensory properties in red wine aged in contact with Portuguese and French oak wood chips. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*. 40, 1, 25-34.
- Del Álamo, M.; Bernal, J. L. y Gomez-Cordoves, C., **2000**. Influence of the type of barrels and oak variety on the aging of a Ribera del Duero red wine. *Food Science and Technology International*. 6, 6, 483-493.
- Del Álamo, M.; Fernández, J. A. y De Castro, R., **2004a**. Changes in phenolic compounds and colour parameters of red wine aged with oak chips and in oak barrels. *Food Science and Technology International*. 10, 4, 233-241.
- Del Álamo, M.; Nevares, I. y Merino, S., **2004b**. Influence of different aging systems and oak woods on aged wine color and anthocyanin composition. *European Food Research and Technology*. 219, 2, 124-132.
- Del Álamo, M.; Casado, L.; Hernández, V. y Jiménez, J. J., **2004c**. Determination of free molecular phenolics and catechins in wine by solid phase extraction on polymeric cartridges and liquid chromatography with diode array detection. *Journal of Chromatography A*. 1049, 1-2, 97-105.
- Del Álamo, M.; Nevares, I.; Cárcel, L. M. y Navas, L., **2004d**. Analysis for low molecular weight phenolic compounds in a red wine aged in oak chips. *Analytica Chimica Acta*. 513, 1, 229-237.
- Del Álamo, M.; Fernández, J. A.; Merino, S.; Nevares, I.; Navas, L.M. y Cárcel, L.M., **2006a**. Envejecimiento de vinos tintos en sistemas alternativos a las barricas de roble. Parámetros básicos y edad química. *Viticultura y enología profesional*. Nº 104 Mayo/Junio, 27-33.

- Del Álamo, M. y Nevares, I., **2006b**. Wine aging in bottle from artificial systems (staves and chips) and oak woods: Anthocyanin composition. *Analytica Chimica Acta*. 563, 255-263.
- Del Álamo, M.; Nevares, I.; Gallego, L.; Martín, C. y Merino, S., **2008**. Aging markers from bottled red wine aged with chips, staves and barrels. *Analytica Chimica Acta*. 621, 1, 86-99.
- Del Álamo, M.; Nevares, I.; Gallego, L.; Fernández de Simón, B. y Cadahía, E., **2010**. Micro-oxygenation strategy depends on origin and size of oak chips or staves during accelerated red wine aging. *Analytica Chimica Acta*. 660, 1-2, 92-101.
- Devatine, A. y Mietton-Peuchot, M., **2009**. A Mathematical approach for oxygenation using micro bubbles. Application to the micro-oxygenation of wine. *Chemical Engineering Science*. 64, 1909-1917.
- Domínguez, C.; Guillén, D. A. y Barroso, C. G., **2001**. Automated solid-phase extraction for sample preparation followed by high-performance liquid chromatography with diode array and mass spectrometric detection for the analysis of resveratrol derivatives in wine. *Journal of Chromatography A*. 918, 2, 303-310.
- Du Toit, W.J.; Marais, J.; Pretorius, I.S. y Du Toit, M., **2006**. Oxygen in must and wine: A review. *South African Journal for Enology and Viticulture*. 27, 1, 76-94.
- Du Toit, W.J. **2008**. Micro-oxygenation in South Africa: Tendencies and recommendations. *Ossigeno e vino, Dal Ruolo Dell'Ossigeno alla Tecnica della Micro-ossigenazione*. 164-179.
- Es-Safi, N. E.; Fulcrand, H.; Cheynier, V. y Moutounet, M., **1999**. Studies on the acetaldehyde-induced condensation of (-)-epicatechin and malvidin 3-*o*-glucoside in a model solution system. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 47, 5, 2096-2102.
- Es-Safi, N.E.; Cheynier, V. y Moutounet, M., **2002a**. Interactions between Cyanidin 3-*o*-Glucoside and Furfural Derivatives and Their Impact on Food Color Changes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50, 20, 5586-5595.
- Es-Safi, N. E.; Cheynier, V. y Moutounet, M., **2002b**. Role of aldehydic derivatives in the condensation of phenolic compounds with emphasis on the sensorial properties of fruit-derived foods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50, 20, 5571-5585.
- Esteruelas, E.; Muñoz, A.M.; Sanz, M.; Fernández de Simón, B. y Cadahía, E., **2009**. Reflexiones sobre la madera de roble destinada en tonelería a la fabricación de alternativos Parte I: cepillado. *Enoviticultura*. Nº1, Septiembre/Octubre, 25-32.
- Fernández De Simón, B.; Cadahía, E.; Conde, E. y García-Vallejo, M. C., **1996a**. Low molecular weight phenolic compounds in Spanish oak woods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 44, 6, 1507-1511.
- Fernández de Simón, B.; Conde, E.; Cadahía, E. y García, M.C., **1996b**. Low-molecular-weight phenolic compounds in woods of Spanish, French and American oak. *Journal of the Science of Technology Tonnellerie*. 2, 13-23.
- Fernández De Simón, B.; Cadahía, E.; Conde, E. y García, M. C., **1999a**. Ellagitannins in woods of Spanish, French and American oaks. *Holzforschung*. 53, 2, 147-150.
- Fernández De Simón, B.; Cadahía, E.; Conde, E. y García, M.C., **1999b**. Evolution of phenolic compounds of Spanish oak wood during natural seasoning. First results. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 47, 4, 1687-1694.

- Fernández De Simón, B.; Cadahía, E. y Jalocha, J., **2003**. Volatile Compounds in a Spanish Red Wine Aged in Barrels Made of Spanish, French, and American Oak Wood. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51, 26, 7671-7678.
- Fernández De Simón, B.; Cadahía, E.; Hernández, T. y Estrella, I., **2006a**. Evolution of oak-related volatile compounds in a Spanish red wine during 2 years bottled, after aging in barrels made of Spanish, French and American oak wood. *Analytica Chimica Acta*. 563, 198-203.
- Fernández De Simón, B.; Sanz, M.; Cadahía, E.; Poveda, P. y Broto, M., **2006b**. Chemical characterization of oak heartwood from Spanish forests of *Quercus pyrenaica* Willd. Ellagitannins, low molecular weight phenolic and volatile compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 54, 21, 8314-8321.
- Fernández de Simón, B. y Cadahía, E., **2007**. Tratamiento de la madera de roble para tonelería. *Enología*. Nº 4, Septiembre/Octubre, 2-18.
- Fernández De Simón, B.; Cadahía, E.; Sanz, M.; Poveda, P.; Pérez, S.; Ortega, M. y González, C., **2008**. Volatile compounds and sensorial characterization of wines from four Spanish denominations of origin, aged in Spanish Rebollo (*Quercus pyrenaica* Willd.) oak wood barrels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 56, 19, 9046-9055.
- Fernández de Simón, B.; Cadahía, E.; Sanz, M. y Poveda, P., **2009**. Comportamiento del *Quercus pyrenaica* durante los procesos de tonelería. *5º Congreso forestal español, montes y sociedad: saber qué hacer*.
- Fernández De Simón, B.; Muiño, I. y Cadahía, E., **2010**. Characterization of volatile constituents in commercial oak wood chips. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 58, 17, 9587-9596.
- Flanzy, C., **2003**. *Enología: Fundamentos científicos y tecnológicos*. Ediciones Mundi Prensa, Madrid (España).
- Frangipane, M. T.; Santis, D. D. y Ceccarelli, A., **2007**. Influence of oak woods of different geographical origins on quality of wines aged in barriques and using oak chips. *Food Chemistry*. 103, 1, 46-54.
- Frankel, E.N.; Bosanek, C.A.; Meyer, A.S.; Silliman, K. y Kirk, L., **1998**. Commercial grape juices inhibit the in vitro oxidation of human low-density lipoproteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 46, 834-838.
- Gallego, L.; Nevares, I.; Fernández, J. A. y Del Álamo, M., **2011a**. Determination of low-molecular mass phenols in red wines: The influence of chips, staves, and micro-oxygenation during aging. *Food Science and Technology International*. 17, 5, 429-438.
- Gallego, L.; Del Álamo, M.; Nevares, I.; Fernández, J.A.; Fernández de Simón B. y Cadahía E., **2011b**. Phenolic compounds and sensorial characterization of wines aged with alternative to barrel products made of Spanish oak wood (*Quercus pyrenaica* Willd.). *Food Science and Technology International*. 18, 2, 151-165.
- Garde, T.; Rodríguez, S. y Ancín, C., **2002**. Volatile composition of aged wine in used barrels of French oak and of American oak. *Food Research International*. 35, 7, 603-610.

- Garde, T.; Torrea, D. y Ancín, C., **2004**. Accumulation of volatile compounds during ageing of two red wines with different composition. *Journal of Food Engineering*. 65, 3, 349-356.
- Garde, T. y Ancín, C., **2006**. Effect of oak barrel type on the volatile composition of wine: Storage time optimization. *Food Science and Technology*. 39, 3, 199-205.
- Garde, T.; Lorenzo, C.; Carot, J. M.; Jabaloyes, J.M.; Esteve, M.D. y Salinas, M.R., **2008**. Statistical differentiation of wines of different geographic origin and aged in barrel according to some volatile components and ethyl phenols. *Food Chemistry*. 111, 4, 1025-1031.
- Garde, T.; Lorenzo, C.; Carot, J.M.; Esteve, M.D.; Climent, M.D. y Salinas, M.R., **2010**. Effects of composition, storage time, geographic origin and oak type on the accumulation of some volatile oak compounds and ethyl phenols in wines. *Food Chemistry*. 122, 4, 1076-1082.
- Giménez, R.; López, H.; Villalón, M.; Navarro, M.; Olalla, M.; Cabrera, C. y López, M.C., **2001**. Study of vanillin, syringaldehyde and gallic acid content in oak wood and wine spirit mixtures: Influence of heat treatment and chip size. *Journal of Wine Research*. 12, 3, 175-182.
- Glories, Y., **1984a**. The color of red wines. *Connaissance de la vigne et du vin*. 18, 195-217.
- Glories, Y., **1984b**. The color of red wines. Part II. Measurement, derivation and interpretation. *Connaissance de la vigne et du vin*. 18, 253-271.
- Gómez, E. y Cano, M., **2011**. A review on micro-oxygenation of red wines: Claims, benefits and the underlying chemistry. *Food Chemistry*. 125, 1131-1140.
- Gómez García-Carpintero, E.; Gómez Gallego, M.A.; Sánchez-Palomo, E. y González Viñas, M.A., **2012**. Impact of alternative technique to ageing using oak chips in alcoholic or in malolactic fermentation on volatile and sensory composition of red wines. *Food Chemistry*. 134, 851-863.
- Guchu, E.; Díaz, M.C.; Pérez, M.S.; González, M.A. y Cabezudo, M.D., **2006**. Volatile composition and sensory characteristics of Chardonnay wines treated with American and Hungarian oak chips. *Food Chemistry*. 99, 350-359.
- Gutiérrez, V. L., **2002**. Sensory Descriptive Analysis between white wines fermented with oak chips and in barrels. *Journal of Food Science*. 67, 6, 2415-2419.
- Haslam, E., **1974**. Polyphenol-protein interactions *Biochemical Journal*. 139, 285-288.
- Hernández, T.; Estrella, I.; Dueñas, M.; Fernández De Simón, B. y Cadahía, E., **2007**. Influence of wood origin in the polyphenolic composition of a Spanish red wine aging in bottle, after storage in barrels of Spanish, French and American oak wood. *European Food Research and Technology*. 224, 6, 695-705.
- Hidalgo Togados, J., **2003**. Tratado de enología, volumen 2. Ediciones Mundi Prensa, Madrid (España).
- Iñiesta, J.A. y Ramírez, E., **2005**. Influencia de la micro-oxigenación en la estabilización del color de los vinos tintos. *Enólogos*. 39, 40-42.
- Iñiesta, J.A., **2006**. La micro-oxigenación al servicio de la enología. *Viticultura y enología profesional*. Nº 103, Marzo-Abril.

- Kallithraka, S.; Salacha, M.I. y Tzourou, I., **2009**. Changes in phenolic composition and antioxidant activity of white wine during bottle storage: Accelerated browning test versus bottle storage. *Food Chemistry*. 113, 2, 500-505.
- Koussissi, E.; Dourtoglou, V. G.; Ageloussis, G.; Paraskevopoulos, Y.; Dourtoglou, T.; Paterson, A. y Chatzilazarou, A., **2009**. Influence of toasting of oak chips on red wine maturation from sensory and gas chromatographic headspace analysis. *Food Chemistry*. 114, 4, 1503-1509.
- Lasanta, B. y Casp, A., **2004**. Influencia del tipo de roble utilizado en la crianza sobre el color y componentes volátiles mayoritarios de los vinos tintos. *III Congreso Español de Ingeniería de Alimentos*, 883-892.
- Malovaná, S.; García Montelongo, F.J.; Pérez, J.P. y Rodríguez-Delgado, M.A., **2001**. Optimization of simple preparation for the determination of trans-resveratrol and other polyphenolic compounds in wines by high performance liquid chromatography. *Analytica Chimica Acta*. 428, 2, 245-253.
- Martínez, J.; Rubio, P.; Ojeda, S., **2009**. Utilización de fragmentos de roble durante la maceración en vinos tintos. Incidencia del origen del roble sobre la composición y calidad sensorial. *Nuevos horizontes en la Viticultura y Enología*, 433-436.
- Martínez, J.; Barua, M. y Gutiérrez, A.R., **2006**. Influencia del origen del roble en la modificación de la composición aromática de los vinos durante la crianza. *Enólogos*. 40, 60-63.
- Martínez, J.; Ojeda, S. y Rubio, P., **2011**. Aporte aromático del roble español Quercus pyrenaica durante la crianza en barricas de vinos de Tempranillo. *Actualizaciones en Investigación Vitivinícola*, 555-558.
- Masquelier, J.; Michaud, J. y Triaud, J., **1965**. Fractionnement des leucoanthocyanes du vin. *Bulletin de la société de pharmacie de Bordeaux*. 104, 81-85.
- Matějček, D.; Mikeš, O.; Klejduš, B.; Štěrbová, D. y Kubáň, V., **2005**. Changes in contents of phenolic compounds during maturing of barrique red wines. *Food Chemistry*. 90, 4, 791-800.
- Monagas, M.; Gómez-Cordovés, C. y Bartolomé, B., **2005a**. Evolution of polyphenols in red wines from *Vitis vinifera* L. during aging in the bottle: I-Anthocyanins and pyranoanthocyanins. *European Food Research and Technology*. 220, 5-6, 607-614.
- Monagas, M.; Bartolomé, B. y Gómez-Cordovés, C., **2005b**. Evolution of polyphenols in red wines from *Vitis vinifera* L. during aging in the bottle: II-Non-anthocyanin phenolic compounds. *European Food Research and Technology*. 220, 3-4, 331-340.
- Monagas, M.; Suárez, R.; Gómez-Cordovés, C. y Bartolomé, B., **2005c**. Simultaneous determination of non-anthocyanin phenolic compounds in red wines by HPLC-DAD/ESI-MS. *American Journal of Enology and Viticulture*. 56, 2, 139-147.
- Monagas, M.; Bartolomé, B. y Gómez-Cordovés, C., **2006a**. Effect of the modifier (Graciano vs. Cabernet Sauvignon) on blends of Tempranillo wine during ageing in the bottle. I-Anthocyanins, pyranoanthocyanins and non-anthocyanin phenolics. *Food Science and Technology*. 39, 10, 1133-1142.
- Monagas, M.; Gómez-Cordovés, C. y Bartolomé, B., **2006b**. Evolution of the phenolic content of red wines from *Vitis vinifera* L. during ageing in bottle. *Food Chemistry*. 95, 3, 405-412.

- Monagas, M.; Martín, P. J.; Gómez-Cordovés, C. y Bartolomé, B., **2007**. Effect of the modifier (Graciano vs. Cabernet sauvignon) on blends of Tempranillo wine during ageing in the bottle. II-Colour and overall appreciation. *Food Science and Technology*. 40, 1, 107-115.
- Moutounet, M. y Mazauric, J.P., **2001**. L'oxygène dissous dans les vins: Les gaz en œnologie. *Revue Française d'Oenologie*. 186, 12-15.
- Nevares, I.; Del Álamo, M.; Cárcel, L. M.; Martín, C.; Gallego, L. y Crespo, R., **2007**. La micro-oxigenación flotante en el envejecimiento de vinos tintos en depósito. *XI Congreso Latino Americano de Viticultura y Enología*.
- Nevares, I. y Del Álamo, M., **2008**. Measurement of dissolved oxygen during red wines tank aging with chips and micro-oxygenation. *Analytica Chimica Acta*. 621, 1, 68-78.
- Nevares, I.; Del Álamo, M.; Cárcel, L. M.; Crespo, R.; Martín, C. y Gallego, L., **2009**. Measure the dissolved oxygen consumed by red wines in aging tanks. *Food and Bioprocess Technology*. 2, 3, 328-336.
- Orriols, I.; Formos, D.; Casas, J.L.; Losada, A. y López, C., **2011**. Estudio de la influencia de la tipología de la madera en la crianza de vinos de Mencía en Galicia. *Actualizaciones en Investigación Vitivinícola*, 591-594.
- Ortega, M.D.; Rivas, J.C.; Vicente, J.L. y Santos Buelga, C., **1994**. Diferenciación de variedades de uvas tintas por su composición antocianica. *Revista Española de Ciencia y Tecnología de Alimentos*. 34, 4, 409-426.
- Ortega, M.; Pérez, S.; Sánchez, M.; González, C.; Rivero-Pérez, M.D. y González, M.L., **2007**. La micro-oxigenación, una técnica para la mejora de la calidad de vinos tintos. Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León (Itacyl).
- Ortega, M.; Pérez, S.; Cano, E. y González, M.L., **2010**. Differences in the phenolic composition and sensory profile between red wines aged in oak barrels and wines aged with oak chips. *LWT - Food Science and Technology*. 43, 10, 1533-1541.
- Paul, R., **2002**. Micro-oxygenation- where now?. *Proceedings of the ASVO Seminar uses of gases in winemaking*. Australian Society of Viticulture and Oenologie. 23-27.
- Peña, A.; Hernández, T.; García, C.; Estrella, I. y Suárez, J.A., **2000**. A survey of phenolic compounds in Spanish wines of different geographical origin. *European Food Research and Technology*. 210, 445-448.
- Pérez, S.; Ortega, M.; Cano, E.; González, M. L., **2009**. The influence of oak wood chips, micro-oxygenation treatment, and grape variety on colour, and anthocyanin and phenolic composition of red wines. *Journal of Food Composition and Analysis*. 22, 3, 204-211.
- Pissarra, J.; Mateus, N.; Rivas-Gonzalo, J.; Santos Buelga, C. y De Freitas, V., **2003**. Reaction Between Malvidin 3-Glucoside and (+)-Catechin in Model Solutions Containing Different Aldehydes. *Journal of Food Science*. 68,2, 476-481.
- Pizarro, C.; Esteban-Díez, I.; Rodríguez-Tecedor, S. y González-Sáiz, J.M., **2013**. A sensory approach for the monitoring of accelerated red wine aging processes using multi-block methods. *Food Quality and Preference*. 28, 519-530.
- Puech, J. L., **1987**. Extraction of phenolic compounds from oak wood in model solutions and evolution of aromatic aldehydes in wines aged in oak barrels. *American Journal of Enology and Viticulture*. 38, 3, 236-238.

- Rebolo, S., **2007**. Estudio de la composición polifenólica de vinos tintos gallegos con D.O.: Ribeiro, Valdeorras y Ribeira Sacra. *Tesis Doctoral. Universidad de Santiago de Compostela*. España.
- Revilla, I.; Pérez, S.; González, M.L. y 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-Gayón, P. y Stonestreet, E., **1965**. Le dosage des anthocyanes dans le vins rouge. *Bulletin de la Société Chimique*. 9, 2649-2652.
- Ribéreau-Gayón, P. y Stonestreet, E., **1966**. Dosage des tanins du vin rouge et détermination de leur structure. *Analytical Chemistry*. 48, 188-201.
- Ribéreau-Gayón, P.; Glories, Y.; Maujean, A. y Dobourdiou, D., **2003**. Tratado de enología 2. Química del vino. Estabilización y tratamientos. Ediciones Mundi prensa, Madrid (España).
- Rodríguez, J.J.; Ortega, M.; Pérez, S.; González, C., **2009**. Volatile compounds of red wines macerated with Spanish, American, and French Oak chips. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 57, 14, 6383-6391.
- Sanz, M.; Fernández de Simón, B.; Cadahía, E.; Esteruelas, E.; Muñoz, A.M.; Hernández, M.T. y Estrella, I. **2012**. Polyphenolic profile as a useful tool to identify the wood used in wine aging. *Analytica Chimica acta*. 732, 33-45.
- Saucier, C.; Jourdes, M.; Glories, Y. y Quideau, S., **2006**. Extraction, detection and quantification of flavano-ellagitannins and ethylvescalagin in a Bordeaux red wine aged in oak barrels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 54, 7349-7354.
- Shahidi, F. y Naczk, M., **1995**. Food phenolics: Sources, Chemistry, Effects, Applications. Technomic publishing company.
- Silva, R., **2006**. Caracterización de un vino CV. Cabernet Sauvignon envejecido en barricas de roble Americano y francés tostadas por dos métodos. *Proyecto fin de carrera. Universidad de Santiago de Chile*.
- Singleton, V.L.; Rossi, J.A., **1965**. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*. 16, 3, 144-158.
- Somers, T.C. y Evans, M.E., **1977**. Spectral evaluation of young red wines. Anthocyanin equilibria, total phenolics, free and molecular SO<sub>2</sub>, chemical age. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 28, 3, 279-287.
- Sousa, C.; Mateus, N.; Perez-Alonso, J.; Santos-Buelga, C. y De Freitas, V., **2005**. Preliminary study of oaklins, a new class of brick-red catechinpyrylium pigments resulting from the reaction between catechin and wood aldehydes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53, 23, 9249-9256.
- Spillman, P.J.; Iland, P.G. y Sefton, M.A., **1998**. Accumulation of volatile oak compounds in a model wine stored in American and Limousin oak barrels. *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 4, 2, 67-73.
- Swain, T. y Hillis, W.E., **1959**. The phenolic constituents of *Prunus domestica*. I-The quantitative analysis of phenolic constituents. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 10, 1, 63-68.

- Timberlake, C. F. y Bridle, P., **1976**. Interactions between anthocyanins, phenolic compounds and acetaldehyde and their significance in red wines. *American Journal of Enology and Viticulture*. 27, 3, 97-105.
- Valls, J.; Lampreave, M.; Nadal, M. y Arola, L., **2000**. Importancia de los compuestos fenólicos en la calidad de los vinos tintos de crianza. *Alimentación: equipos y tecnología*, 119-124.
- Van de Wiel, A.; Van Golde, P. H. y Hart, H. C., **2001**. Blessings of the grape. *European Journal of Internal Medicine*. 12, 6, 484-489.
- Vivas, N., **2005**. Manual de tonelería. Ediciones Mundi Prensa, Madrid (España).
- [www.conocimientoytecnologia.org](http://www.conocimientoytecnologia.org)
- [www.genuardis.net](http://www.genuardis.net)
- [www.jcyl.es](http://www.jcyl.es)
- [www.merck-chemicals.com](http://www.merck-chemicals.com)
- [www.mivino.es](http://www.mivino.es)
- [www.oenodev.com](http://www.oenodev.com)
- [www.pyrenaica.es](http://www.pyrenaica.es)
- [www.sigma.com](http://www.sigma.com)
- [www.silvicultura.wikispaces.com](http://www.silvicultura.wikispaces.com)
- [wwwsp.inia.es](http://wwwsp.inia.es)
- [www.wikipedia.es](http://www.wikipedia.es)
- Zamora, F., **2003**. Elaboración y crianza del vino tinto: aspectos científicos y prácticos. Ediciones Mundi Prensa, Madrid (España).

## Lista de tablas

Tabla 1- Compuestos fenólicos procedentes de la madera de roble.....	17
Tabla 2- Compuestos volátiles procedentes de la madera de roble.....	20
Tabla 3- Superficie y volumen de <i>Quercus pyrenaica</i> Willd. en Castilla y León.....	24
Tabla 4- Estudios del envejecimiento de vinos con barricas de roble español.....	26
Tabla 5- Estudios de la composición química de diferentes tipos de madera.....	32
Tabla 6- Estudios del envejecimiento de vinos y brandies con productos alternativos a las barricas.....	41
Tabla 7- Sustituyentes de los principales flavanoles.....	57
Tabla 8- Sustituyentes de los diferentes antocianos.....	58
Tabla 9- Sustituyentes de los flavanoles monoméricos.....	59
Tabla 10- Estudios realizados por diversos autores con barricas.....	64
Tabla 11- Estudios realizados por diversos autores durante la crianza en botella.....	70
Tabla 12- Parámetros químicos del vino inicial empleado en el experimento.....	77
Tabla 13- Peso de las astillas añadidas a los depósitos.....	78
Tabla 14- Distribución esquemática del experimento con astillas y tablonces de roble.....	79
Tabla 15- Fechas con los muestreos y catas del experimento.....	80
Tabla 16- Relación de métodos de análisis de los parámetros básicos.....	81
Tabla 17- Resultados de la repetitividad y reproducibilidad del método y % de recuperación de los compuestos estudiados.....	96
Tabla 18- Condiciones cromatográficas empleadas para el análisis de los compuestos fenólicos de bajo peso molecular.....	97
Tabla 19- Compuestos fenólicos de bajo peso molecular identificados y cuantificados en los vinos tintos estudiados.....	99
Tabla 20- Relación de absorbancias.....	100
Tabla 21- Características de la calibración.....	100
Tabla 22- Condiciones cromatográficas empleadas para la identificación y cuantificación de los compuestos antociánicos.....	102
Tabla 23- Antocianos identificados y cuantificados en los vinos tintos estudiados.....	103
Tabla 24- Resultados del análisis de varianza de los parámetros evaluados en los vinos tras 6 meses de permanencia con la madera.....	110
Tabla 25- Resultados del análisis de varianza de los parámetros evaluados en los vinos tras 6 meses de botella.....	112
Tabla 26- Resultados del análisis de varianza de los parámetros evaluados en los vinos tras 18 meses de botella.....	113
Tabla 27- Resultados del análisis discriminante llevado a cabo en vinos tintos tratados con astillas y tablonces de roble español, americano y francés.....	114
Tabla 28- Valor medio para cada atributo evaluado después de 6 meses de envejecimiento del vino con astillas y tablonces de roble español, americano y francés y micro-oxigenación.....	117
Tabla 29- Valor medio para cada atributo evaluado después de 6 meses de envejecimiento del vino con astillas y tablonces de roble español, americano y francés y micro-oxigenación y 6 meses de botella.....	118

Tabla 30- Valor medio para cada atributo evaluado después de 6 meses de envejecimiento del vino con astillas y tablonos de roble español, americano y francés y micro-oxigenación y 18 meses de botella .....	119
Tabla 31- Nivel de correlación entre el consumo total de oxígeno (TCO) y los atributos estudiados en el análisis sensorial de los vinos .....	122
Tabla 32- Dosis llevadas a cabo durante la micro-oxigenación flotante en el envejecimiento de los vinos.....	125
Tabla 33- Coeficientes de correlación entre los parámetros analizados y el oxígeno consumido por los vinos según el origen del roble y el sistema de envejecimiento.....	127
Tabla 34- Contenido promedio de compuestos de bajo peso molecular (mg/L) presentes en el vino en función del tamaño de la madera y origen del roble durante el envejecimiento en madera y resultados de la ANOVA .....	133
Tabla 35- Contenido promedio de compuestos de bajo peso molecular (mg/L) presentes en el vino en función del tamaño de la madera y origen del roble durante el envejecimiento en botella y resultados de la ANOVA .....	133
Tabla 36- Resultados del análisis discriminante de los vinos envejecidos con astillas y tablonos de roble español, americano y francés en dos periodos diferentes (madera y botella) .....	148
Tabla 37- Contenido promedio de los parámetros básicos de los vinos en función del tamaño de la madera y origen del roble durante el envejecimiento en madera y resultados de la ANOVA.....	157
Tabla 38- Contenido promedio de los parámetros básicos de los vinos en función del tamaño de la madera y origen del roble durante el período de botella y resultados de la ANOVA.....	157
Tabla 39- Contenido promedio de las familias de compuestos fenólicos presentes en el vino en función del tamaño de la madera y origen del roble durante el envejecimiento en madera y resultados de la ANOVA.....	158
Tabla 40- Contenido promedio de las familias de compuestos fenólicos presentes en el vino en función del tamaño de la madera y origen del roble durante el período de botella y resultados de la ANOVA.....	159
Tabla 41- Contenido promedio de los componentes del color en el vino en función del tamaño de la madera y origen del roble durante el envejecimiento en madera y resultados de la ANOVA.....	160
Tabla 42- Contenido promedio de los componentes del color en el vino en función del tamaño de la madera y origen del roble durante el período de botella y resultados de la ANOVA.....	160
Tabla 43- Contenido medio de los compuestos antociánicos (mg/L) en el vino cuantificados mediante HPLC en función del tamaño de la madera y origen del roble durante el envejecimiento en madera y resultados de la ANOVA .....	161
Tabla 44- Contenido medio de los compuestos antociánicos (mg/L) en el vino cuantificados mediante HPLC en función del tamaño de la madera y origen del roble durante el periodo de botella y resultados de la ANOVA .....	161

## Lista de figuras

Figura 1- Distribución de <i>Quercus petraea</i> Liebl. en Europa .....	13
Figura 2-Distribución de <i>Quercus robur</i> L. en Europa .....	13
Figura 3-Corte de la madera de roble .....	15
Figura 4- Esquema de cortes de la madera para la obtención de duelas .....	15
Figura 5- Procesos de curvado y tostado de las barricas .....	16
Figura 6- Estructura química de los ácidos gálico y elágico .....	17
Figura 7- Estructura química taninos gálicos .....	17
Figura 8- Estructura química de los taninos elágicos .....	18
Figura 9- Estructura química de las cumarinas .....	18
Figura 10- Estructura química de los flavanoles .....	19
Figura 11- Estructura de los pigmentos catequinpirilium resultantes de la reacción entre catequina y coniferaldehído o sinapaldehído .....	19
Figura 12- Estructura química de los furanos .....	20
Figura 13- Estructura química heterociclos nitrogenados .....	21
Figura 14- Origen de los compuestos furánicos y otros heterociclos .....	21
Figura 15- Estructura química de aldehídos fenólicos .....	22
Figura 16- Estructura química de las fenil cetonas .....	22
Figura 17- Estructura química fenoles volátiles .....	22
Figura 18- Estructura química de $\beta$ -metil- $\gamma$ octolactona .....	22
Figura 19- Distribución mundial de <i>Q. pyrenaica</i> Willd. ....	23
Figura 20- Distribución de <i>Quercus pyrenaica</i> Willd. en España ,.....	23
Figura 21- Superficie de <i>Quercus pyrenaica</i> Willd. en Castilla y León (%) .....	24
Figura 22- Polvo y granulado de madera de roble .....	27
Figura 23- Astillas de roble .....	28
Figura 24- Fragmentos de madera de roble, cubos y bloques .....	28
Figura 25- Tablones de roble y sistema mediante bastidores de acero .....	28
Figura 26- Partes de la madera en un tronco de roble para la fabricación de productos alternativos a las barricas.....	29
Figura 27- Solubilidad del oxígeno en medios hidroalcohólicos dependiendo de la temperatura a la presión atmosférica .....	47
Figura 28- Micro-oxigenador y difusor cerámico para el aporte de oxígeno al vino .....	48
Figura 29- Modelo de micro-oxigenación considerando la altura del líquido H correspondiente a la transferencia total de oxígeno en función del diámetro de la burbuja .....	48
Figura 30- Clasificación general de los compuestos fenólicos .....	55
Figura 31- Compuestos fenólicos derivados del ácido benzóico .....	56
Figura 32- Compuestos fenólicos derivados del ácido cinámico .....	56
Figura 33- Estructura del resveratrol .....	56
Figura 34- 2-fenil benzopirona .....	57
Figura 35- Estructura química de los flavonoles .....	57
Figura 36- Estructura química de los flavanoles .....	57
Figura 37- Estructura química de los antocianos .....	58
Figura 38- Antocianos mayoritarios en <i>Vitis Vinifera</i> .....	58
Figura 39- Estructura química de los flavanoles monoméricos .....	59

Figura 40- Nuevos pigmentos identificadas en el vino .....	61
Figura 41- Formación de nuevos pigmentos anaranjados o azulados a partir de malvidin.....	62
Figura 42- Depósitos de acero inoxidable empleados en el experimento.....	78
Figura 43- Paneles de control de los micro-oxigenadores .....	78
Figura 44- Esquema de distribución del experimento llevado a cabo en la sala de crianza .....	79
Figura 45- Recta de calibrado de polifenoles .....	82
Figura 46- Recta de calibrado de catequinas .....	89
Figura 47- Espacio CIELab de color .....	94
Figura 48- Equipo para la extracción en fase sólida.....	97
Figura 49- Cromatograma correspondiente a la mezcla 1 de patrones.....	101
Figura 50- Cromatograma correspondiente a la mezcla 2 de patrones.....	101
Figura 51- HPLC-DAD 1100 .....	102
Figura 52- Cromatograma de un vino tinto envejecido durante cuatro meses con astillas de <i>Quercus pyrenaica</i> Willd. y micro-oxigenación .....	103
Figura 53- Recta de calibrado de Mv 3-gl para los antocianos mayoritarios.....	104
Figura 54- Recta de calibrado de Mv 3-gl para los antocianos minoritarios.....	104
Figura 55- Sala de cata donde se realizó el análisis sensorial de los vinos estudiados.....	106
Figura 56- Medidas del catavino empleado para el análisis sensorial .....	106
Figura 57- Ficha de cata descriptiva empleada en la evaluación de los vinos analizados .....	107
Figura 58- Representación de las funciones canónicas 1 y 2 durante el periodo de envejecimiento del vino con la madera .....	115
Figura 59- Representación de las funciones canónicas 1 y 2 durante el periodo de botella de los vinos analizados .....	116
Figura 60- Perfil sensorial de los vinos envejecidos con astillas y tablonés de roble español, americano y francés en los diferentes periodos estudiados.....	120
Figura 61- Evolución del consumo de oxígeno en los vinos envejecidos con productos alternativos (astillas y tablonés) de roble francés, americano y español con FMOX .....	125
Figura 62- Representación gráfica de las regresiones obtenidas entre la correlación del oxígeno total consumido y 5HMF, cicloteno, eugenol y Cis W-lactona en los vinos envejecidos con astillas y tablonés de roble francés, americano y español con FMOX.....	128
Figura 63- Representación gráfica de las regresiones obtenidas entre la correlación del oxígeno total consumido y antocianos totales, Mv-3-gl, Pt-3-gl y Scum en los vinos envejecidos con astillas y tablonés de roble francés, americano y español con FMOX.....	130
Figura 64- Representación gráfica de las regresiones obtenidas entre la correlación del oxígeno total consumido y catequina, Ep, parámetro i de edad química y A620(%) en los vinos envejecidos con astillas y tablonés de roble francés, americano y español con FMOX .....	131
Figura 65- Evolución del ácido gálico (mg/L) durante el envejecimiento en madera y botella de los vinos con astillas y tablonés de roble .....	135
Figura 66- Evolución del ácido siríngico (mg/L) de los vinos con astillas y tablonés de roble francés, americano y español durante el contacto vino-madera y periodo de botella .....	136
Figura 67- Evolución del ácido protocatéquico (mg/L) durante el envejecimiento en madera y botella en vinos con astillas y tablonés de roble .....	137
Figura 68- Evolución del pOHbenzaldehído (mg/L) en vinos tratados con astillas y tablonés de roble tras su envejecimiento en madera y periodo de botella .....	138

Figura 69- Evolución del ácido p-cumárico (mg/L) en el vino tratado con astillas y tablonos de diferentes orígenes durante el envejecimiento en madera y botella .....	139
Figura 70- Evolución del ácido trans-cutárico en vinos con astillas y tablonos durante su envejecimiento en madera y periodo de botella .....	140
Figura 71- Evolución del ácido caféico (mg/L) en vinos tintos tratados con astillas y tablonos de roble durante el periodo de contacto del vino-madera y botella .....	140
Figura 72- Evolución del contenido del ácido trans-caftárico (mg/L) en vinos tintos tratados con astillas y tablonos de roble durante su envejecimiento en madera y botella .....	141
Figura 73- Evolución del contenido de ácido clorogénico (mg/L) durante envejecimiento en madera y periodo de botella en vinos tintos con productos alternativos de roble .....	142
Figura 74- Evolución del contenido de 5HMF (mg/L) en vinos tintos envejecidos con astillas y tablonos de roble durante el periodo de contacto vino-madera y botella .....	143
Figura 75- Evolución del furfural (mg/L) durante el envejecimiento en madera y periodo de botella en vinos tintos tratados con astillas y tablonos de roble.....	144
Figura 76- Evolución de vainillina (mg/L) en vinos tintos tratados con productos alternativos a las barricas durante su envejecimiento en madera y periodo de botella .....	145
Figura 77- Evolución de la catequina (mg/L) tras el envejecimiento en madera y botella de vinos tintos con astillas y tablonos de roble .....	147
Figura 78- Evolución de epicatequina (mg/L) en vinos tintos tratados con astillas y tablonos de roble durante su envejecimiento en madera y periodo de botella .....	147
Figura 79- Representación del análisis discriminante de los vinos envejecidos durante 6 meses con roble francés, americano y español .....	149
Figura 80- Representación del análisis discriminante de los vinos envejecidos durante 24 meses en botella, tras su envejecimiento con roble americano, francés y español.....	151



**Capítulo 2- Efecto del secado y del tostado de los productos alternativos fabricados con *Quercus pyrenaica* Willd. en las propiedades de los vinos envejecidos**



---

Resumen.....	181
1- Introducción .....	181
1.1. El secado de la madera de roble para la fabricación de productos alternativos a las barricas de roble .....	182
1.1.1. Secado tradicional .....	183
1.1.2. Secado acelerado o artificial .....	185
1.2. El tostado de la madera de roble para la fabricación de productos alternativos a la barrica de roble .....	186
1.2.1. Tostado de astillas en tambor por convección .....	188
1.2.2. Tostado de tablones e insertos por convección.....	189
1.2.3. Factores que determinan el tostado industrial de productos alternativos .....	190
2- Objetivos .....	195
3- Materiales y métodos .....	197
3.1. Vino .....	197
3.2. Experimento con astillas .....	197
3.2.1. Madera para la fabricación de las astillas .....	197
3.2.2. Dosificación de las astillas .....	200
3.2.3. Micro-oxigenación en depósitos con astillas .....	201
3.2.4. Diseño del experimento con astillas .....	201
3.2.5. Muestreos de los vinos envejecidos con astillas.....	203
3.3. Experimento con tablones .....	203
3.3.1. Madera para la fabricación de tablones .....	203
3.3.2. Dosificación de los tablones.....	205
3.3.3. Micro-oxigenación en los depósitos con tablones.....	206
3.3.4. Diseño del experimento con tablones .....	206
3.3.5. Muestreos de los vinos envejecidos con tablones.....	207
3.4. Análisis de laboratorio.....	208
3.4.1. Determinación de los parámetros básicos de vino .....	208
3.4.2. Análisis de familias de compuestos fenólicos del vino .....	208
3.4.3. Índices del vino.....	208
3.4.3.1. Determinación del índice de HCl.....	208
3.4.4. Determinación de la edad química del vino.....	209
3.4.5. Determinación de los parámetros de copigmentación del vino .....	209
3.4.6. Determinación de los parámetros cromáticos del vino .....	209
3.4.7. Determinación de fenoles volátiles del vino procedentes de la madera mediante cromatografía de gases.....	210
3.4.7.1. Preparación de la muestra .....	210
3.4.7.2. Análisis mediante cromatografía de gases.....	210

3.4.7.3. Condiciones de la detección y cuantificación .....	211
3.4.7.4. Porcentaje de extracción.....	212
3.4.8. Determinación de compuestos no volátiles de bajo peso molecular del vino mediante HPLC.....	213
3.4.9. Determinación de los antocianos pormenorizados del vino mediante HPLC.....	214
3.4.10. Análisis sensorial del vino.....	214
3.4.11. Análisis estadístico .....	214
4- Resultados y discusión .....	217
4.1. Evolución del vino en madera y en botella .....	217
4.1.1. Parámetros básicos del vino.....	217
4.1.2. Familias de compuestos fenólicos, índices, edad química y parámetros de copigmentación en los vinos.....	228
4.1.3. Parámetros cromáticos del vino .....	253
4.1.4. Componentes volátiles procedentes de la madera de roble .....	266
4.1.5. Compuestos fenólicos no volátiles de bajo peso molecular .....	286
4.1.6. Compuestos fenólicos antocianos.....	300
4.1.7. Análisis sensorial del vino.....	318
4.1.7.1. Análisis sensorial de los vinos tintos envejecidos con astillas de roble <i>Quercus pyrenaica</i> Willd.....	318
4.1.7.2. Análisis sensorial de los vinos tintos envejecidos con tablonos de roble <i>Quercus pyrenaica</i> Willd.....	328
4.2. Análisis discriminante.....	334
5- Conclusiones.....	347
6- Bibliografía .....	351
Lista de tablas.....	355
Lista de figuras .....	357
Anejo II- Publicaciones.....	363

## **Capítulo 2- Introducción**



## Resumen

Los procesos de secado y tostado que se realizan a la madera de roble para la obtención de los productos alternativos a las barricas son semejantes a los realizados para la fabricación de las barricas. Sin embargo, la estructura física (tamaño y dimensiones) de los productos alternativos a las barricas hace necesario adecuar dichos procesos al tamaño y tipo de madera del producto alternativo.

En el presente capítulo se analiza la importancia que tiene el tipo de secado y el grado de tostado de la madera *Quercus pyrenaica* Willd. empleada para la fabricación de astillas y tabloncillos que posteriormente se usarán para el envejecimiento del vino. Según se ha indicado en el capítulo anterior y en base a los resultados obtenidos, se trata de dos procesos clave en la definición de las propiedades de los productos alternativos, y en el caso de la madera de rebollo (*Quercus pyrenaica* Willd.) se hace necesario ponerlos a punto para que la madera desarrolle las características necesarias para realizar un adecuado proceso de envejecimiento al vino. En este capítulo se presentan los resultados del estudio de un mismo vino tinto envejecido con astillas y tabloncillos fabricados a partir de madera de rebollo (*Quercus pyrenaica* Willd.) sometida a 2 tipos de secado (secado acelerado y secado tradicional) y 3 niveles de tostado (ligero, medio y fuerte). Concretamente se ha realizado el seguimiento de la evolución (físico-química y sensorial) de los vinos durante su permanencia en contacto con la madera y posteriormente su estancia en botella.

### 1- Introducción

En el capítulo 1 se han descrito las características de los vinos que han sido tratados con madera de *Quercus pyrenaica* Willd. y su comparación con el mismo vino tratado con las maderas empleadas tradicionalmente para el envejecimiento de los vinos (*Q. alba*, *Q. sessilis*). Los resultados han indicado que la madera de *Quercus pyrenaica* Willd. es perfectamente apta para el envejecimiento de vinos de calidad con productos alternativos, y centrándonos en el estudio sensorial de los vinos obtenidos, se podría decir que siendo unos vinos muy bien valorados por los catadores se evaluaron como demasiado maderizados. Este efecto hace necesario tener muy en cuenta las dos etapas fundamentales en el proceso de producción de la madera, el secado o curado y el tostado, ya que en estas fases la madera adquiere las propiedades que durante el envejecimiento van a influir en las características químicas y sensoriales de los vinos. Por lo tanto es importante adecuar estas etapas para lograr una madera de *Quercus pyrenaica* Willd. (rebollo) con las propiedades adecuadas para el envejecimiento de vinos.

Existen una serie de factores que influyen en la composición fenólica de los vinos además de las características propias del vino, como son la especie de roble empleado (origen y tratamiento selvicultural), el procesado de la madera en la tonelería, el tipo de secado (natural o acelerado) y el grado de tostado de la madera (Fernández de Simón y col., 2006, 2008; Sanz y col., 2012; Pizarro y col., 2013).

El grupo de investigación de Fernández de Simón estudió durante el año 2009 el comportamiento de la madera de *Quercus pyrenaica* Willd. durante los procesos de tonelería para la fabricación de barricas. Observaron que la madera respondía a estos tratamientos de

manera semejante a las maderas habitualmente empleadas en tonelería. Con el secado natural de la madera se favorece el posterior impacto aromático positivo en la interacción con el vino, ya que se ha observado que en la madera de *Quercus pyrenaica* Willd. se produce una modificación en las concentraciones de los compuestos volátiles de manera similar a lo que ocurre a la madera francesa o americana. Destacando por un lado los altos niveles del isómero cis de la  $\beta$ -metil- $\gamma$ - octolactona (W-lactona), el incremento en la concentración de compuestos fenólicos provenientes de la degradación de la lignina, y los altos niveles de elagitaninos encontrados en esta madera que son algo superiores a los detectados en otras maderas de roble europeo (*Quercus petraea* francés o navarro). Por otro lado, el tostado de la madera va a producir un incremento en la concentración de compuestos fenólicos de bajo peso molecular (especialmente aldehídos fenólicos), un descenso de los elagitaninos (responsables de la astringencia) y un aumento, a veces considerable, de los compuestos volátiles (excepto de cis W-lactona). Con el tostado de la madera de *Quercus pyrenaica* Willd. se persigue un aumento de su potencial aromático, disminuyendo su astringencia y por ello, obteniendo una madera equilibrada en su composición tánica y rica en compuestos aromáticos, siendo sus niveles similares o superiores a los detectados en el roble francés o americano (Fernández de Simón y col., 2009).

También observaron que la madera de *Quercus pyrenaica* Willd. presentaba una alta sensibilidad al proceso de tostado, debido a dos aspectos:

- La destrucción de elagitaninos con el tostado fuerte (también llamado medio plus), consiguiendo valores similares a los presentados por el roble americano, cuya madera se caracteriza por presentar bajos niveles de estos compuestos. Por lo tanto, la temperatura es muy importante a la hora de programar una intensidad de tostado.
- La destrucción de cis y trans W-lactona producida con el tostado medio, los niveles obtenidos son intermedios entre los detectados en madera francesa (*Quercus petraea*) y americana (*Quercus alba*). Habitualmente con el aumento de la intensidad de tostado las W-lactonas disminuyen. Este resultado es beneficioso para la calidad final de la madera, debido a que la cantidad de cis W-lactona detectada en la madera seca puede dar lugar a niveles excesivamente altos de estos compuestos en los vinos, pudiendo provocar caracteres organolépticos indeseables.

Sin embargo, estos resultados sólo se han constatado en el tratamiento de la madera para la fabricación de barricas, y aunque la fabricación de productos alternativos pretende modificaciones semejantes en la madera, es necesario indicar que se trata de procesos radicalmente distintos y que por ello se hace necesario profundizar en su análisis y optimización en función del tipo de producto fabricado (Fernández de Simón y col., 2009).

### **1.1. El secado de la madera de roble para la fabricación de productos alternativos a las barricas de roble**

La madera fresca no puede ser empleada en la fabricación de barricas ni productos alternativos de madera de roble para el envejecimiento de los vinos, ya que contiene entre un 35-60% de agua. Los compuestos extraíbles de esta madera fresca no van a mejorar la calidad

de los vinos, ya que poseen muchos compuestos fenólicos de gusto amargo (exceso de elagitaninos, cumarinas, etc.), y muy pocos compuestos aromáticos interesantes. Por ello, es necesario realizar una serie de tratamientos que influyen y definen su calidad enológica, especialmente importantes son el secado y el tostado, ya que van a afectar a la estructura y a la composición química final de la madera, y por ello a las propiedades del vino (Chatonnet, 2007; Cadahía y col., 2008).

### 1.1.1. Secado tradicional

Este tipo de secado se realiza de modo natural colocando los fardos de madera en pilas a la intemperie, suele tener una duración de 2 o 3 años (figura 1). Durante este tiempo se produce una contracción de las fibras y se reduce la humedad de la madera hasta un valor medio del 15%, esta reducción es variable según las condiciones ambientales donde se realice. Durante el proceso de secado la madera va a pasar por fases de deshidratación, fases de rehumectación de los primeros milímetros de la madera y fases con una higrometría constante. Además de esta deshidratación en la madera, se produce una etapa de curado lenta y compleja en la que se pasa de una madera verde y agresiva a una madera seca y aromática, donde los elementos solubles son más suaves y agradables, perdiendo amargor y astringencia. Se va a producir una disminución del contenido de elagitaninos, y de determinados componentes volátiles que se relacionan con la aparición de un carácter vegetal en los vinos. Además se produce un incremento de compuestos que provienen de la hidrólisis de la lignina (aldehídos fenólicos y fenoles volátiles) y de algunos lípidos (isómeros cis y trans de la  $\beta$ -metil- $\gamma$ -octolactona). Esto es debido a una serie de reacciones bioquímicas que se ven influidas por los mecanismos físicos asociados a la pluviosidad, las radiaciones ultravioletas y a las variaciones de temperatura (amplitudes térmicas), como son los procesos de lixiviación y de degradación hidrolítica oxidativa (Hidalgo, 2003; Zamora, 2003; Cadahía y col., 2008).

Debido a la exposición continua de la madera a la intemperie, es importante también la actividad fúngica (hongos microscópicos) que se va a desarrollar en la superficie de la madera, fundamentalmente *Aurobasidium pullulans*, *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma kominjii*, de forma que van a producir los siguientes fenómenos (Hidalgo, 2003):

- Reducción del color y la astringencia de la madera, especialmente los taninos elágicos debido a las oxidaciones del aire y la acción de los hongos ya citados.
- Hidrólisis de las cumarinas glicosiladas de sabor amargo, la aesculina y escopolina, que se transforman en sus agliconas de sabor más suave y algo ácido, la aesculetina y escopoletina.
- Aumento de la concentración de diversos compuestos aromáticos (vainillina, eugenol, aldehído siríngico e isómero cis de  $\beta$ -metil- $\gamma$ -octolactona, isómero más aromático).

La madera empleada para la fabricación de productos alternativos a las barricas también debe llevar el tiempo de secado suficiente con el correcto apilamiento de las piezas de madera de manera que se optimicen los intercambios entre la madera y la atmósfera. Generalmente la madera se almacena en fardos (figuras 1 y 2), con las piezas literalmente pegadas unas a otras, lo que impide una correcta aireación de parte de la madera. Para afinar perfectamente la

madera antes de su transformación es indispensable utilizar un modo de apilamiento adecuado durante un tiempo de maduración suficiente (Chatonnet, 2007).



Figura 1- Secado tradicional al aire libre (fuente: elaboración propia)



Figura 2- Almacenamiento al aire de madera para fabricación de productos alternativos en fardos (fuente: elaboración propia)

El secado tradicional o al aire libre presenta una serie de ventajas ([www.demptos.fr](http://www.demptos.fr), fecha de consulta: abril 2013):

- El curado de la madera desempeña un papel crucial en la revelación de los caracteres aromáticos que determinan la calidad de la madera.
- Durante el secado natural, la lluvia actúa como un mecanismo físico que permite lavar y eliminar los taninos más astringentes.
- El desarrollo de ciertas cepas de hongos durante el secado al aire libre contribuye a la evolución del perfil fenólico de la madera, haciendo que la transformación de la lignina en vainillina sea mucho más eficaz que en el secado acelerado o artificial.
- Un secado defectuoso de la madera produce compuestos excesivamente astringentes, poco aromáticos, y con un peculiar olor a “tablón” de carácter desagradable producido por aldehídos insaturados. Además, en la superficie de la madera secada a la intemperie pueden surgir malos olores debidos a la colonización de hongos (Hidalgo, 2003).

### 1.1.2. Secado acelerado o artificial

Este tipo de secado surge debido al elevado coste y el excesivo tiempo del secado tradicional, de forma que el secado acelerado permite acortar el periodo de secado de la madera. Este tipo de secado consiste en una deshidratación de la madera hasta alcanzar el nivel necesario, de forma que se introduce en una cámara de secado, con un ambiente saturado de humedad y con aire cálido durante varias semanas. En este tiempo se va a alcanzar el porcentaje de humedad hasta los niveles deseados, pero sin producirse apenas los fenómenos de lavado o de hidrólisis que mejoran las características sensoriales de la madera, de forma que se van a obtener maderas equilibradas en humedad pero con un elevado contenido en taninos y escaso contenido aromático (Hidalgo, 2003; Zamora, 2003). En la figura 3 se muestra un horno para el secado de la madera.

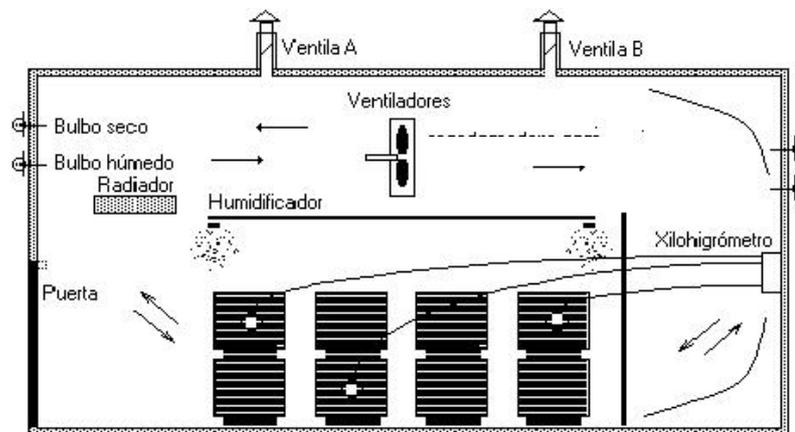


Figura 3- Horno para el secado de la madera (fuente: [www.secadomadera.com](http://www.secadomadera.com))

Además del secado acelerado se puede realizar un secado mixto, donde se alterna el secado al aire libre durante un periodo reducido de 12 a 15 meses, para eliminar las impurezas contenidas en el roble, y luego realizar un secado acelerado en una estufa, para conseguir el grado de humedad deseado. De esta forma se va a reducir de manera importante el coste del secado tradicional y se acelera el proceso de secado, aunque bajo el punto de vista de calidad el resultado final no será tan bueno como la madera secada de forma tradicional (Hidalgo, 2003; Zamora, 2003). En la figura 4 se muestra un esquema de los dos tipos de secado empleados en el tratamiento de la madera.



Figura 4- Sistemas de secado (fuente: adaptado de Zamora, 2003)

## 1.2. El tostado de la madera de roble para la fabricación de productos alternativos a la barrica de roble

La etapa de tostado tiene una mayor influencia en la composición química final de la madera que la etapa de secado, ya que el calor provoca una serie de transformaciones químicas y la degradación de la madera (lignina, poliósidos, polifenoles y lípidos) que modifican el conjunto de sustancias que la madera podrá aportar al vino e incluso la aparición de nuevas sustancias volátiles y odorantes. El tiempo de contacto de la madera con el calor determinará que estas transformaciones sean de mayor o menor intensidad, y por lo tanto el tiempo de tostado influirá en gran medida sobre el aporte químico y sensorial que la madera transferirá al vino. En particular, con la termodegradación de la lignina se van a formar fenoles volátiles y aldehídos fenólicos, los derivados del furfural aparecen por la degradación de los polímeros glicosídicos y las lactonas a partir de los lípidos (Chatonnet, 2007; Cadahía y *col.*, 2008).

El tostado de la madera, además de permitir la formación de nuevos compuestos, es capaz de eliminar el exceso de taninos y de sustancias amargas que a veces presenta la madera y que pueden pasar al vino. Este efecto se acentúa al aumentar el tiempo y la temperatura de tostado, pudiendo eliminar totalmente los elagitaninos de la capa superficial de la madera. Además es importante tener en cuenta que con el tostado el tonelero puede modular la expresión de la madera, a veces excesiva, reduciendo su contenido en *cis* y *trans* W-lactona y otros compuestos de carácter vegetal presentes en la madera antes del tostado (Chatonnet, 2007).

El tostado progresivo de la madera, produce una reducción de los taninos (llegando a perder entre un 20-70% según el nivel de tostado), se ha observado que la vescalagina y castalagina desaparecen totalmente a 160 °C, mientras que los ácidos gálico (250°C) y elágico (450 °C) son más resistentes a la acción del calor (Hidalgo, 2003). La madera que sufre un tostado ligero está marcada por los aromas de W-lactona (nuez de coco), incluso presenta una aportación muy alta de tanino elágico. Cuando se realiza un tostado medio, la madera presenta un mejor equilibrio entre las notas de nuez de coco, vainilla, tostado, ahumados y especias, en este caso el aporte de taninos elágicos complementa la estructura del vino. Finalmente, la madera con un tostado fuerte va a estar marcada por un exceso de notas ahumadas y de tostado, pudiendo otorgar al vino un carácter excesivamente torrefacto, la concentración en fenoles volátiles y furanos es superior que en los otros dos niveles de tostado.

El tostado de la madera produce una disminución importante de la astringencia, acompañado de un incremento de sustancias aromáticas, algunas sustancias nuevas procedentes de la termólisis de la madera y otras ya existentes en la madera de roble que han sido potenciadas con el tostado.

La cualidad y cantidad de las sustancias extraíbles de la madera de roble van a depender de las condiciones y el grado de tostado, aunque también influye el tipo de madera empleada, es decir la estructura y la composición química de la madera están directamente relacionadas con la especie y el origen geográfico. Por lo tanto es muy importante conocer la evolución que experimentan los componentes de la madera durante el proceso del tostado (Cadahía y *col.*, 2008).

Los compuestos aromáticos formados durante el proceso de tostado de la madera se presentan en la tabla 1.

Tabla 1- Sustancias aromáticas formadas en el proceso de tostado de la madera, nivel de percepción olfativa y aroma percibido (fuente: elaboración propia)

Sustancia	Nivel de percepción olfativa	Aroma percibido
<b>Derivados de la celulosa y pentosas</b>		
Ácido acético	-- (Hidalgo, 2003)	Vinagre
<b>Furanos:</b>		
Furfural	15 <sup>(Zamora, 2003)</sup> -20 <sup>(Fernández de Simón, 2008; Hidalgo, 2003)</sup> mg/L	Almendras tostadas
5MF	16 <sup>(Zamora, 2003)</sup> -45 <sup>(Fernández de Simón, 2008; Hidalgo, 2003)</sup> mg/L	Almendras tostadas
5HMF	15 <sup>(Fernández de Simón, 2008; Hidalgo, 2003; Zamora, 2003)</sup> mg/L	Almendras tostadas
Alcohol furfúrico	50 <sup>(Hidalgo, 2003; Zamora, 2003)</sup> mg/L	Heno cortado
<b>Maltol y otros heterociclos</b>		
<b>oxigenados:</b>		
Maltol	-- (Hidalgo, 2003; Zamora, 2003) - 5 <sup>(Fernández de Simón, 2008)</sup> mg/L	Tostado
Cicloteno	-- (Hidalgo, 2003)	Caramelo, pan tostado
3-metil-3 ciclohexen-5-ona	-- (Hidalgo, 2003)	Caramelo, pan tostado
3-metil-2-furanona	-- (Hidalgo, 2003)	Caramelo, pan tostado
<b>Heterociclos</b>		
<b>nitrogenados:</b>		
Dimetilpirazinas	-- (Hidalgo, 2003)	Cacao, café
<b>Derivados de la lignina</b>		
<b>Aldehídos fenoles</b>		
Vainillina	65 <sup>(Zamora, 2003)</sup> -320 <sup>(Fernández de Simón, 2008; Hidalgo, 2003)</sup> µg/L	Avainillado
Siringaldehído	-- (Hidalgo, 2003; Zamora, 2003) - 50 <sup>(Fernández de Simón, 2008)</sup> mg/L	Avainillado
Sinpaldehído	-- (Hidalgo, 2003)	Avainillado
Coniferaldehído	-- (Hidalgo, 2003)	Madera, avainillado
Acetofenona	-- (Hidalgo, 2003)	Avainillado
Acetovainillona	-- (Hidalgo, 2003)	Avainillado
Propiovainillona	-- (Hidalgo, 2003)	Avainillado
Butirivainillona	-- (Hidalgo, 2003)	Avainillado
<b>Fenoles volátiles</b>		
Guayacol	15 <sup>(Zamora, 2003)</sup> -75 <sup>(Fernández de Simón, 2008; Hidalgo, 2003)</sup> µg/L	Tostado
Metil-4-guayacol	30 <sup>(Zamora, 2003)</sup> -65 <sup>(Hidalgo, 2003)</sup> µg/L	Quemado
Etil-4-guayacol	47 <sup>(Zamora, 2003)</sup> -150 <sup>(Hidalgo, 2003)</sup> µg/L	Tostado, especiado
Vinil-4-guayacol	130 <sup>(Zamora, 2003)</sup> -380 <sup>(Hidalgo, 2003)</sup> µg/L	Clavel
Fenol	15 <sup>(Zamora, 2003)</sup> -25 <sup>(Hidalgo, 2003)</sup> µg/L	Tinta
Eugenol	0,5 <sup>(Zamora, 2003)</sup> -15 <sup>(Hidalgo, 2003)</sup> -500 <sup>(Fernández de Simón, 2008)</sup> µg/L	Espicias
Vinil-4-fenol	1,5 <sup>(Hidalgo, 2006)</sup> -180 <sup>(Zamora, 2003)</sup> µg/L	Estramonio
Etil-4-fenol	1,2 <sup>(Hidalgo, 2003)</sup> -440 <sup>(Zamora, 2003)</sup> µg/L	Cuero, animal
<b>Derivados de los lípidos y ácidos grasos:</b>		
W-Lactona isómero cis	15 <sup>(Hidalgo, 2003)</sup> -54 <sup>(Fernández de Simón, 2008)</sup> -92 <sup>(Gardeycol., 2002)</sup> µg/L	Coco, terroso, vegetal, fresco
W-Lactona isómero trans	150 <sup>(Hidalgo, 2003)</sup> -370 <sup>(Fernández de Simón, 2008)</sup> -460 <sup>(9) (Garde, 2002)</sup> µg/L	Coco, nuez, cuero

-- (no indica nivel de percepción olfativa)

El proceso del tostado de la madera para la fabricación de productos alternativos a las barricas consiste en imitar el proceso de tostado de las barricas. Sin embargo, en función del tamaño del producto alternativo se hace imprescindible adecuar el sistema de tostado.

La fuente de calor empleada habitualmente para realizar el tostado de las barricas son estufas en las que arden restos de madera de roble provenientes de la fabricación de las duelas, controlándose la temperatura que alcanza la madera mediante medidas con termómetros

láser. Para aplicar humedad se realiza un riego por aspersión, o sumergiendo la barrica entera o las duelas en un baño de agua antes de su montaje. El tostado de los fondos de la barrica se realiza normalmente por radiación con resistencias eléctricas, que tienen la ventaja de poder controlar con facilidad la intensidad de calor que se genera. Con el fin de automatizar este proceso, en los últimos años se han desarrollado sistemas de tostado mediante la aplicación de rayos infrarrojos, tanto en posición vertical como horizontal, que generan calor de forma homogénea y con una intensidad constante. Además de la fuente de calor, el tonelero puede controlar la circulación de aire en el interior de la barrica, lo que puede condicionar la velocidad de incremento de temperatura de las duelas, los umbrales de temperatura a que se llega, y la penetración del calor en el interior de la madera (Fernández de Simón y col., 2007).

También existe otra forma de realizar calentamiento o el tostado de la madera empleando gas, lo que proporciona un calor de intensidad fácilmente controlable, pero las zonas donde se realiza este calentamiento presentan una intensidad de calor demasiado alta y muy superficial, haciendo que el calor incida en la madera como una simple abrasión.

El tamaño del producto alternativo determina el sistema de tostado a elegir, las piezas pequeñas como las astillas o los cubos se suelen tostar por convección y conducción, mientras que las piezas más grandes como los tablones se tuestan por convección.

### 1.2.1. Tostado de astillas en tambor por convección

El calentamiento de las astillas se realiza mediante un tambor de torrefacción rotativo como los empleados para la torrefacción del cacao o café. La madera no está en contacto con la fuente de calor como durante el tostado de las barricas, el tostado de los productos alternativos de pequeño tamaño (astillas, cubos, dominós, etc.) es esencialmente convectivo y produce un tostado homogéneo del duramen. Un quemador, normalmente alimentado a gas, calienta el aire de una cámara de combustión. El aire caliente a 200-220°C tuesta la madera colocada en un tambor rotativo por convección térmica, el calor penetra y se difunde por el interior de la madera mediante conducción térmica. Con estas condiciones, se obtiene un tostado homogéneo en el interior con un efecto muy débil de gradiente de temperatura entre la superficie y el interior de las astillas (Chatonnet, 2007).

La figura 5 muestra un tambor torrefactor para el tostado de astillas.



Figura 5- Tambor de torrefacción rotativo para astillas (fuente: Chatonnet, 2007)

El tostado se ve facilitado por la mezcla de las astillas durante la rotación del tambor, y el aislamiento de éste optimiza el intercambio térmico. En el caso del tostado tradicional de las barricas, la mayor parte de la fuente térmica que es el calor del fuego se pierde. Los tambores permiten tratar lotes de 60 a 150 Kg según los hornos, con programas de subida de la temperatura más o menos complejos (Chatonnet, 2007).

### 1.2.2. Tostado de tablonés e insertos por convección

Para tostar piezas largas se utiliza exactamente el mismo principio que para las astillas, pero en hornos especialmente adaptados a la geometría de la madera. Los tablonés se instalan sobre un soporte que permite una fácil circulación del aire caliente alrededor de las distintas piezas minimizando al máximo las diferencias de temperatura en el interior del horno. La calidad y homogeneidad de la circulación del aire caliente en el interior del horno constituye el elemento clave para garantizar la calidad y la reproducibilidad del tostado. En el interior del horno, el tostado se realiza en una atmósfera empobrecida en oxígeno para evitar inflamaciones intempestivas. A la salida del proceso de tostado, los tablonés se enfrían mediante aspiración de humos antes de su descarga, al tiempo que otro lote está en tratamiento (Chatonnet, 2007). En las figuras 6 a 9 se muestra el proceso del tostado de los tablonés por convección.



Figura 6- Horno de convección para tablonés (fuente: Pronektar)



Figura 7- Carros de carga con transportador de tablonés (fuente: Pronektar)



Figura 8- Sistema de refrigeración y aspiración de humo (fuente: Pronektar)

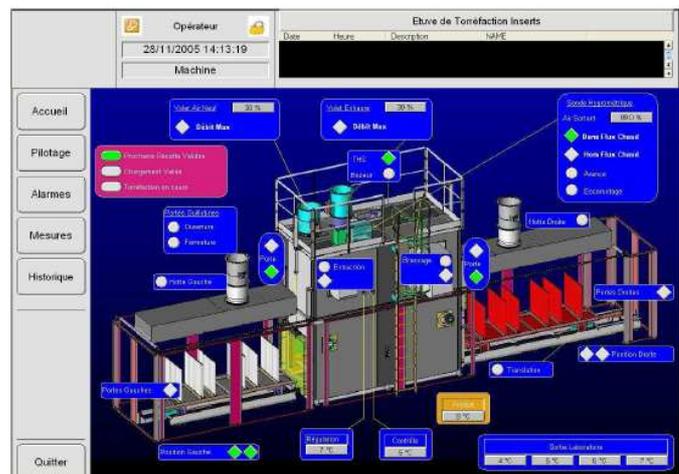


Figura 9- Gestión del horno de torrefacción mediante supervisión (fuente: Pronektar)

Además del horno por convección para los tablones, la compañía “the oaksolutions group” ofrece un horno para tablones mediante infrarrojos, con el que se consigue un mejor control de la temperatura en la madera, perfeccionando los requisitos y objetivos del enólogo. Las figuras 10 y 11 muestran dos tipos de hornos utilizados para el tostado de los tablones.

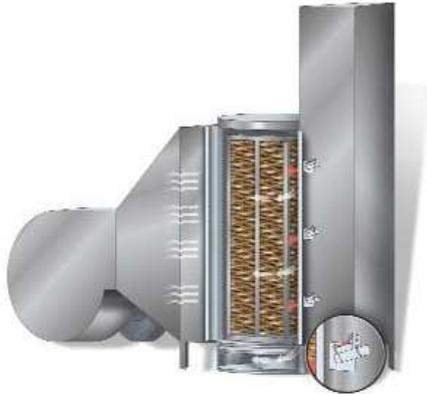


Figura 10- Horno de convección para tablones  
(fuente: Oak solutions group)

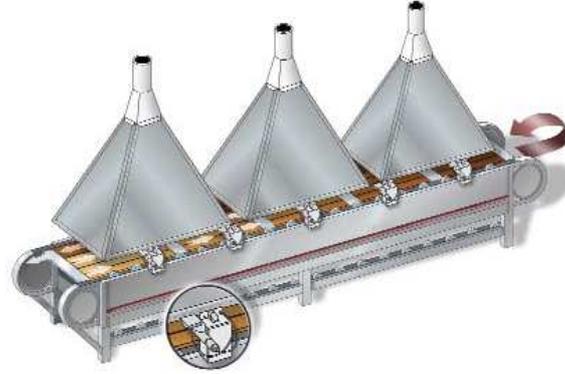


Figura 11- Horno de infrarrojos para el tostado de tablones  
(fuente: Oak solutions group)

### 1.2.3. Factores que determinan el tostado industrial de productos alternativos

Distintos parámetros pueden afectar a la calidad y reproducibilidad del tostado por convección de las astillas o tablones, la potencia y la regulación del quemador de gas deben ser suficientes. Cada horno tiene una inercia térmica propia, es decir los resultados obtenidos entre el primer y el último ciclo de tostado no son idénticos, siendo necesario ajustar la temperatura del horno para obtener un resultado repetible (Chatonnet, 2007).

- La calidad de la convección térmica es muy importante para garantizar un tostado homogéneo. En el caso de los tambores rotativos, su dimensión es bastante pequeña y la rotación da pie a mezclas homogéneas. En cambio en los hornos para tablones, la calidad de la convección térmica es absolutamente crítica para evitar puntos de sobretostado y de sub-tostado, lo que requiere de un diseño específico.
- La carga del horno debe ser siempre la misma para obtener un resultado repetible, en sobrecarga o en condiciones de subcarga el tostado obtenido será diferente.
- La dimensión de las astillas debe ser tan homogénea como sea posible. Las partículas grandes y pequeñas no evolucionan de la misma manera, por lo que las astillas deberán triturarse de la manera más regular posible y a continuación deberán someterse a un tamizado perfecto.
- El nivel de humedad de la madera y la homogeneidad entre lotes son factores muy importantes, ya que la cantidad de agua condiciona la eficacia del tostado para la producción de compuestos de la termodegradación. Se debe controlar perfectamente en los hornos la regularidad de la carga y el nivel de humedad de las astillas trituradas. Para triturar fácilmente la madera y de manera fácil de reproducir, la madera precisa de un cierto nivel de humedad (25-30%), pero este nivel es incompatible con un tostado eficiente y repetible, por lo tanto es indispensable secar convenientemente la madera antes de su tostado.

El fabricante debe asegurarse que estos procesos no supongan una degradación de la calidad organoléptica del vino, previniendo las posibles contaminaciones asociadas a la presencia de haloanisolos (en las fases de fabricación, almacenamiento y también del transporte de los productos acabados, con riesgo importante de contaminación en las exportaciones en contenedores). Durante el triturado puede producirse una contaminación de las astillas por hierro, compuesto que en combinación con los taninos de la madera puede producir oxidaciones violentas del vino en combinación con la micro-oxigenación posterior del vino (Chatonnet, 2007).

Independientemente del tipo de producto alternativo a las barricas (astillas o tablones), las temperaturas que se alcanzan en los hornos no son suficientes para producir la síntesis de fuertes cantidades de hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP), el tostado hace que se eleve el contenido global de HAP en la madera, pero la formación de moléculas HAP indeseables (cancerígenas) como el benzo- $\alpha$ -pireno, necesita niveles térmicos durante el tostado de la madera que nunca se alcanzan ( $> 380^{\circ}\text{C}$ ) (Chatonnet, 2007).

Varios autores han estudiado la influencia que tiene el tamaño, el efecto del tipo de secado y la influencia del nivel de tostado de la madera empleada para envejecer vinos tintos, estudiando la madera y los vinos resultantes, los factores que afectan a la influencia de las astillas en la composición volátil de los vinos o el efecto que tiene el tamaño de las astillas y tiempo del tostado en diferentes compuestos. Los estudios realizados sobre la influencia del tostado de los productos alternativos a las barricas indican que existen diferencias en la composición fenólica de los vinos envejecidos con las maderas de distintos tratamientos (Giménez y col., 2001; Martínez y col., 2008; Koussissi y col., 2009).

Durante el año 2008 el grupo de Martínez estudió el efecto del tipo de secado en la composición química (elagitaninos, fenoles de bajo peso molecular y compuestos volátiles) de la madera de roble de diferentes orígenes. Encontraron grandes variaciones en la composición química de la madera analizada en función de la especie de roble y el tipo de secado. La madera sometida a un secado tradicional o natural era la más efectiva en la reducción del exceso de elagitaninos presentes en la madera original/húmeda y la evolución en la composición volátil era más evidente y positiva. La concentración de eugenol en la madera secada pudo determinar el potencial aromático durante el contacto vino-madera. Encontraron diferencias en la concentración de los aldehídos furánicos (furfural, 5MF y 5HMF) en las maderas estudiadas, de forma que sus concentraciones aumentaban con el secado tradicional y acelerado en madera de roble americano (*Quercus alba*), en el caso del roble francés (*Quercus petraea*) fue con el secado mixto (madera sometida durante los primeros 18 meses a un secado tradicional y al final del tratamiento en un horno a  $40^{\circ}\text{C}$  y 70% de humedad durante 20 días) donde se consiguió mayor contenido de aldehídos furánicos (Martínez y col., 2008).

Respecto al tostado, en el año 2009 Koussissi estudió que el tratamiento térmico de la madera influía en el contenido de fenoles volátiles y de compuestos furánicos transferidos al vino, los cuales son responsables de las notas de especiados y de tostado en los vinos. Las concentraciones máximas de furfural y cis W-lactona se encontraron en los vinos tratados con astillas de tostado medio, seguido del tostado fuerte, sin embargo el tostado ligero de la madera estaba relacionado con el aporte al vino del aroma de coco, siendo el vino envejecido

con astillas de tostado ligero el que presentó el mayor ratio de extracción inicial de trans W-lactona. Los vinos envejecidos con astillas de tostado medio y fuerte presentaron significativamente el mayor efecto sensorial, estando caracterizados estos vinos por notas de madera, vegetales y tabaco, aunque también fueron los más astringentes y amargos, además los vinos con astillas de tostado fuerte destacaron por sus notas terrosas y frutos secos, y los vinos con astillas de tostado ligero por sus notas dulzonas (Koussissi y *col.*, 2009).

En el año 2001 Giménez y su grupo de investigación analizaron la influencia del tiempo de tostado de la madera en licores, de forma que influía en la formación de aldehídos aromáticos (vainillina, siringaldehído). La mayor extracción de estos compuestos se consiguió con un calentamiento de la madera entre 3 y 6 horas. Se produjo un descenso gradual en la concentración de los aldehídos estudiados al aumentar el tiempo de tostado de la madera. Observaron que periodos largos de tostado (> 15 horas) conducían a una excesiva descomposición de la lignina, la cual iba a producir un marcado descenso en el contenido de ácido gálico presente en los vinos envejecidos (Giménez y *col.*, 2001).

Otros autores estudiaron la influencia del tamaño de los productos alternativos a las barricas para el envejecimiento de vinos, utilizando diferentes tamaños de astillas (Giménez y *col.*, 2001; Campbell y *col.*, 2006). El equipo de investigación de Giménez durante 2001 estableció que el tamaño de las astillas influía en la extracción de los compuestos procedentes de la madera. Según sus resultados un tamaño medio de astillas (3-5 mm diámetro) favorecía la extracción de vainillina, siringaldehído y ácido gálico, frente a tamaños de astillas inferiores y superiores a estos, debido a que las astillas entre 3 y 5 mm de diámetro presentaban una óptima superficie de contacto que favorecía la formación de los compuestos estudiados y su posterior transferencia al vino (Giménez y *col.*, 2001).

En los estudios de Campbell y su grupo durante los años 2005 y 2006, se observó que además del origen y la composición de la madera, existían una serie de factores que determinaban la composición sensorial de los vinos envejecidos con astillas, como el tamaño de la madera, la temperatura de su tostado, el momento de la adición de la madera, el tiempo de contacto con el vino, el pretratamiento de las astillas con anhídrido sulfuroso y la conservación de las astillas. En referencia al tamaño de la madera empleada para envejecer el vino, al emplear piezas pequeñas la extracción de compuestos procedentes de la madera ocurría de manera más rápida debido a que presentaban mayor superficie de madera en interacción con el vino. La temperatura de tostado y el gas empleado (aire o argón) influían significativamente en la concentración de guayacol y vainillina en el vino, siendo su contenido mayor al aumentar la temperatura de tostado y en presencia de aire. El empleo de argón y el calentamiento de la madera a 235°C durante el tostado provocaban la pérdida significativa de los dos isómeros de W-lactona en la madera, siendo mayor ésta pérdida en el roble francés. Respecto al pretratamiento de las astillas con anhídrido sulfuroso, el grupo de investigación de Campbell observó que se producía una mayor extracción de vainillina al pre-tratar las astillas de roble americano y francés con anhídrido sulfuroso, lo cual pudo ser debido a que la acción antioxidante del anhídrido sulfuroso inhibía la degradación de la vainillina, también observó una mayor extracción de cis W-lactona al emplear astillas tostadas de roble americano que habían sido pretratadas con anhídrido sulfuroso. También constató que la conservación de las

astillas no afectaba a la concentración de los compuestos extraídos de la madera estudiados (vainillina, 4-metilguayacol, cis y trans W-lactonas y guayacol) (Campbell y *col.*, 2005, 2006).

El tratamiento que sufría la madera en la tonelería y la duración del tostado fue estudiado por el grupo de Moutounet en 1989, estos autores indicaron que el tratamiento que sufría la madera en la tonelería causaba la disminución de la concentración de taninos elágicos, un marcado incremento de los aldehídos fenólicos y la formación de derivados furánicos (furfural, 5MF, 5HMF y alcohol furfurílico) en la madera (Moutounet y *col.*, 1989).

Por último, mencionar que en muchas ocasiones los productos alternativos a las barricas de roble se fabrican a partir de recortes de los tabloncillos empleados para barricas, o a partir de madera con defectos, que hacen imposible aprovecharla para fabricar barricas. Por ello, es muy importante tener en cuenta la influencia del cepillado de las duelas, su posible efecto sobre el tostado, y el efecto de los posibles defectos de la madera en la composición química de la madera de roble, cuyo destino será la fabricación de productos alternativos a las barricas para el envejecimiento de vinos. Durante el año 2010 Esteruelas y su grupo de investigación describieron que el cepillado de la madera conllevaba pequeños cambios en la composición química de la madera (menor contenido de taninos y de cis W-lactona), siendo importante tener en cuenta estas variaciones para una adecuada gestión tanto de los procesos de fabricación como de utilización de productos alternativos para la elaboración y envejecimiento de vinos. Respecto al empleo de madera con defectos para la elaboración de productos alternativos, estos autores describieron los cambios químicos que presentó esta madera, siendo muy marcada la pérdida de potencial aromático (descenso de polifenoles de bajo peso molecular y compuestos volátiles) respecto a la madera sin defectos. La madera con defectos, entendida como la madera que una vez secada presentaba pequeños defectos (nudos, grietas o deformaciones, que la hacía inviable para la fabricación de una barrica), a su vez presentaba un menor contenido de elagitaninos, lo que conllevaba a una disminución de la protección frente a contaminaciones, como de su potencial antioxidante, mostrando además esta madera un contenido importante de compuestos volátiles negativos (cresol, fenol, etc.). Estos autores consideraron a este conjunto de cambios químicos de esta madera como perjudiciales desde el punto de vista enológico, por lo tanto la eliminación de estos defectos para una adecuada gestión de la madera destinada a productos alternativos era fundamental. El conocimiento de la madera con la que se fabricaban los productos alternativos a las barricas era necesario, exigiéndola los mismos requerimientos de composición y de comportamiento que a la madera empleada para la fabricación de barricas, siendo importante adecuar los procedimientos de la tonelería a las características deseadas de los productos a fabricar (Esteruelas y *col.*, 2010).



## **Capítulo 2- Objetivos**



## 2- Objetivos

1. Estudiar el efecto en el vino del tipo de secado y de tostado realizado a la madera de los productos alternativos a las barricas. Analizando el efecto de 2 tipos de secado (tradicional y acelerado) y 3 niveles de tostado (ligero, medio y fuerte) en las astillas y tabloncillos de madera de *Quercus pyrenaica* Willd. empleadas para el envejecimiento de un mismo vino tinto.
2. Analizar las características fenólicas y sensoriales del vino a lo largo del proceso de envejecimiento con diferentes productos alternativos a las barricas durante casi seis meses y su posterior estancia en botella durante 18 meses. Realizar el seguimiento de las familias de compuestos fenólicos, antocianos pormenorizados, compuestos de bajo peso molecular, fenoles volátiles, índices de ionización, gelatina, ácido clorhídrico y etanol, parámetros básicos, de copigmentación, de edad química, parámetros cromáticos y análisis sensorial del vino. Para ello ha sido necesaria la puesta a punto del método de análisis de los compuestos volátiles presentes en el vino y provenientes de la madera por cromatografía de gases (GC).
3. Caracterizar globalmente los vinos envejecidos con los productos fabricados.



## **Capítulo 2- Materiales y métodos**



### 3- Materiales y métodos

En este apartado se describen los materiales y métodos de dos experimentos en los cuales se ha analizado el efecto del secado y del tostado de los productos alternativos (astillas y tablones) de *Quercus Pyrenaica* Willd., procedente de Salamanca.

#### 3.1. Vino

Se ha empleado un vino tinto de la variedad *Vitis vinífera* L, c. v. Tinta del País, cosecha 2007 y elaborado por las bodegas Castrillejo de Robledo (Soria) situada en la Denominación de Origen Ribera del Duero. Las características generales del vino se muestran en la tabla 2. Se han realizado dos tandas consecutivas de experimentos de envejecimiento del vino, una con astillas y otra con tablones. En cada una de ellas se han utilizado 12 depósitos de acero inoxidable de 225 litros de capacidad donde se ha envejecido el vino tinto con la madera y pequeñas dosis de oxígeno (MOX), también se ha seguido la evolución de un vino al que no se le ha añadido madera, es el llamado depósito control.

Tabla 2- Parámetros químicos del vino inicial empleado en el experimento

<i>Parámetro</i>	<i>Valor</i>
Ácido tartárico	1,47 g/L
Ácido málico	0,1 g/L
Glicerina	10,2 g/L
Potasio	1200 mg/L
Grado alcohólico volumétrico	13,45 % VOL
Extracto seco	31,2 g/L
Acidez total	4,86 g/L
Acidez volátil	0,56 g/L
Anhídrido sulfuroso total	58 mg/L
Anhídrido sulfuroso libre	24 mg/L
Azúcares reductores	1,6 g/L
Densidad relativa	0,9946
pH	3,76

#### 3.2. Experimento con astillas

##### 3.2.1. Madera para la fabricación de las astillas

El envejecimiento del vino tinto se ha llevado a cabo en 12 depósitos de acero inoxidable a los que se les han añadido astillas y pequeñas dosis de oxígeno (micro-oxigenación).

- **Secado de las astillas**

Las astillas se fabricaron a partir de duelas que sufrieron dos tipos de secado:

Secado tradicional el cual se realizó al aire libre durante dos o tres años en el parque de la tonelería Intona (Navarra) (temperatura media anual 14,4 °C, precipitación 504 mm<sup>3</sup>/año). Durante los dos primeros meses y durante el verano la madera se regaba diariamente, el resto

del tiempo se regaba cada 15 días. Las duelas se astillaron en la propia tonelería y suministradas al equipo de investigación de la E.T.S. Ingenierías Agrarias de Palencia (ETSIAA) para su tostado.

Secado acelerado se realizó sometiendo la madera a un proceso al aire libre durante cuatro meses, tras este tiempo la madera se astilló. Estas astillas sufrieron varios lavados de 10 minutos con agua libre de cloro y centrifugaciones de 4 minutos, después se secaron en una estufa a 50°C durante 12 horas y fueron trasladadas a la E.T.S. de Ingenierías Agrarias de Palencia para su tostado en las mismas condiciones que las procedentes del secado tradicional. Cabe destacar que este secado se ha desarrollado por los técnicos del CESEFOR.

- **Tostado de las astillas**

Las astillas procedentes del secado tradicional y acelerado se tostaron en la E.T.S. de Ingenierías Agrarias de Palencia en un horno de alimentación BINDER APT-COM V 1.0. (figura 12). Agradecer a la unidad de maderas de la E.T.S. de Ingenierías Agrarias por la cesión de las instalaciones para la realización de las pruebas del tostado de la madera.



Figura 12- Horno de alimentación Binder APT

Tras la realización de numerosas pruebas en las que participaron las Dras. Cadahía y Fernández de Simón (CIFOR-INIA) así como miembros de CESEFOR (Sres. Broto y Lizarralde), se realizó un tostado de las astillas a 3 intensidades diferentes. El **tostado ligero** se ha realizado poniendo el horno a una temperatura de consigna de 180°C, y cuando ha llegado a 170°C se han dejado las astillas durante 10 minutos, en el **tostado medio** se ha puesto una temperatura de consigna de 200°C, y cuando ha llegado a 170°C se han dejado las astillas 20 minutos y en el **tostado fuerte** también con una temperatura de consigna de 180°C, cuando se ha alcanzado 170 °C en el horno, las astillas han permanecido durante 30 minutos. Como se ha mencionado en el apartado 1.2.3., la temperatura del horno se ajustó para obtener un resultado repetible, realizando para ello dos ciclos de tostado previos antes de la realización de los tostados de las astillas.

A continuación se presentan las curvas de tostado de las astillas procedentes de madera con secado acelerado y tradicional (figuras 13 a 15). Para cada tipo de tostado y secado se realizaron dos ciclos de tostado en los que se consiguieron tostar todas las astillas necesarias en las mismas condiciones. En las figuras 13 y 14 se puede ver que las astillas con secado tradicional alcanzaron temperaturas superiores que cuando el secado de las astillas era acelerado, esto pudo ser debido a que las astillas procedentes de un secado acelerado tenían

más humedad que las procedentes del secado tradicional, y por ello durante el proceso de tostado la temperatura alcanzada fue inferior que al tostar las astillas secadas de forma tradicional.

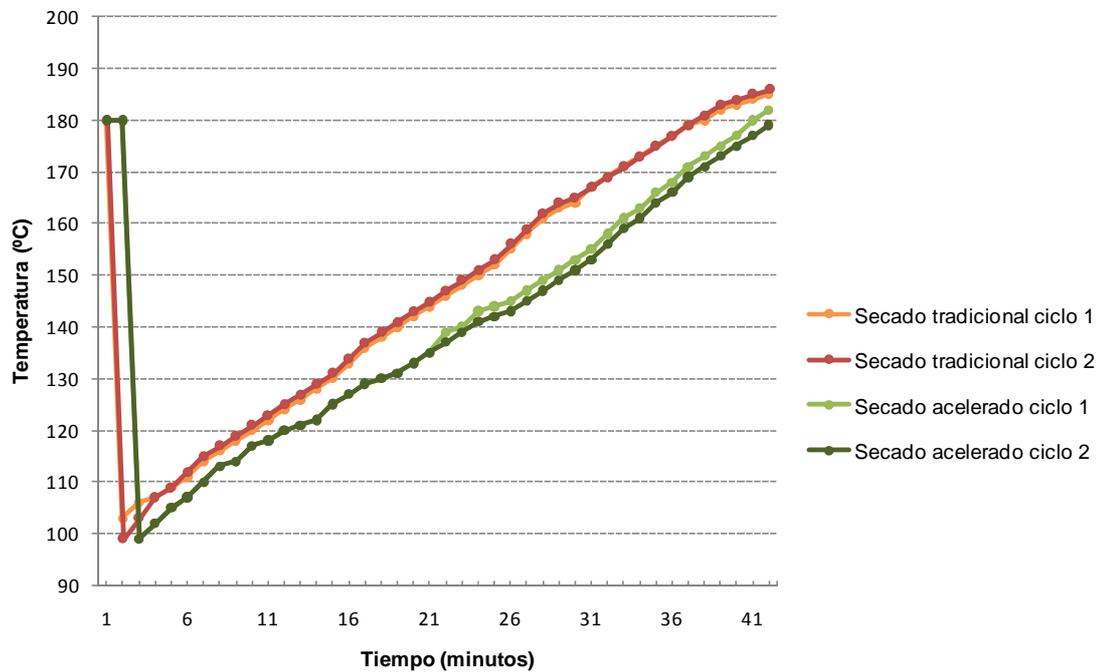


Figura 13- Curva del tostado ligero de las astillas con secado tradicional y acelerado

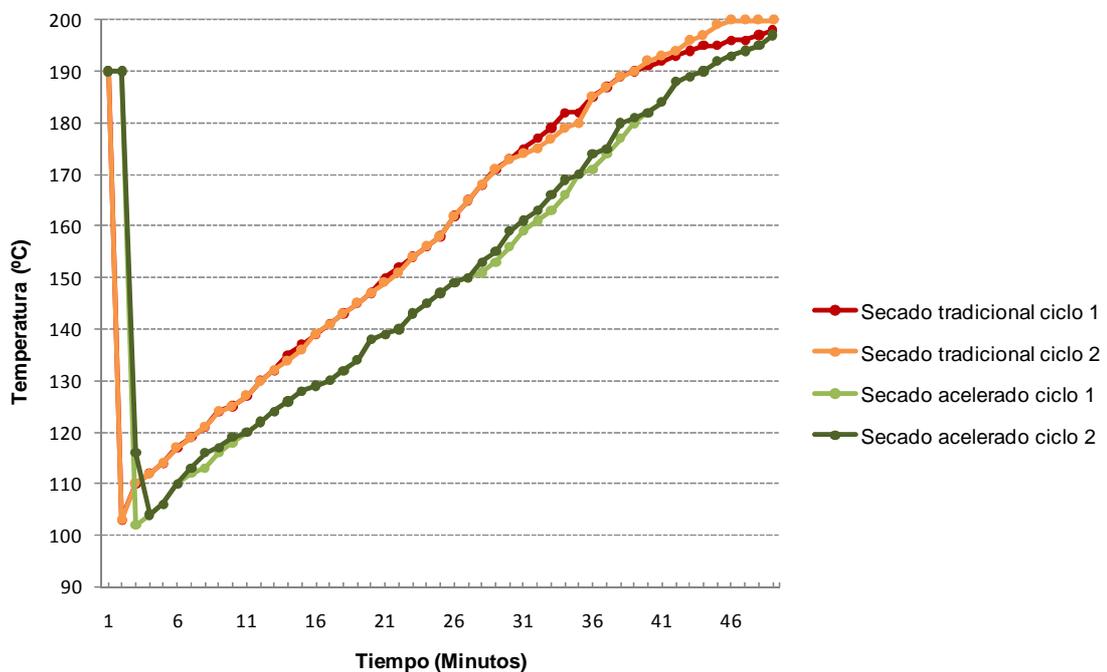


Figura 14- Curva del tostado medio de las astillas con secado tradicional y acelerado

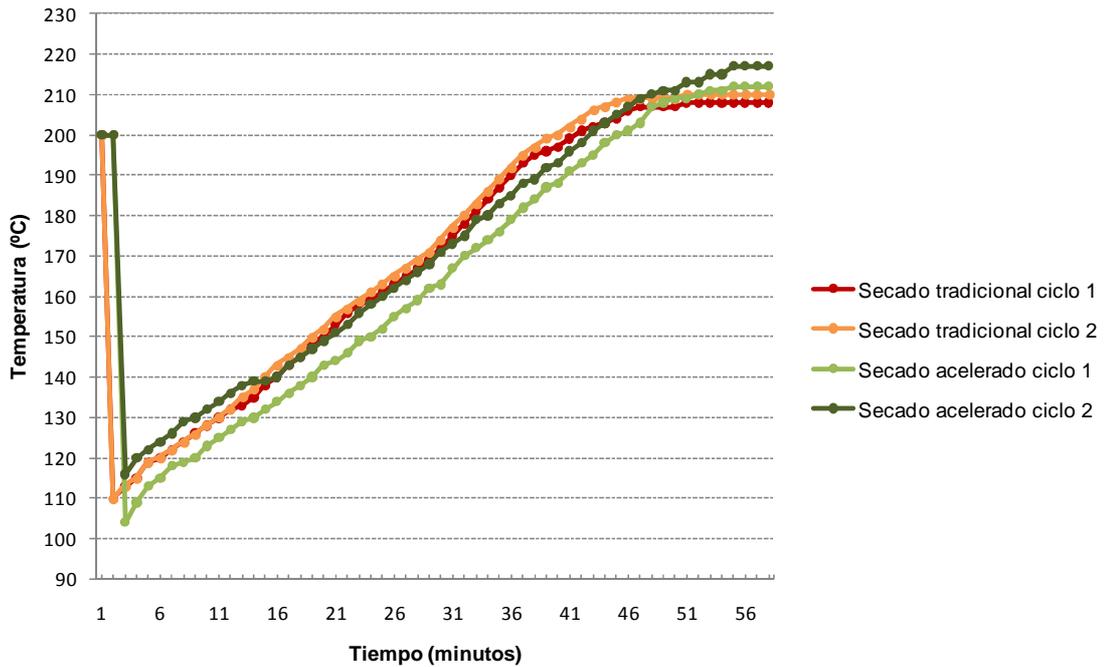


Figura 15- Curva del tostado fuerte de las astillas con secado tradicional y acelerado

En la figura 15 se observa que independientemente del tipo de secado de la madera, los cuatro ciclos de tostado realizado fueron similares, aunque un ciclo de tostado de las astillas de secado acelerado presentó unas temperaturas ligeramente inferiores al resto.

### 3.2.2. Dosificación de las astillas

La cantidad de astillas necesarias para adicionar a los depósitos se ha calculado teniendo en cuenta la superficie/volumen de una barrica bordelesa de 225 litros (2,01 m<sup>2</sup>). Para ello, la dosis de astillas necesaria ha sido calculada por el peso de la madera en una superficie conocida, se empleó una cuartilla de papel de 20 cm \* 20 cm (figura 16). En la tabla 3 se observa el peso de las astillas con los dos tipos de secado en la superficie de la cuartilla, y la cantidad total en gramos añadida a cada depósito (dato promedio de 4 repeticiones). Se pueden observar diferencias en los pesos, las cuales se debían a que la madera que había sufrido un secado tradicional era más ligera que al sufrir un secado acelerado.



Figura 16- Cuartilla con astillas

Tabla 3- Peso de astillas añadido a los depósitos

Peso astillas (gramos)	Secado tradicional	Secado acelerado
Cuartilla 20*20 cm	50,40 (n=4)	59,04 (n=4)
Depósito	1050	1230

### 3.2.3. Micro-oxigenación en depósitos con astillas

La dosis de oxígeno apropiada es aquella que permite mejorar las características de los vinos sin producir oxidaciones en los vinos (Castellari y *col.*, 2004). Una dosis fija de oxígeno tiene que tener en cuenta el tipo de producto alternativo que se emplea para el envejecimiento de los vinos, como el tamaño, secado, grado de tostado, origen de la madera, etc.

La micro-oxigenación se ha realizado con difusores cerámicos (Oeno, AZ3) y ha consistido en la adición continua de pequeñas dosis de oxígeno (mL/L-mes).

La cantidad de oxígeno dosificada en este experimento ha sido fija, se ha aportado 1,5 mL/L-mes. La micro-oxigenación comenzó el 4 de abril de 2008, momento en que el nivel de oxígeno disuelto en los vinos era similar al de una barrica (20-50 ppb).

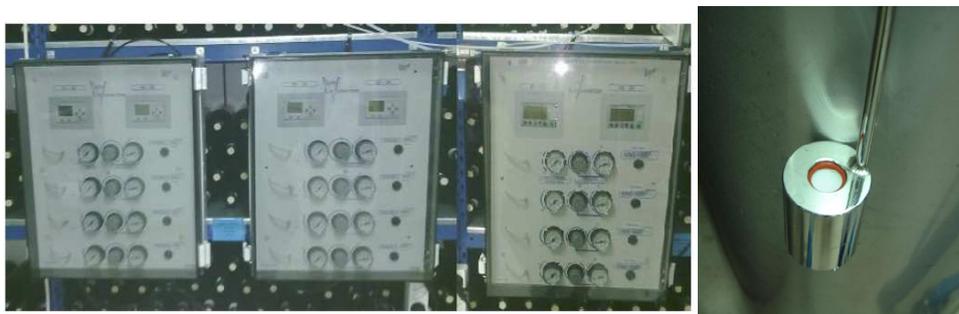


Figura 17- Paneles de micro-oxigenación y difusor

### 3.2.4. Diseño del experimento con astillas

El experimento se ha desarrollado en la sala de crianza de la E.T.S.I.I.A.A de Palencia, con condiciones controladas de humedad (75-85%) y temperatura (15-16°C). Las figuras 18 y 19 muestran las mallas con las astillas empleadas en el experimento y el montaje de los depósitos de acero inoxidable, y la tabla 4 y la figura 20 muestran la distribución de los depósitos del experimento, se puede ver el tipo de tostado, secado de la madera y formato empleado para envejecer el vino tinto en cada depósito.



Figura 18- Mallas con astillas para los depósitos



Figura 19- Montaje del depósito con las mallas de astillas

Tabla 4- Distribución de los depósitos del experimento con astillas

Depósito	Tostado	Secado	Formato
1	Ligero	Tradicional	Astillas
2	Ligero	Tradicional	Astillas
3	Medio	Tradicional	Astillas
4	Medio	Tradicional	Astillas
5	Fuerte	Tradicional	Astillas
6	Fuerte	Tradicional	Astillas
7	Ligero	Acelerado	Astillas
8	Ligero	Acelerado	Astillas
9	Medio	Acelerado	Astillas
10	Medio	Acelerado	Astillas
11	Fuerte	Acelerado	Astillas
12	Fuerte	Acelerado	Astillas
13	Control	Control	Astillas

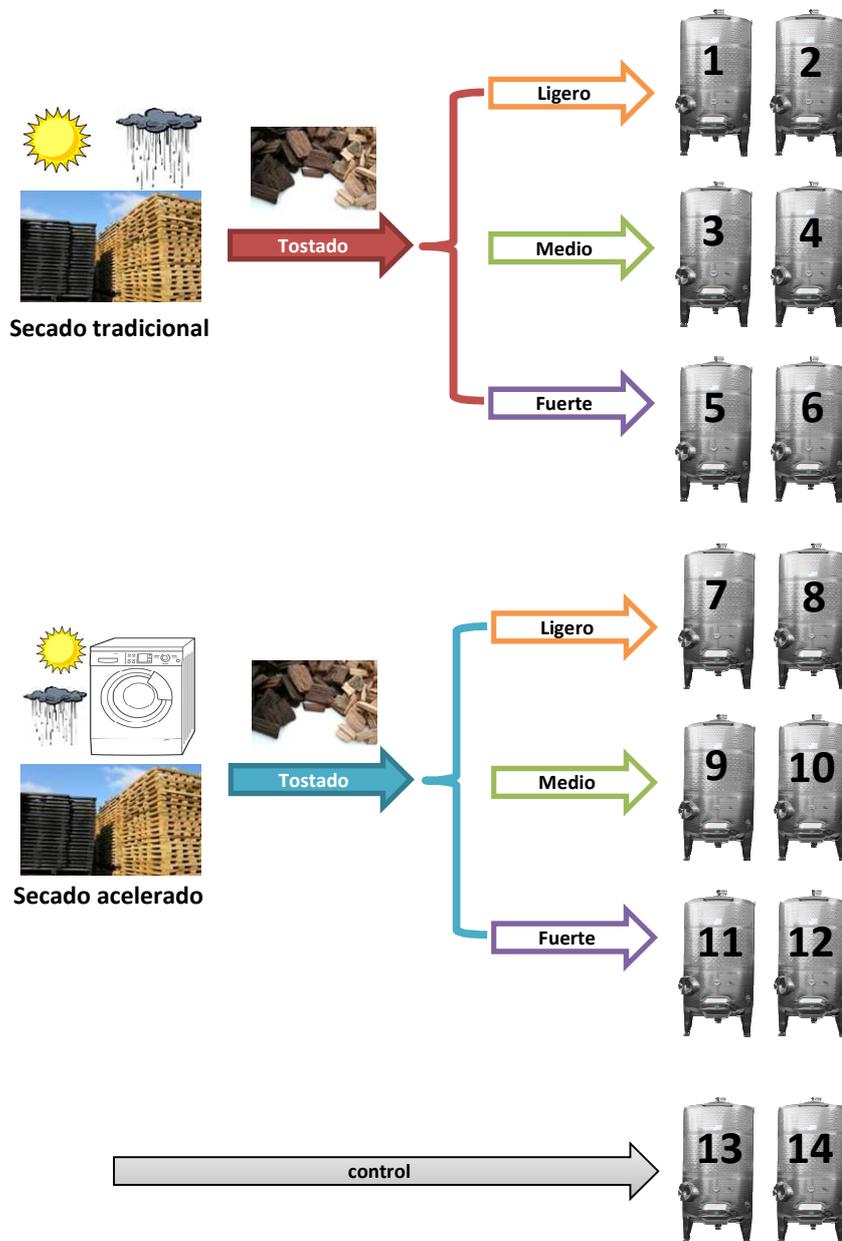


Figura 20- Esquema de la distribución de los depósitos con astillas de *Quercus pyrenaica* Willd. en la sala de envejecimiento

### 3.2.5. Muestreos de los vinos envejecidos con astillas

El vino ha sido muestreado cada 20-25 días durante los 169 días de envejecimiento, posteriormente cuando el vino ha estado en botella se ha muestreado con menor frecuencia. A continuación se indican las fechas de los muestreos y catas realizadas, además se indica para cada muestra los meses que lleva el vino en madera y/o botella (tabla 5).

Tabla 5- Fechas de los muestreos de los vinos envejecidos con astillas

Muestreos	Cata	Permanencia en		Días de envejecimiento
		Madera (días)	Botella (días)	
31/03/2008	10/04/2008	0	--	0
28/04/2008		28	--	28
26/05/2008	26/05/2008	56	--	56
25/06/2008		86	--	86
21/07/2008	21/07/2008	112	--	112
16/09/2008*	01/10/2008	169	--	169
03/02/2009		169	140	309
06/07/2009		169	293	462
08/03/2010		169	538	707

\* Embotellado de las muestras

## 3.3. Experimento con tablonos

### 3.3.1. Madera para la fabricación de tablonos

Al igual que en el experimento anterior el envejecimiento se ha realizado en 12 depósitos de acero inoxidable a los que se les han añadido tablonos y micro-oxigenación.

- **Secado de los tablonos**

Los tablonos empleados en el experimento se han obtenido de la misma forma que las duelas para las astillas, explicado anteriormente (apartado 3.2.1.). El secado acelerado de los tablonos se desarrolló por el CESEFOR y consistió en la realización de lavados mediante la inmersión durante 20 minutos en agua libre de cloro. Posteriormente se dejaron secar durante 24 horas y se volvió a realizar otra inmersión. Tras varias inmersiones la madera se dejó apilada permitiendo la circulación del aire durante 10 días.

- **Tostado de los tablonos**

El tostado de los tablonos se ha realizado en el mismo horno que el tostado de las astillas (apartado 3.2.1.). Los tablonos se han sometido a 3 intensidades de tostado, se ha puesto una temperatura de consigna de 240°C en el horno, para el **tostado ligero** cuando en el horno se han alcanzado 170°C los tablonos se han mantenido 35 minutos, en el **tostado medio** los tablonos se han dejado 40 minutos una vez que en el horno se habían alcanzado 170°C y en el **tostado fuerte** los tablonos se han mantenido en el horno 55 minutos, cuando en el horno se habían alcanzado 170°C.

Para cada tipo de tostado y secado se realizaron cinco ciclos de tostado en los que se consiguió tostar toda la madera necesaria. En este punto agradecer a Iñigo Lizarralde del CESEFOR el tostado de todos los tablones empleados en esta experiencia.

A continuación se muestran las curvas de tostado de los tablones (figuras 21 a 23).

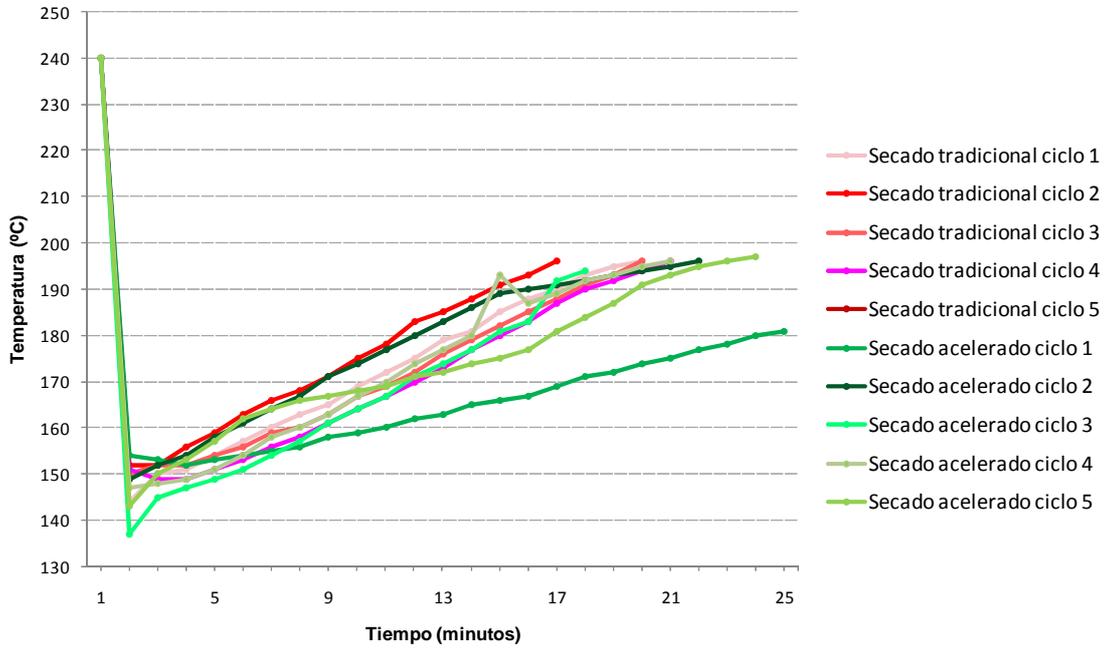


Figura 21- Representación gráfica de la curva de tostado ligero de los tablones con secado tradicional y acelerado

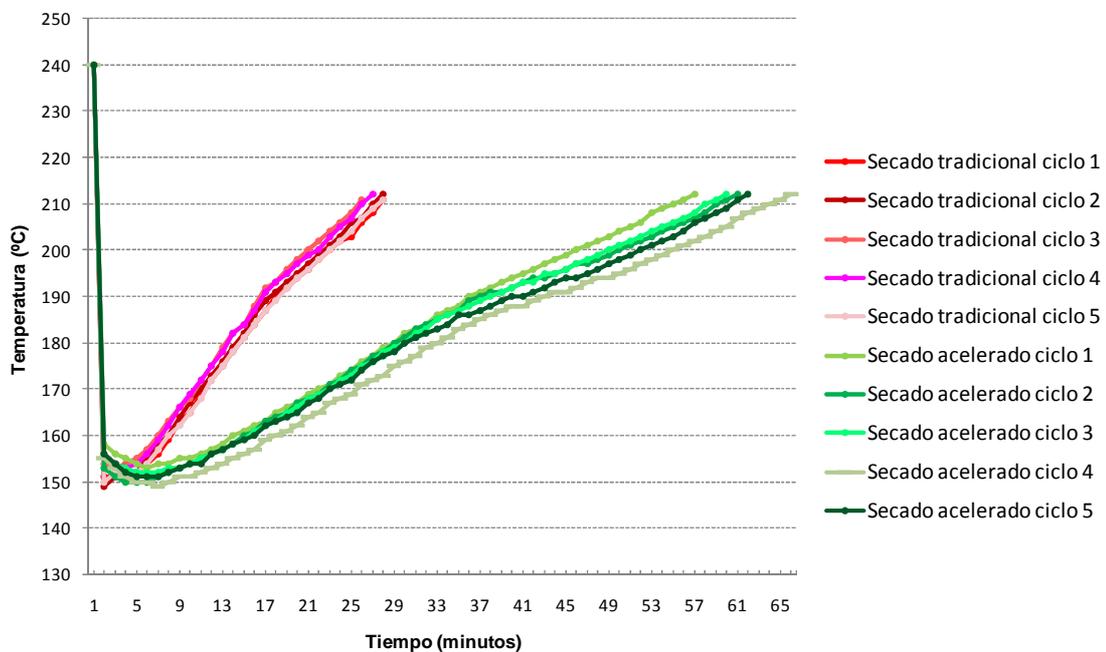


Figura 22- Curvas de tostado medio de tablones con secado acelerado y tradicional

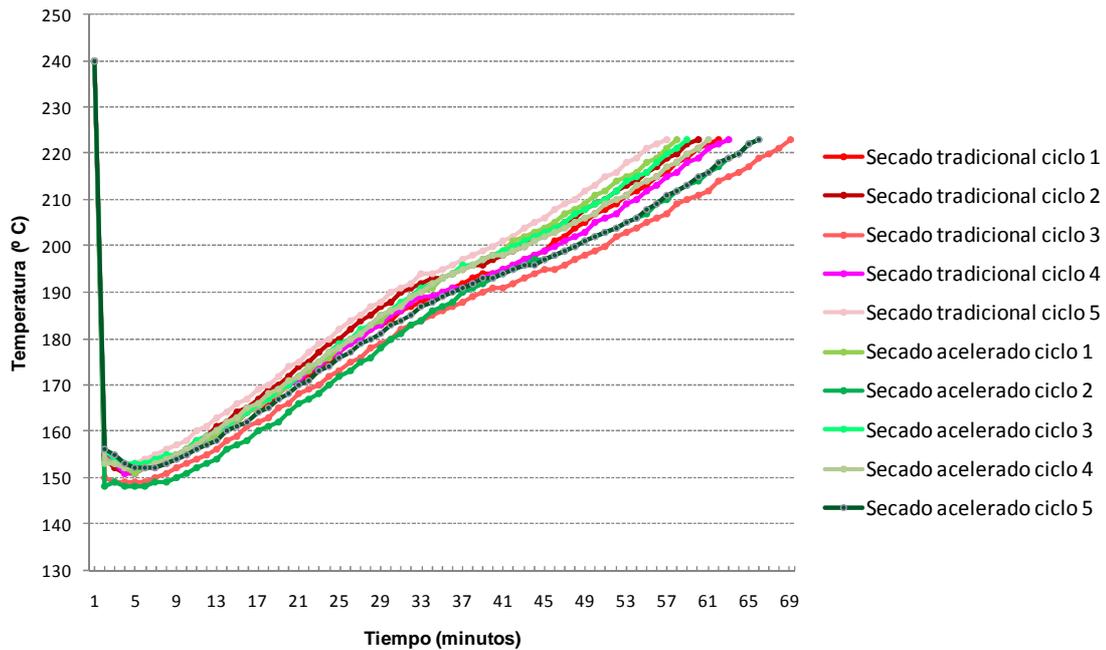


Figura 23- Evolución de la curva de tostado fuerte de los tablones con secado acelerado y tradicional

En las figuras del tostado ligero y medio (figuras 21 y 22) se observa que las temperaturas han sido muy similares en todas las tandas del tostado de la madera secada de forma tradicional. Sin embargo, los tablones secados de forma acelerada alcanzaron temperaturas inferiores al resto de ciclos (al igual que ha ocurrido con las astillas) lo cual se debe a la humedad de la madera. Las temperaturas alcanzadas en el tostado fuerte (figura 23) fueron muy similares en todos los ciclos de tostado.

Se ha realizado un estudio estadístico entre las distintas repeticiones de los ciclos de tostado, con el fin de conocer si existen diferencias entre la variación de temperatura de cada ciclo con el tiempo. Se han analizado los diferentes ciclos con los diferentes productos alternativos a las barricas (astillas y tablones) y los 3 niveles de tostado (ligero, medio y fuerte). Los resultados obtenidos han determinado que no existen diferencias significativas entre los distintos ciclos, por tanto se han obtenido muestras de madera (astillas y tablones) tostadas de manera homogénea en todos los ciclos del mismo nivel de tostado (tabla 6).

Tabla 6- Valor del p-level del anova entre las repeticiones de los ciclos de tostado

	Tostado ligero	Tostado medio	Tostado fuerte
Astillas	0,815	0,827	0,337
Tablones	0,697	0,999	0,955

### 3.3.2. Dosificación de los tablones

El experimento ha consistido en envejecer un mismo vino tinto con tablones de *Quercus pyrenaica* Willd. de tamaño conocido (50 cm\* 6 cm \* 1 cm) en depósitos de 225 litros y MOX. Los tablones se midieron uno a uno para calcular la superficie de contacto y conocer el número de tablones necesarios en cada depósito. Al igual que en el experimento anterior se tuvo en cuenta la superficie de contacto que una barrica bordelesa de 225 litros (2,01 m<sup>2</sup>), de forma que en cada depósito se metieron 11 tablones.

### 3.3.3. Micro-oxigenación en los depósitos con tablones

La micro-oxigenación de los depósitos se ha realizado como ya se ha comentado en el apartado 3.2.3. Se ha aplicado una dosis fija de oxígeno de 3 mL/L-mes durante el experimento. Se comenzó la micro-oxigenación el 26 de septiembre de 2008 con una dosis fija de 1,5mL/L-mes y a partir del 6 de octubre de 2008 se aplicaron 3 mL/L-mes hasta el final del envejecimiento en madera.

### 3.3.4. Diseño del experimento con tablones

En la tabla 7 y en las figuras 24 y 25 se muestra un esquema gráfico de la distribución del experimento llevado a cabo con los tablones de *Quercus pyrenaica* Willd. sometidos a dos tipos de secado y con 3 grados de tostado y con los que se ha envejecido el mismo vino tinto. Se ha controlado la humedad (75-85%) y temperatura (15-16°C) de la sala de envejecimiento.

Tabla 7- Distribución de los depósitos del experimento (tablones)

Depósito	Tostado	Secado	Formato
1	Ligero	Tradicional	Tablones
2	Ligero	Tradicional	Tablones
3	Medio	Tradicional	Tablones
4	Medio	Tradicional	Tablones
5	Fuerte	Tradicional	Tablones
6	Fuerte	Tradicional	Tablones
7	Ligero	Acelerado	Tablones
8	Ligero	Acelerado	Tablones
9	Medio	Acelerado	Tablones
10	Medio	Acelerado	Tablones
11	Fuerte	Acelerado	Tablones
12	Fuerte	Acelerado	Tablones
13	Control	Control	Tablones
14	Control	Control	Tablones



Figura 24- Depósitos de acero inoxidable empleados en los experimentos

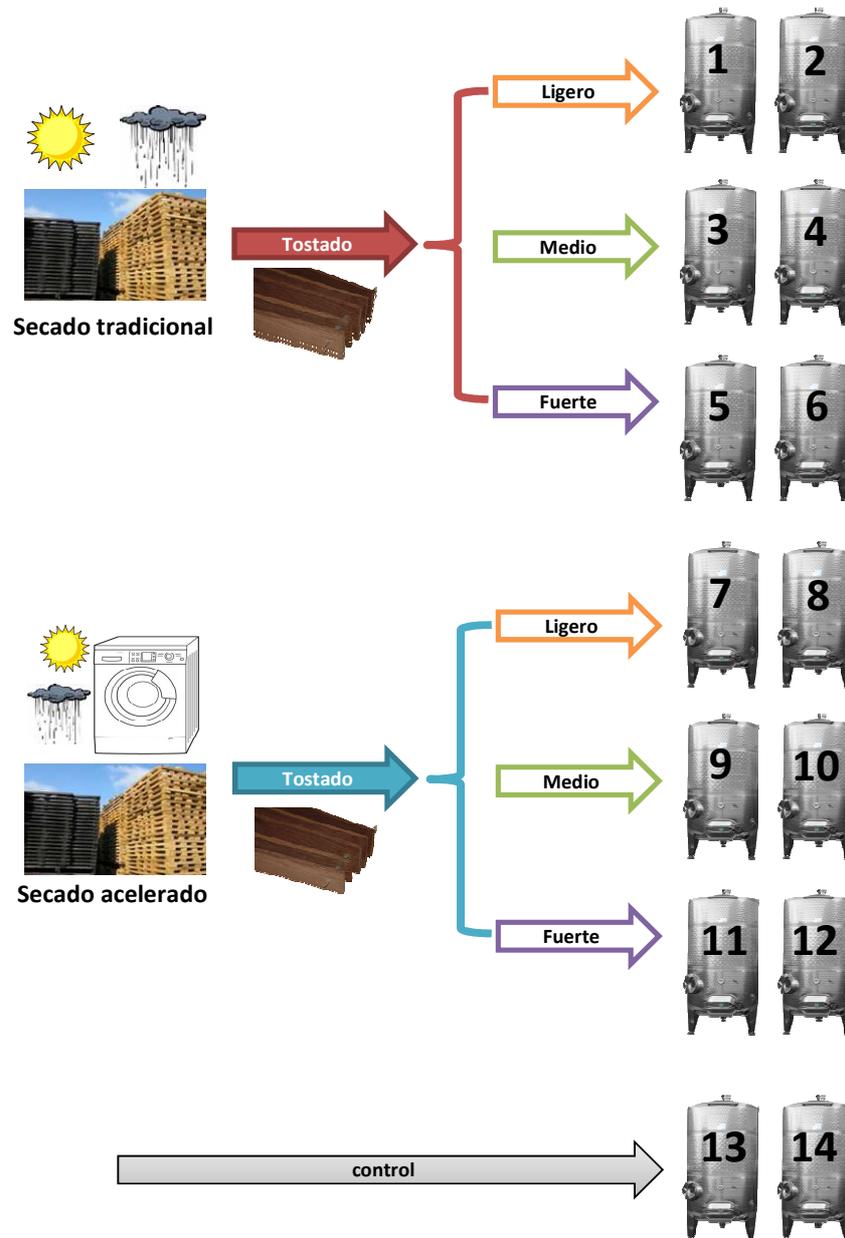


Figura 25- Distribución de los depósitos del experimento en la sala de crianza

### 3.3.5. Muestras de los vinos envejecidos con tablonos

El vino se ha analizado cada 25 días aproximadamente durante los 125 días en que el vino ha permanecido con los tablonos de *Quercus pyrenaica* Willd., y una vez embotellado el vino se analizó con menor frecuencia.

La tabla 8 muestra las fechas de los diferentes muestreos y las catas realizadas durante el experimento.

Tabla 8- Fechas de los muestreos de los vinos tratados con tablones

Muestreos	Cata	Permanencia en		Días de envejecimiento
		Madera (días)	Botella (días)	
16/09/2008	16/09/2008	0	--	0
20/10/2008		34	--	34
17/11/2008	17/11/2008	62	--	62
15/12/2008		90	--	90
19/01/2009*	14/01/2009	125	--	125
18/05/2009		125	119	244
05/10/2009		125	259	384
21/06/2010		125	518	643

\* Embotellado de las muestras

### 3.4. Análisis de laboratorio

Los análisis realizados a los vinos envejecidos con las astillas y con los tablones se resumen a continuación. En los apartados 3.6.1-3.6.7 del capítulo 1 se describen detalladamente los métodos analíticos que han sido comunes en los experimentos realizados para el desarrollo de esta Tesis Doctoral.

#### 3.4.1. Determinación de los parámetros básicos de vino

Se ha determinado en todos los vinos estudiados el ácido tartárico (TH<sub>2</sub>), ácido málico (MH<sub>2</sub>), glicerina (Glicer.), potasio (K), grado alcohólico volumétrico (Grado), extracto seco (Ex. Seco), acidez total (Ac.Tot.), acidez volátil (Ac.Vol.), anhídrido sulfuroso libre (SO<sub>2</sub>L) y total (SO<sub>2</sub>T), azúcares reductores (Azúc.), densidad relativa (densidad), pH y glucosa + fructosa. Estas analíticas se han realizado en la Estación Enológica de Castilla y León (EECyL) (apartado 3.6.1 del capítulo 1).

#### 3.4.2. Análisis de familias de compuestos fenólicos del vino

Se han estudiado en todos los vinos analizados los polifenoles totales (PT), polifenoles poco polimerizados (PPP), polifenoles muy polimerizados (PMP), catequinas (CAT), antocianos totales (ANT) y taninos (TAN) (apartado 3.6.2 del capítulo 1).

#### 3.4.3. Índices del vino

Los índices analizados en los vinos de este capítulo han sido el de etanol, gelatina e ionización (descritos en el apartado 3.6.2 del capítulo 1) y el índice de HCl.

##### 3.4.3.1. Determinación del índice de HCl

El índice de HCl ha sido realizado mediante el método de Ribereáu-Gayon (Ribereáu-Gayon y *col.*, 2003). Este índice indica el porcentaje de taninos de alto grado de polimerización. Se basa en la inestabilidad de las procianidinas en medio ácido, y la velocidad de precipitación que está condicionada por el grado de polimerización. El índice de HCl representa el estado de polimerización de los taninos del vino que a su vez es función de las condiciones de evolución.

### Procedimiento:

En un tubo de ensayo se añade lo siguiente:

- 1 mL de vino
- 0,5 mL de agua destilada
- 1,5 mL de HCl al 37%

Se homogeniza y posteriormente se hace una dilución 1:25 con agua destilada. A continuación se determina la absorbancia a 280 nm en cubetas de cuarzo de 1 cm de camino óptico ( $Abs_0$ ).

La muestra sobrante se deja reposar 7 horas a 10°C. Pasado este tiempo se centrifugan las muestras a 3500 rpm durante 10 minutos, y se mide la absorbancia a 280 nm en cubetas de cuarzo de 1 cm de camino óptico ( $Abs_7$ ).

$$\text{Índice de HCl} = ((Abs_0 - Abs_7)/Abs_0) * 100$$

### Reactivos empleados:

- HCl 37% (Scharlau)
- Agua destilada

#### **3.4.4. Determinación de la edad química del vino**

Se ha estudiado la edad química en todos los vinos de las dos experiencias del presente capítulo. Determinando el porcentaje de antocianos como ion flavilium ( $\alpha$ ), porcentaje de antocianos como ion flavilium después de suprimir el efecto decolorante del  $SO_2$  ( $\alpha\alpha$ ), relación de los pigmentos poliméricos respecto a los antocianos del vino (i), relación de los pigmentos poliméricos respecto a los antocianos en forma flavilium (ii) y relación de los antocianos en forma flavilium respecto a los antocianos del vino (i/ii) (apartado 3.6.3 del capítulo 1).

#### **3.4.5. Determinación de los parámetros de copigmentación del vino**

Se ha estudiado en todos los vinos analizados el color debido a los antocianos copigmentados (C), la fracción de color debida a la copigmentación (COP), color debido a los antocianos libres (TA), fracción de color debida a los antocianos libres (AL), color debido al pigmento polimérico (Ep), la fracción de color debida al pigmento polimérico (PP), contenido de cofactores flavonoles (FC), y contenido de fenoles totales (TP) (apartado 3.6.4 del capítulo 1).

#### **3.4.6. Determinación de los parámetros cromáticos del vino**

El color de los vinos del presente capítulo se ha determinado mediante Glories y las coordenadas cromáticas CIELab (apartado 3.6.5 del capítulo 1).

### 3.4.7. Determinación de fenoles volátiles del vino procedentes de la madera mediante cromatografía de gases

Los compuestos volátiles que han sido analizados mediante cromatografía de gases presentan interés desde el punto de vista enológico, al participar en las propiedades organolépticas de los vinos envejecidos. Se pueden agrupar en:

- **Lactonas:**  $\gamma$ -butirolactona, isómeros cis y trans de la  $\beta$ -metil- $\gamma$ -octolactona (W-lactona).
- **Derivados furánicos:** 2-furfuraldehído (furfural), 5-metilfurfural (5MF), 5-hidroximetilfurfural (5HMF) y alcohol furfurílico.
- **Piranonas:** Maltol.
- **Aldehídos fenólicos:** Vainillina, acetovainillona y siringaldehído.
- **Fenoles volátiles:** Eugenol, guayacol, isoeugenol.
- **Fenoles volátiles relacionados con aromas desagradables en vinos:** 4 etil-fenol.
- **Otros compuestos:** Alcohol bencílico.

#### 3.4.7.1. Preparación de la muestra

La determinación de los compuestos volátiles se ha realizado mediante una extracción líquido-líquido, previa centrifugación durante 10 minutos a 3500 rpm. Para ello se han añadido 1,5 gramos de amonio sulfato a 25 mL de vino para aumentar la fuerza iónica del vino y reducir la solubilización de los compuestos en agua. Estos compuestos se han analizado siguiendo el método descrito por Fernández de Simón con algunas modificaciones (Fernández de Simón y col., 2003).

Se han añadido al vino 7,5 mL de diclorometano y posteriormente durante 30 minutos a 200 rpm se ha realizado una agitación. A continuación se han introducido las muestras en un baño de ultrasonidos durante 15 minutos y por último se han centrifugado durante 7 minutos a 3500 rpm y 20°C.

Después, la fase orgánica se ha retirado mediante embudos de decantación donde se han separado parte de los compuestos volátiles de nuestro interés. A continuación se han realizado 2 extracciones más con diclorometano, añadiendo 2,5 mL cada vez para lograr la extracción de todos los compuestos volátiles de nuestro interés.

Al final las tres fases orgánicas se han mezclado y se han secado con sodio sulfato anhidro para eliminar las trazas de agua existentes en la fase orgánica. La fase final se ha concentrado en el rotavapor hasta 380  $\mu$ L, de forma que la muestra de vino se ha concentrado 66 veces, permitiendo una mejor identificación de los compuestos volátiles de interés. A continuación se ha introducido en un vial y se ha inyectado en el cromatógrafo de gases.

#### 3.4.7.2. Análisis mediante cromatografía de gases

Los análisis de los compuestos volátiles se han realizado en un cromatógrafo de gases Hewlett-Packard 6890 (figura 26). Las muestras se han inyectado en modo split (1:10, 0,1 mL/min), y la separación se ha llevado a cabo empleando una columna capilar (HP-Innowax) de 30 metros de longitud, 0,25 mm de diámetro interno y 0,25  $\mu$ m de espesor de película. Se ha empleado el nitrógeno como gas portador con un flujo de 1 mL/min.

En todos los casos las muestras se han analizado por duplicado.

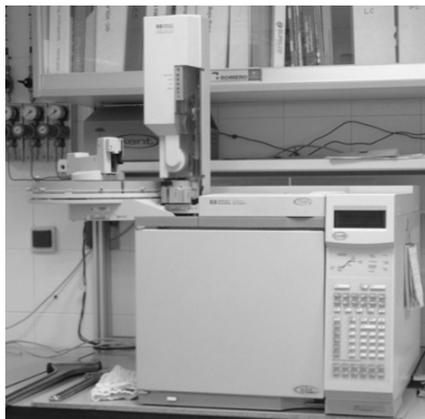


Figura 26- Cromatógrafo de gases HP 6890

Las condiciones de trabajo se desarrollaron por Fernández de Simón aunque también se han realizado algunas modificaciones (Fernández de Simón y *col.*, 2003):

- Volumen de inyección: 3  $\mu$ l.
- Temperatura del inyector: 250 °C
- Temperatura del detector: 250 °C
- Temperatura inicial de la columna: 45°C, se ha calentado 3°C/minuto hasta conseguir 230 °C y se ha mantenido durante 25 minutos, después se ha calentado 10 °C/minuto hasta llegar a los 250°C y se ha mantenido durante 10 minutos.
- Duración del análisis: 98,67 minutos.

#### **3.4.7.3. Condiciones de la detección y cuantificación**

Los compuestos volátiles de interés han sido identificados y cuantificados por comparación con el tiempo de retención de los patrones de estos compuestos. Se han analizado los patrones con las mismas condiciones de trabajo que las muestras de vino.

La calibración de los fenoles volátiles se ha realizado por el método del patrón externo, se han realizado rectas de calibrado con concentraciones conocidas de las disoluciones patrón de cada uno de los analitos. En la tabla 9 se presentan los tiempos de retención de los compuestos volátiles de interés con su desviación estándar, el rango de concentración empleado con cada compuesto para la realización de la recta de calibrado, la ecuación de regresión de la calibración, el coeficiente de determinación ( $r^2$ ) y los límites de detección y cuantificación (LD y LC), los cuales han sido calculados como 3 y 10 veces respectivamente la señal-ruido.

Los resultados obtenidos de la calibración han sido muy satisfactorios, ya que en todos los compuestos se han obtenido unos coeficientes superiores a 0,99, excepto el 4 etil fenol y el isoeugenol cuyo  $r^2$  ha sido superior a 0,985.

Tabla 9- Compuestos volátiles identificados y condiciones de la detección y cuantificación

Pico	Compuesto	Tr (min) ± S.D	Rango concentración (ppm)	y =a+bx	r <sup>2</sup>	LD	LC
1	Furfural	19,92 ± 0,21	10-90	y=3,092x + 9,385	0,9929	2,99	2,89
2	5MF	24,54 ± 0,40	2-18	y=1,860x - 0,140	0,9975	0,15	0,31
3	Alcohol Furfurílico	25,63 ± 0,30	100-1600	y=2,160x + 14,148	0,9993	6,49	6,35
4	Butirolactona	26,69 ± 0,14	4-36	y=1,199x + 0,353	0,9900	0,18	0,08
5	Guayacol	35,48 ± 0,32	4-36	y=2,809x + 2,375	0,9959	0,80	0,69
6	Alcohol Bencílico	36,13 ± 0,30	40-360	y=7,080x - 111,206	0,9938	15,73	15,65
7	W-Lactona- Trans	36,72 ± 0,20	40-360	y=2,298x - 8,056	0,9993	3,56	3,70
8	W-Lactona- Cis	39,14 ± 0,26	40-360	y=2,298x - 8,056	0,9993	3,56	3,70
9	Maltol	39,50 ± 0,30	10-90	y=1,253x - 5,429	0,9961	4,44	4,68
10	Eugenol	46,28 ± 0,52	4-36	y=3,825x - 2,635	0,9920	0,72	0,81
11	4 Etil Fenol	46,56 ± 0,48	4-36	y=3,965x - 1,971	0,9884	0,53	0,61
12	Isoeugenol	51,96 ± 0,65	5-45	y=1,371x + 5,727	0,9858	4,08	3,86
13	5 HMF	56,42 ± 0,33	5-45	y=0,559x + 0,251	0,9984	0,21	0,34
14	Vainillina	58,16 ± 0,37	10-90	y=0,742x + 1,257	0,9942	1,52	1,11
15	Acetovainillona	60,30 ± 0,30	5-45	y=1,100x - 0,657	0,9946	0,72	1,00
16	Siringaldehído	70,71 ± 0,90	10-90	y=0,566x + 1,527	0,9973	2,47	1,93

Tr (min) ± S.D. (n=12)

#### 3.4.7.4. Porcentaje de extracción

Se ha calculado el porcentaje de extracción de cada uno de los compuestos, para ello se ha realizado por quintuplicado la extracción de cada compuesto a distintos niveles de concentración.

Los resultados de las extracciones líquido-líquido sobre concentraciones conocidas de cada patrón (área extraída) y su relación con las mismas concentraciones de patrón analizadas directamente en el cromatógrafo (área sin extraer), han permitido conocer el porcentaje de extracción de cada compuesto, calculado con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ extracción} = 100 * (\text{área extraída} / \text{área sin extraer})$$

Los derivados furánicos han presentado un porcentaje de extracción superior al 73%, siendo del 88% en el caso del furfural, 75% para el 5MF, y 81% y 73% para el alcohol furfurílico y 5HMF respectivamente. En el caso de los aldehídos fenólicos su porcentaje de extracción ha sido de 38% en el caso de la vainillina (el más bajo de todos los obtenidos), y 100% para la acetovainillona y siringaldehído. El maltol ha presentado un porcentaje de extracción del 78%, 74% el alcohol bencílico y 73% la acetovainillona. Los fenoles volátiles han presentado un porcentaje de extracción del 65% en el caso del 4 etil fenol, 75% el isoeugenol, 80% el guayacol y 109% el eugenol. El porcentaje de extracción de las W-Lactonas ha sido superior al 90%, presentando el isómero trans un % de 92 y un 97% en el caso del isómero cis (tabla 10).

Tabla 10- Porcentajes de extracción

Compuesto	% de extracción
Furfural	88
5MF	75
Alcohol Furfurílico	81
Butirolactona	73
Guayacol	80
Alcohol Bencílico	74
W-Lactona- Trans	92
W-Lactona- Cis	97
Maltol	78
Eugenol	109
4 Etil Fenol	65
Isoeugenol	75
5 HMF	73
Vainillina	38
Acetovainillona	100
Siringaldehído	100

Los resultados de las muestras de vino analizadas en los diferentes experimentos se han expresado como ppm o mg/L del compuesto dado.

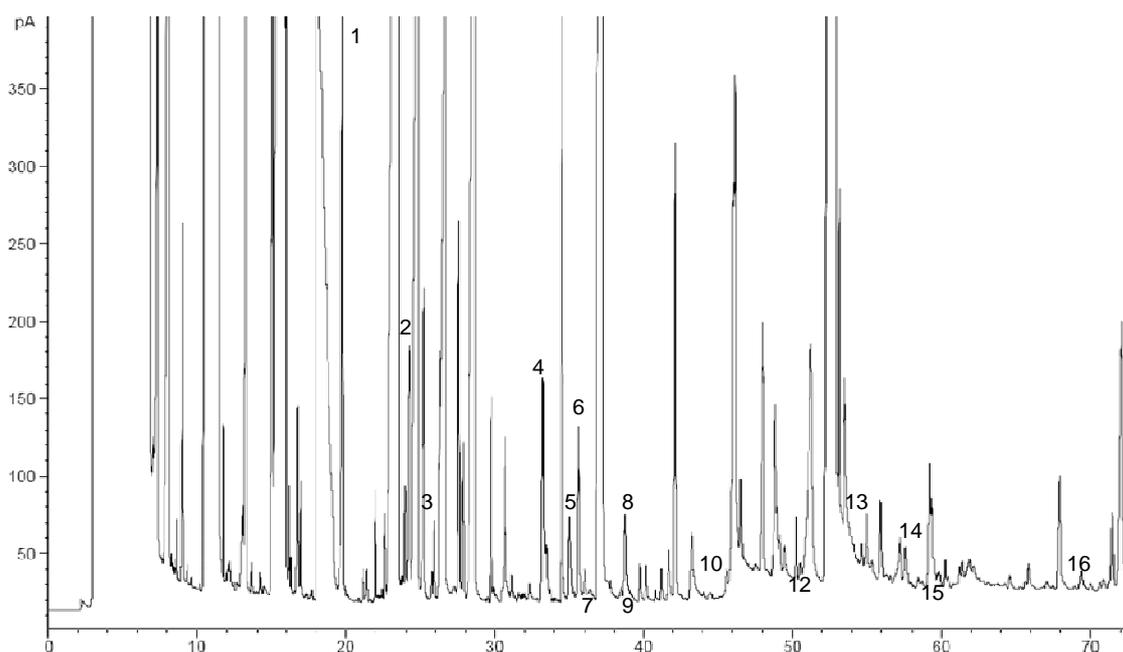


Figura 27- Cromatograma de un vino tinto D.O. Toro envejecido durante 4 meses con tablonas de *Q. pyrenaica* Willd. y micro-oxigenación (identificación de los picos según tabla 9)

### 3.4.8. Determinación de compuestos no volátiles de bajo peso molecular del vino mediante HPLC

Los compuestos de bajo peso molecular que se han cuantificado han sido: los ácidos gálico, sirínico, *p*-cumárico, protocatéuico, vainillínico, trans-caftárico, trans-cutárico, gentísico, clorogénico, caféico, ferúlico y sinápico, los aldehídos protocatéuico y *p*-hidroxibenzaldehído, y los flavanoles catequina y epicatequina. En el apartado 3.6.6 del capítulo 1 se explica más

detalladamente la determinación de los compuestos de bajo peso molecular en los vinos mediante cromatografía de líquidos.

### **3.4.9. Determinación de los antocianos pormenorizados del vino mediante HPLC**

Los antocianos identificados y cuantificados han sido: Delfinidín 3 *o*-glucósido, Malvidín 3 *o*-glucósido, Cianidín 3 *o*-glucósido, Petunidín 3 *o*-glucósido, Peonidín 3 *o*-glucósido, vitisín A, Malvidín 3 *o*-glucósido etil epicatequina, derivados acetilados (Peonidín 3 *o*-acetilglucósido y Malvidín 3 *o*-acetilglucósido) y derivados cumarilados (Delfinidín 3 *o*-cumarilglucósido, Cianidín 3 *o*-cumarilglucósido, Petunidín 3 *o*-cumarilglucósido y Malvidín 3 *o*-cumarilglucósido isómeros *cis* y *trans*). En el apartado 3.6.7 del capítulo 1 se explica más detalladamente la determinación de antocianos pormenorizados en los vinos mediante HPLC.

### **3.4.10. Análisis sensorial del vino**

El análisis organoléptico de los vinos evaluados en los dos experimentos de este capítulo ha sido realizado por un panel de 14 catadores expertos de Castilla y León, formado por siete hombres y siete mujeres, estando comprendidos 8 de ellos entre 30-40 años (C. González, S. Merino, L. Gallego, M. Meléndez A., González, J.C. González, J.I. Gallegos, S. Luis) y 6 entre 40-55 años (A. Otaño, A. Del Val, J.A. Fernández, L.M. Cárcel, I. Nevares, M. Del Álamo). El análisis sensorial ha sido coordinado por Carlos Martín a quién expreso mi agradecimiento.

Las catas se han realizado durante las fechas que aparecen en las tablas 5 y 8, realizándose una sesión del análisis organoléptico al inicio de los experimentos, a mitad de los experimentos y al final del envejecimiento, es decir cuando los vinos se embotellaron.

La ficha de cata se compone de 30 atributos divididos en fase visual, olfativa, fase gustativa y valoración global. Esta ficha ha sufrido una variación respecto a la ficha empleada en el experimento anterior, se ha reducido el número de atributos a evaluar, debido a que algunos daban la misma información y se han agrupado en un mismo grupo debido a su similitud, facilitando así el estudio de los vinos del experimento. En la figura 28 se presenta la ficha de cata empleada para el estudio de las muestras de vino de los dos experimentos que forman parte del capítulo 2.

### **3.4.11. Análisis estadístico**

Los análisis estadísticos se han llevado a cabo con el programa Statistica 7, se han realizado análisis de varianza (ANOVA). En el análisis univariante se ha calculado la media, *p* level según los factores (tamaño, grado de tostado y tipo de secado de la madera), la comparación entre los valores medios se ha realizado mediante un test LSD (Least Significant Difference), que muestra las medidas que pueden ser consideradas estadísticamente diferentes, siendo el test aplicado el de Fisher.

Además del análisis de varianza se ha realizado un análisis multivariante (análisis canónico discriminante) de las variables estudiadas durante dos periodos diferentes (tras 4 meses de envejecimiento con la madera y tras 18 meses de botella) en los vinos envejecidos con astillas y tabloncillos de *Quercus pyrenaica* Willd. Éste análisis permite el estudio de los parámetros

estudiados mediante una representación gráfica en el plano, definido por las funciones canónicas.

Todos los análisis estadísticos se han llevado a cabo utilizando el programa Statistica 7 (Versión 7: StatSoft, Inc., Tulsa, OK) como software de cálculo.

**FICHA DE CATA DE VINOS TINTOS. ENVEJECIMIENTO ALTERNATIVOS**  
**E.T.S. Ingenierías Agrarias. PALENCIA.**

---

FECHA

CATADOR

RIBERA 1

<p><b>1. COLOR</b>    0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10</p> <p>Intensidad <input type="checkbox"/></p> <p>Limpidez <input type="checkbox"/></p> <p>Azulados <input type="checkbox"/></p> <p>Rojos <input type="checkbox"/></p> <p>Amarillos <input type="checkbox"/></p> <p><b>2. AROMAS</b>    0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10</p> <p>Intensidad <input type="checkbox"/></p> <p>Afrutados <input type="checkbox"/></p> <p>Suciedad/Reducción <input type="checkbox"/></p> <p>Etanal/Oxidación <input type="checkbox"/></p> <p>Lácticos <input type="checkbox"/></p> <p><b>MADERA</b>    0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10</p> <p>Maderizado <input type="checkbox"/></p> <p>Tostado <input type="checkbox"/></p> <p>Balsámico <input type="checkbox"/></p> <p>Dulzones/Vainilla/Coco <input type="checkbox"/></p> <p>Especiados/Pimienta/Ciavo/Regaliz <input type="checkbox"/></p> <p>Canela <input type="checkbox"/></p> <p>Cacao <input type="checkbox"/></p> <p>Ahumados/Tabaco <input type="checkbox"/></p> <p>Café <input type="checkbox"/></p> <p>Cuero/Animal <input type="checkbox"/></p> <p>Herbáceo/Vegetal de la Madera <input type="checkbox"/></p>	<p><b>3. BOCA</b>    0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10</p> <p>Volumen/Grasa/Glicerina <input type="checkbox"/></p> <p>Acidez <input type="checkbox"/></p> <p>Intensidad Tánica <input type="checkbox"/></p> <p>Tanino dulce/redondo <input type="checkbox"/></p> <p>Tanino duro/Verde-Vegetal <input type="checkbox"/></p> <p>Astringencia/Tanino Seco <input type="checkbox"/></p> <p>Amargor <input type="checkbox"/></p> <p><b>4. IMPRESIÓN FINAL</b>    0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10</p> <p>Armonía <input type="checkbox"/></p> <p>Persistencia/Postgusto <input type="checkbox"/></p> <p><b>Valoración:</b> 0: no detectado 1-4: grado de detección del descriptor 5: se detecta 6-9: grado de intensidad del descriptor 10: sólo se detecta ese descriptor</p> <p><b>Sugerencias:</b></p>
-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Figura 28- Ficha de cata empleada para la evaluación de los vinos estudiados



## **Capítulo 2- Resultados y discusión**



## 4- Resultados y discusión

### 4.1. Evolución del vino en madera y en botella

Durante el envejecimiento del vino se producen una serie de fenómenos o transformaciones de carácter físico, químico e incluso biológico entre los componentes del vino y los propios cedidos por la madera. Fenómenos que dan lugar a una estabilización natural del vino y a una serie de cambios y una mejora de sus características sensoriales.

Se ha realizado el estudio de la evolución presentada por los diferentes parámetros, variables y compuestos fenólicos estudiados en los vinos mediante un análisis de varianza (ANOVA) y un análisis discriminante. Se ha analizado la importancia del tipo de secado (acelerado y tradicional), nivel de tostado de la madera (ligero, medio y fuerte), así como el sistema de envejecimiento (astillas y tablones). Los compuestos con un nivel de significación superior al 95% aparecen en negrita (tablas 11-22).

#### 4.1.1. Parámetros básicos del vino

Las tablas 11 y 12 muestran el contenido promedio y *p*-level de los parámetros básicos de los vinos analizados durante el envejecimiento en madera y botella.

Se han encontrado diferencias significativas (significación superior al 99,9%) entre los vinos envejecidos con astillas o con tablones durante el periodo de contacto vino-madera en las siguientes variables: Densidad relativa, acidez total y volátil, glucosa + fructosa, azúcares reductores, SO<sub>2</sub> total, ácidos málico y tartárico, antocianos, polifenoles totales, potasio y glicerol (tabla 11). En el caso de la glucosa + fructosa y los azúcares reductores también se han encontrado diferencias significativas según el tipo de secado de la madera.

Durante el periodo de botella el tamaño de la madera empleada ha influido estadísticamente (nivel de significación superior a 99,99%) en gran parte de los parámetros básicos analizados (acidez total y volátil, glucosa + fructosa, azúcares reductores, SO<sub>2</sub> libre y total, ácido tartárico, antocianos totales, polifenoles totales, intensidad colorante y potasio) (tabla 12). El grado de tostado también ha influido estadísticamente en la intensidad colorante de los vinos, y el tipo de secado de la madera en el contenido de glicerol y en la intensidad colorante de los vinos.

Tabla 11- Contenido promedio de los parámetros básicos de los vinos en función del formato, tostado y secado durante el envejecimiento en madera y resultados de la ANOVA

	Tamaño			Tostado				Secado		
	Astillas	Tablones	p level	Ligero	Medio	Fuerte	p level	Tradic.	Aceler.	p level
Grado (%)	13,44 a	13,43 a	0,761	13,42 a	13,44 a	13,44 a	0,606	13,42 a	13,45 a	0,191
Ex.Seco (g/L)	30,98 a	31,12 a	0,114	31,08 a	31,05 a	31,00 a	0,768	31,03 a	31,06 a	0,864
Densidad	0,995 a	0,995 b	<b>0,039</b>	0,995 a	0,995 a	0,995a	0,847	0,995 a	0,995 a	0,397
Ac. Tot. (g/L)	4,85 a	5,24 b	<b>0,000</b>	5,03 a	5,04 a	5,01 a	0,761	5,04 a	5,02 a	0,238
Ac. Vol. (g/L)	0,55 a	0,89 b	<b>0,000</b>	0,70 a	0,70 a	0,71 a	0,767	0,70 a	0,70 a	0,792
pH	3,77 a	3,76 a	0,476	3,76 a	3,76 a	3,77 a	0,755	3,77 a	3,76 a	0,894
Azúc. (g/L)	1,61 a	1,72 b	<b>0,000</b>	1,64 a	1,67 a	1,67 a	0,252	1,68 b	1,64 a	<b>0,019</b>
SO <sub>2</sub> L (mg/L)	13,54 a	12,67 a	0,414	12,57 a	13,75 a	13,11 a	0,654	13,73 a	12,56 a	0,243
SO <sub>2</sub> T (mg/L)	44,74 a	68,68 b	<b>0,000</b>	55,71 a	55,42 a	55,75 a	0,991	55,69 a	55,56 a	0,829
MH2 (mg/L)	0,10 a	0,11 b	<b>0,006</b>	0,10 a	0,11 a	0,11 a	0,550	0,11 a	0,11 a	0,381
TH2 (g/L)	1,24 b	1,14 a	<b>0,000</b>	1,20 a	1,19 a	1,19 a	0,991	1,20 a	1,19 a	0,785
K (mg/L)	1381,39 a	1481,35 b	<b>0,000</b>	1433,25 a	1439,18 a	1408,05 a	0,541	1427,38 a	1426,27 a	0,965
Glicer. (g/L)	9,91 a	10,09 b	<b>0,003</b>	9,95 a	10,00 a	10,03 a	0,483	9,95 a	10,04 a	0,175

(Para cada factor, letras distintas en filas indican diferencias estadísticamente significativas). En negrita se muestra el p level con significación > 95% (p<0,05)

Tabla 12- Contenido promedio de los parámetros básicos de los vinos en función del formato, tostado y secado durante el periodo de botella y resultados de la ANOVA

	Tamaño			Tostado				Secado		
	Astillas	Tablones	p level	Ligero	Medio	Fuerte	p level	Tradic.	Aceler.	p level
Grado (%)	13,29 a	13,29 a	0,991	13,24 a	13,33 a	13,31 a	0,231	13,30 a	13,29 a	0,822
Ex.Seco (g/L)	30,18 a	29,94 a	0,254	29,97 a	30,18 a	30,04 a	0,698	30,08 a	30,04 a	0,848
Densidad	0,994 a	0,994 a	0,093	0,994 a	0,994 a	0,994 a	0,698	0,994 a	0,994 a	0,991
Ac. Tot. (g/L)	4,96 a	5,13 b	<b>0,001</b>	5,00 a	5,09 a	5,05 a	0,300	4,99 a	5,10 a	0,034
Ac. Vol. (g/L)	0,54 a	0,90 b	<b>0,000</b>	0,72 a	0,72 a	0,72 a	0,826	0,72 a	0,71 a	0,302
pH	3,84 a	3,81 a	0,177	3,83 a	3,82 a	3,82 a	0,911	3,83 a	3,82 a	0,736
Azúc. (g/L)	1,52 b	1,36 a	<b>0,000</b>	1,38 a	1,45 ab	1,48 b	0,052	1,45 a	1,43 a	0,536
SO <sub>2</sub> L (mg/L)	6,72 a	7,47 b	<b>0,021</b>	6,92 a	7,42 a	6,96 a	0,366	6,86 a	7,33 a	0,142
SO <sub>2</sub> T (mg/L)	37,22 a	51,06 b	<b>0,000</b>	43,88 a	45,29 a	43,25 a	0,777	42,83 a	45,44 a	0,281
MH2 (mg/L)	0,10 a	0,09 a	0,144	0,10 a	0,10 a	0,10 a	0,788	0,10 a	0,10 a	1,000
TH2 (g/L)	1,07 b	0,96 a	<b>0,001</b>	1,02 a	1,01 a	1,01 a	0,989	1,01 a	1,02 a	0,755
K (mg/L)	1533,89 b	1428,94 a	<b>0,000</b>	1483,42 a	1480,83 a	1480,00 a	0,992	1493,33 a	1469,50 a	0,312
Glicer. (g/L)	10,19 a	10,17 a	0,714	10,14 a	10,17 a	10,22 a	0,560	10,24 b	10,12 a	<b>0,047</b>

(Para cada factor, letras distintas en filas indican diferencias estadísticamente significativas). En negrita se muestra el p level con significación > 95% (p<0,05)

Las figuras 29 a y 29 b muestran la evolución de la densidad relativa en los vinos analizados durante todo el envejecimiento (periodo de contacto del vino con la madera y periodo de botella). Se ha observado un descenso de la densidad relativa a lo largo de todo el periodo de estudio, el cual es debido a la clarificación espontánea que tiene lugar durante el envejecimiento y que implica la pérdida de sustancias en suspensión.

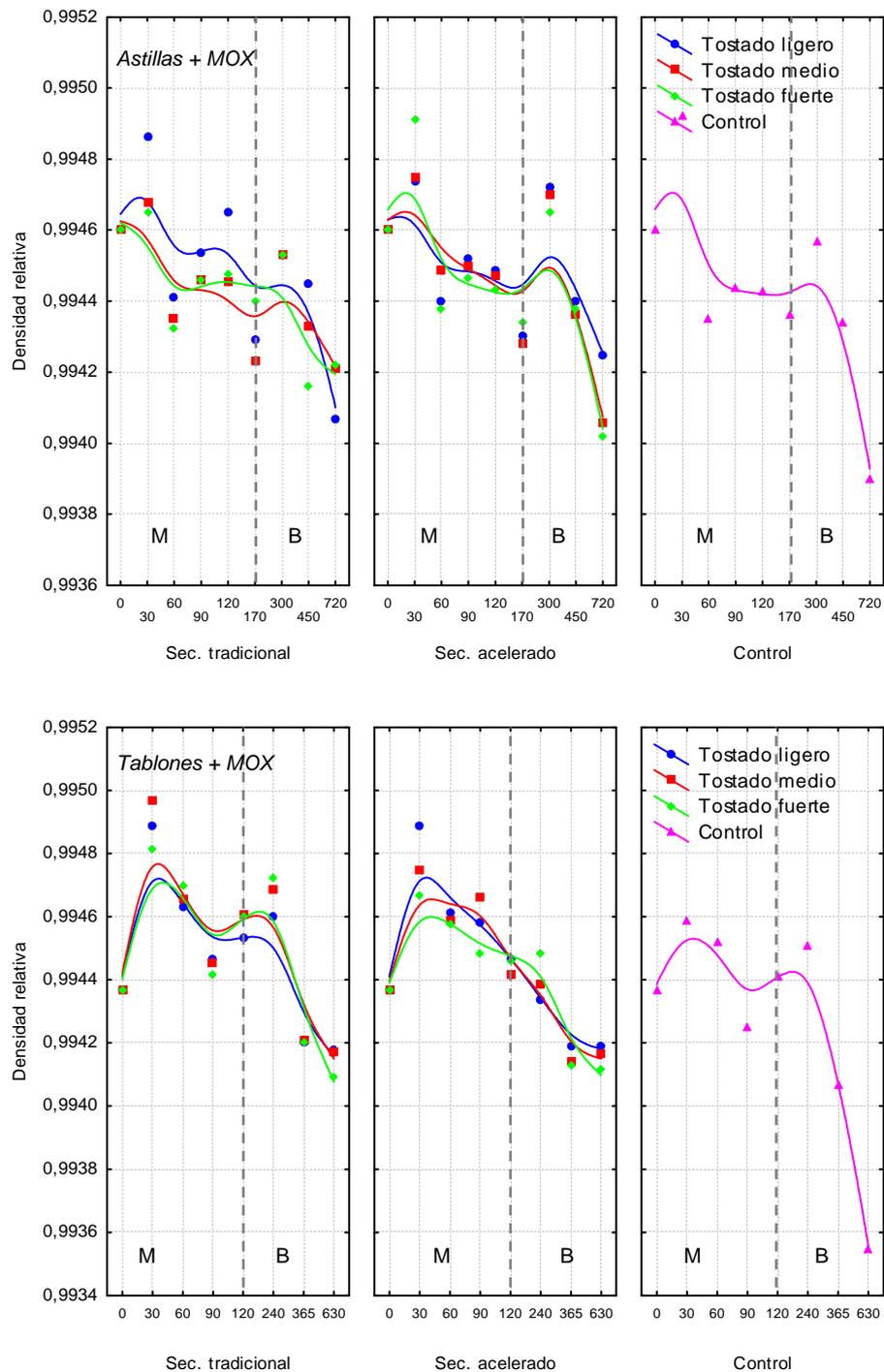


Figura 29- Evolución de la densidad relativa en los vinos con astillas (29a) y con tablones (29b) de *Quercus pyrenaica* Willd. durante el envejecimiento en madera (M) y permanencia en botella (B)

En función del tamaño de la madera, los vinos tratados con tablones y micro-oxigenación han mantenido la densidad relativa más alta durante su permanencia con la madera (tabla 11 y

figuras 29 a y 29 b), siendo significativas estas diferencias al comparar con los vinos de astillas y micro-oxigenación.

El tipo de secado y el grado de tostado de la madera no han afectado significativamente a la densidad relativa de los vinos (tablas 11 y 12), mostrando todos los vinos valores muy similares durante los dos periodos de estudio (contacto vino-madera y permanencia en botella).

El tamaño de la madera empleado para el envejecimiento de los vinos (astillas o tablones) ha influido estadísticamente en la concentración de la acidez total y acidez volátil de los vinos estudiados, tanto durante el periodo vino-madera como durante su permanencia en botella (tablas 11 y 12, figuras 30 a-b y 31 a-b), siendo los vinos tratados con tablones y MOX los que mayor acidez han presentado. La acidez total y acidez volátil se han mantenido más bajas en los vinos tratados con astillas y micro-oxigenación en relación a los vinos envejecidos con tablones y MOX. La menor acidez total presentada en los vinos con astillas y micro-oxigenación ha podido ser debida a que en estos depósitos el vino ha sufrido más fácilmente la precipitación tartárica al ser las propias astillas puntos de precipitación (Del Álamo y col., 2006). Las diferencias encontradas en el contenido de la acidez volátil en los vinos analizados según el tamaño de la madera, pueden ser explicadas porque los tablones ceden mayor cantidad de grupos acetilo procedentes de la hemicelulosa (Del Álamo y col., 2006), siendo estos vinos los que mayor acidez volátil presentan durante todo el envejecimiento.

La evolución de la acidez total y volátil en los vinos ha presentado ligeros cambios a lo largo del envejecimiento en madera y durante su permanencia en botella (figuras 30 a-b y 31 a-b), siendo similar en todos los vinos estudiados.

Las diferencias encontradas en los vinos según el grado de tostado y el tipo de secado de la madera no han sido significativas. Destaca el aumento de la acidez total en el último muestreo de los vinos envejecidos con astillas y micro-oxigenación, posiblemente debido a un error de medida, ya que este incremento no es lógico. También es llamativo el valor tan elevado de la acidez volátil del primer y último muestreo de los vinos tratados con tablones y MOX (figuras 31 a y 31 b), lo cual ha podido ser debido al tiempo transcurrido desde el envío de la muestra hasta su análisis.

La cantidad de azúcares reductores (glucosa y fructosa) en los vinos ha descendido con el envejecimiento (figuras 32 a y 32 b). El tamaño de los productos alternativos a las barricas (astillas y tablones) y el tipo de secado (tradicional y acelerado) han influido estadísticamente en el contenido de los azúcares residuales en los vinos durante el envejecimiento en madera, de forma que los vinos con tablones y micro-oxigenación han presentado mayor contenido de azúcares reductores que al utilizar astillas y MOX, por lo tanto estos vinos han sufrido menos degradaciones que al emplear astillas en el envejecimiento (tabla 11, figuras 32 a y 32 b).

Respecto al tipo de secado de la madera las mayores concentraciones de azúcares en los vinos se han conseguido al secar la madera de forma tradicional (tabla 11).

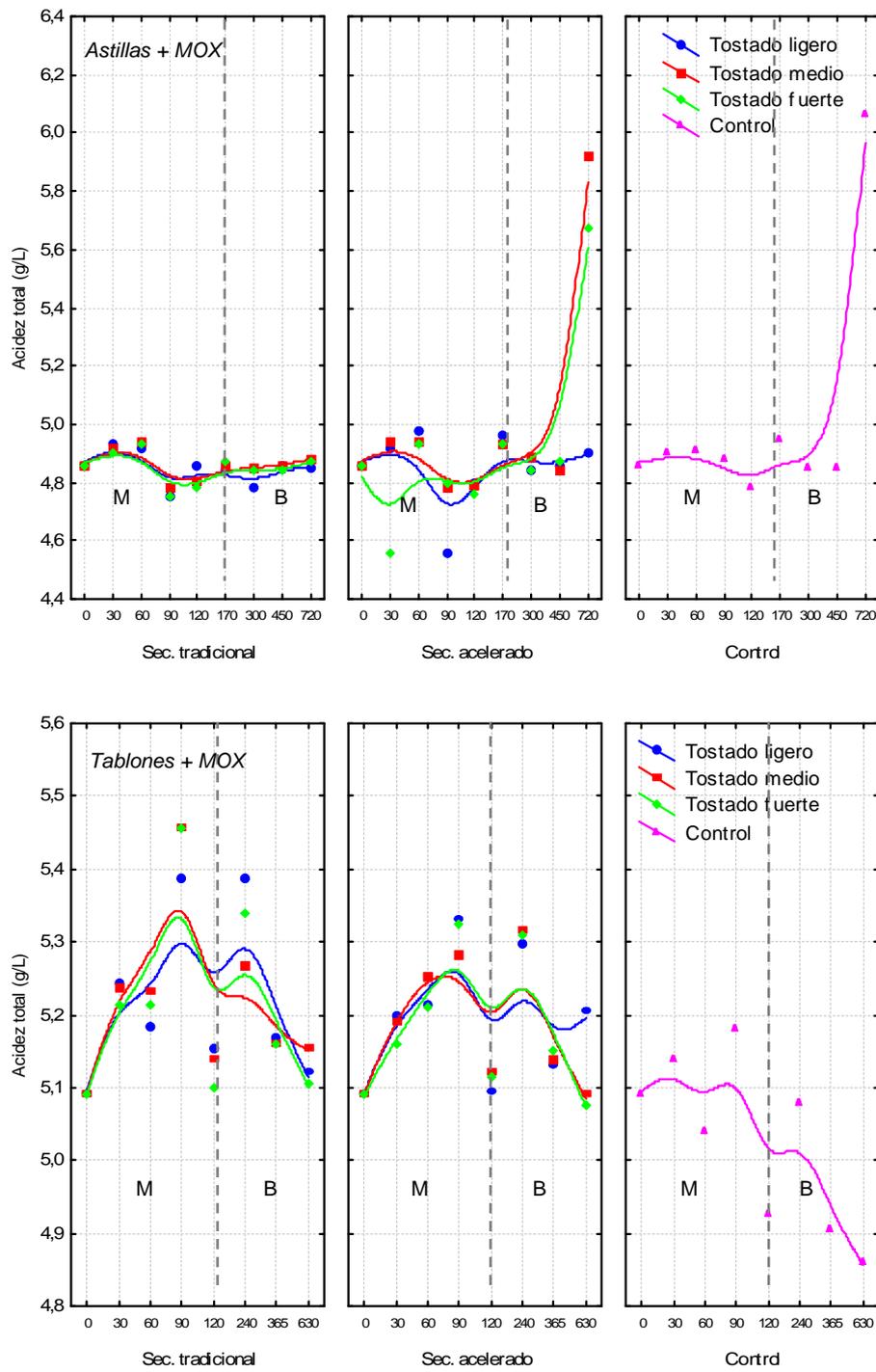


Figura 30- Acidez total en los vinos tratados con madera de *Quercus pyrenaica* Willd., astillas (30a) y tablones (30b) durante el periodo de contacto vino-madera (M) y periodo de botella (B)

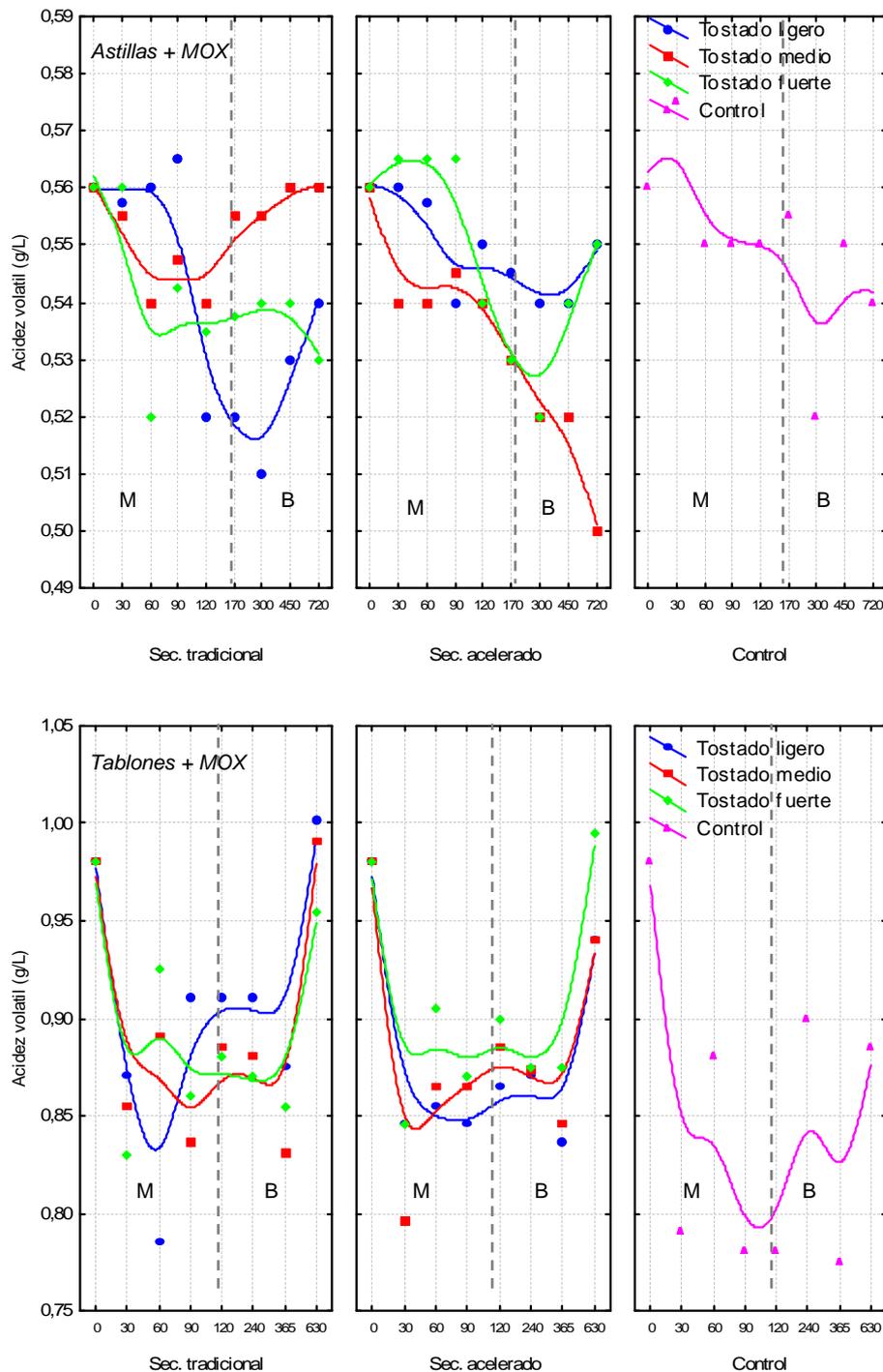


Figura 31- Evolución de la acidez volátil en los vinos tratados con astillas (31a) y con tablones (31b) de *Quercus pyrenaica* Willd. durante el envejecimiento en madera (M) y permanencia en botella (B)

Durante el periodo de botella la concentración de azúcares reductores en los vinos tratados con astillas y micro-oxigenación ha sido superior que al envejecer los vinos con tablones y micro-oxigenación, siendo significativas estas diferencias (tabla 12).

Según grado de tostado de la madera todos los vinos han presentado concentraciones similares de azúcares, se observó un ligero incremento al aumentar el grado de tostado no siendo significativas las diferencias (tabla 12 y figuras 32 a y 32 b). En función del tipo de

secado de la madera se ha observado lo mismo que durante el periodo de contacto del vino con la madera, los vinos envejecidos con madera seca de forma tradicional han presentado un contenido de azúcares reductores ligeramente superior que al utilizar madera con secado acelerado (tabla 12, figuras 32 a y 32 b).

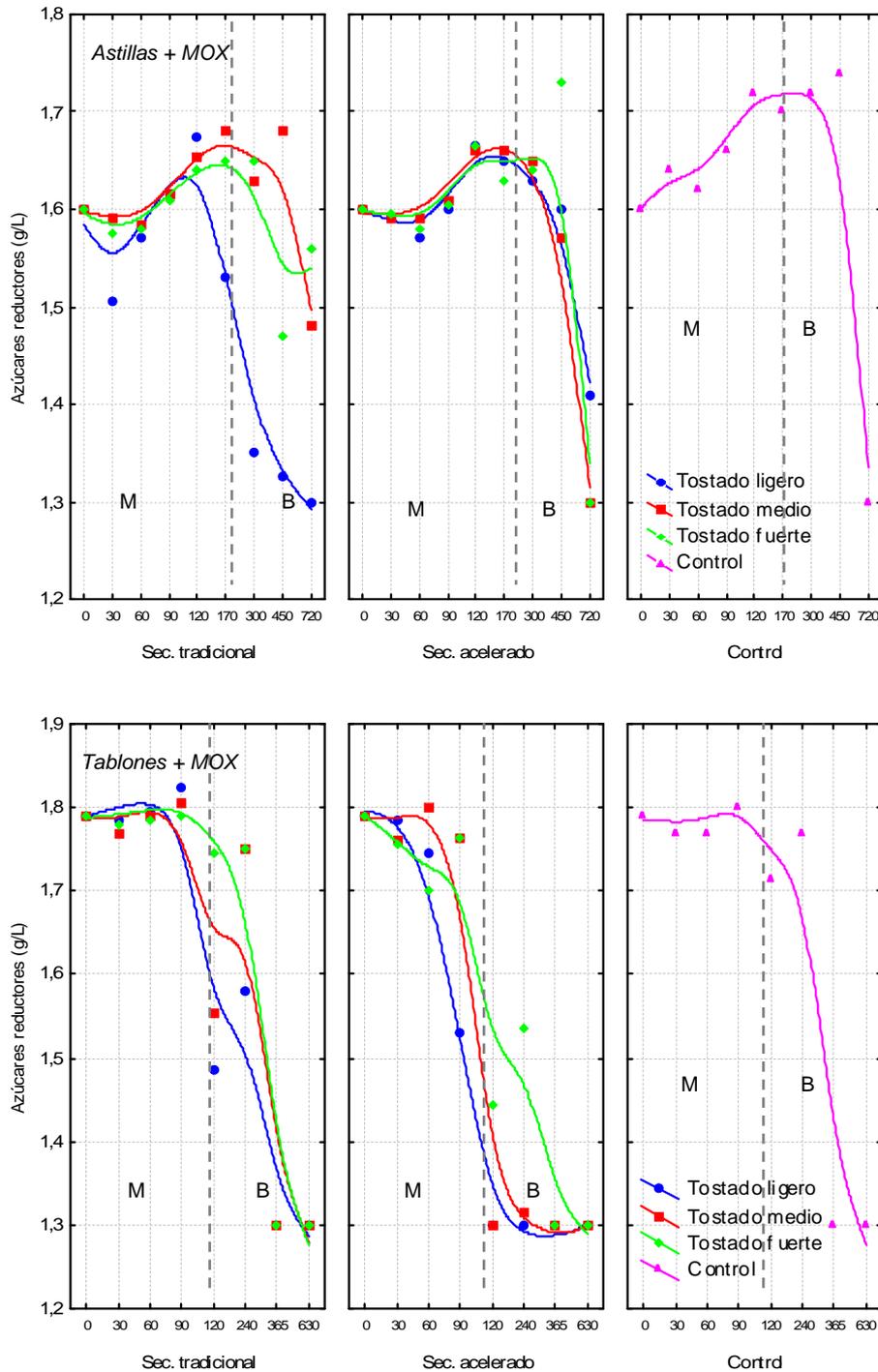


Figura 32- Evolución de los azúcares reductores presentados por vinos tintos con astillas (32a) y con tablones (32b) de *Quercus pyrenaica* Willd. durante el envejecimiento en madera (M) y permanencia en botella (B)

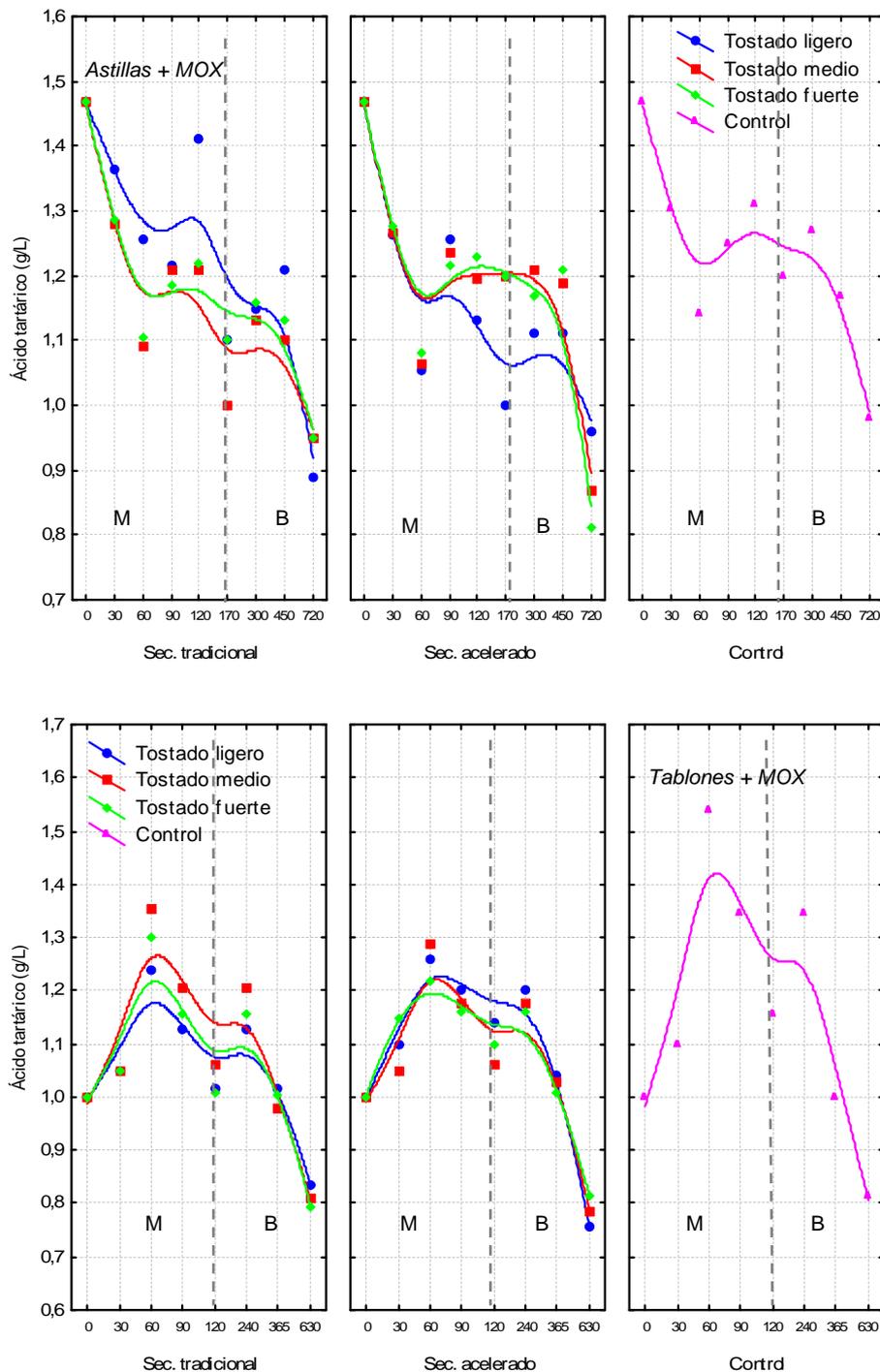


Figura 33- Cambios en el contenido del ácido tartárico en los vinos tratados con astillas (33a) y tablones (33b) de *Quercus pyrenaica* Willd. durante el periodo de contacto vino-madera (M) y periodo de botella (B)

El contenido de ácido tartárico en los vinos estudiados ha presentado un descenso progresivo a lo largo del envejecimiento (figuras 33 a y 33 b), el cual es debido a la precipitación natural en forma de sales (bitartrato potásico, tartrato cálcico) que tiene lugar durante la crianza de los vinos.

Los vinos tratados con astillas y micro-oxigenación han presentado durante el periodo de contacto vino-madera y periodo de botella (tablas 11 y 12) mayor contenido de este ácido que

al utilizar tablones y MOX para el envejecimiento de los vinos, siendo significativas las diferencias (nivel de significación superior a 99,9%). El secado y el grado de tostado de la madera no han influido significativamente en el contenido de ácido tartárico de los vinos estudiados, al presentar concentraciones similares durante todo el envejecimiento (periodo de madera y de botella). Se ha observado una concentración ligeramente superior de ácido tartárico en los vinos envejecidos con madera de tostado ligero (tablas 11 y 12).

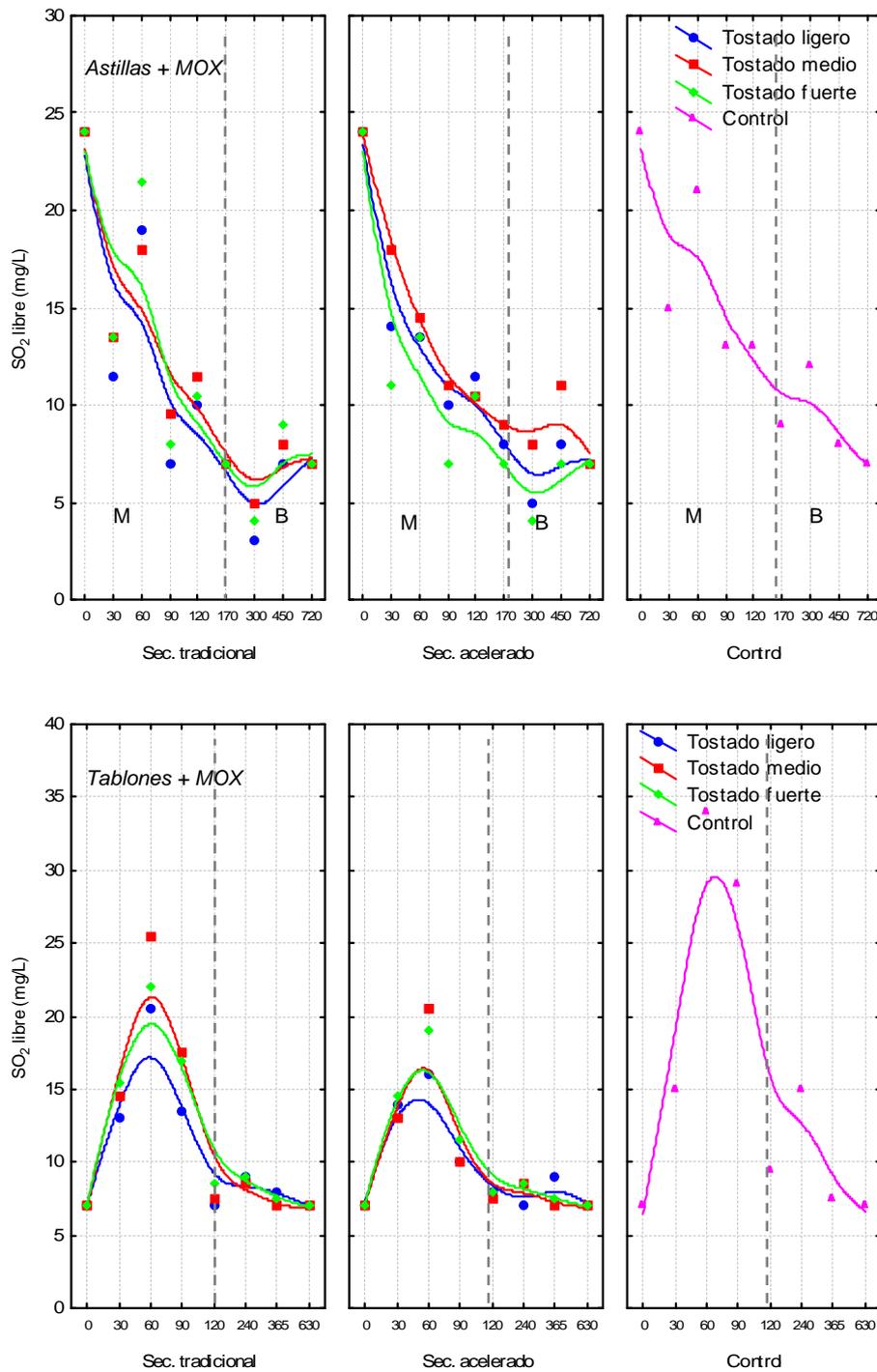


Figura 34- Cambios en el contenido de SO<sub>2</sub> libre en los vinos tintos tratados con astillas (34a) y tablones (34b) de *Quercus pyrenaica* Willd. durante el envejecimiento en madera (M) y permanencia en botella (B)

Las figuras 34 y 35 muestran la evolución del anhídrido sulfuroso libre y total de los vinos estudiados. Durante el envejecimiento de los vinos con la madera se ha observado un descenso en su concentración debido a su combinación con compuestos del vino y a la oxidación. Los vinos con tablonos y micro-oxigenación (figuras 34 b y 35 b) han presentado un incremento en el contenido de  $\text{SO}_2$  libre y total debido al sulfitado que tuvo lugar a los 60 días desde el comienzo del experimento.

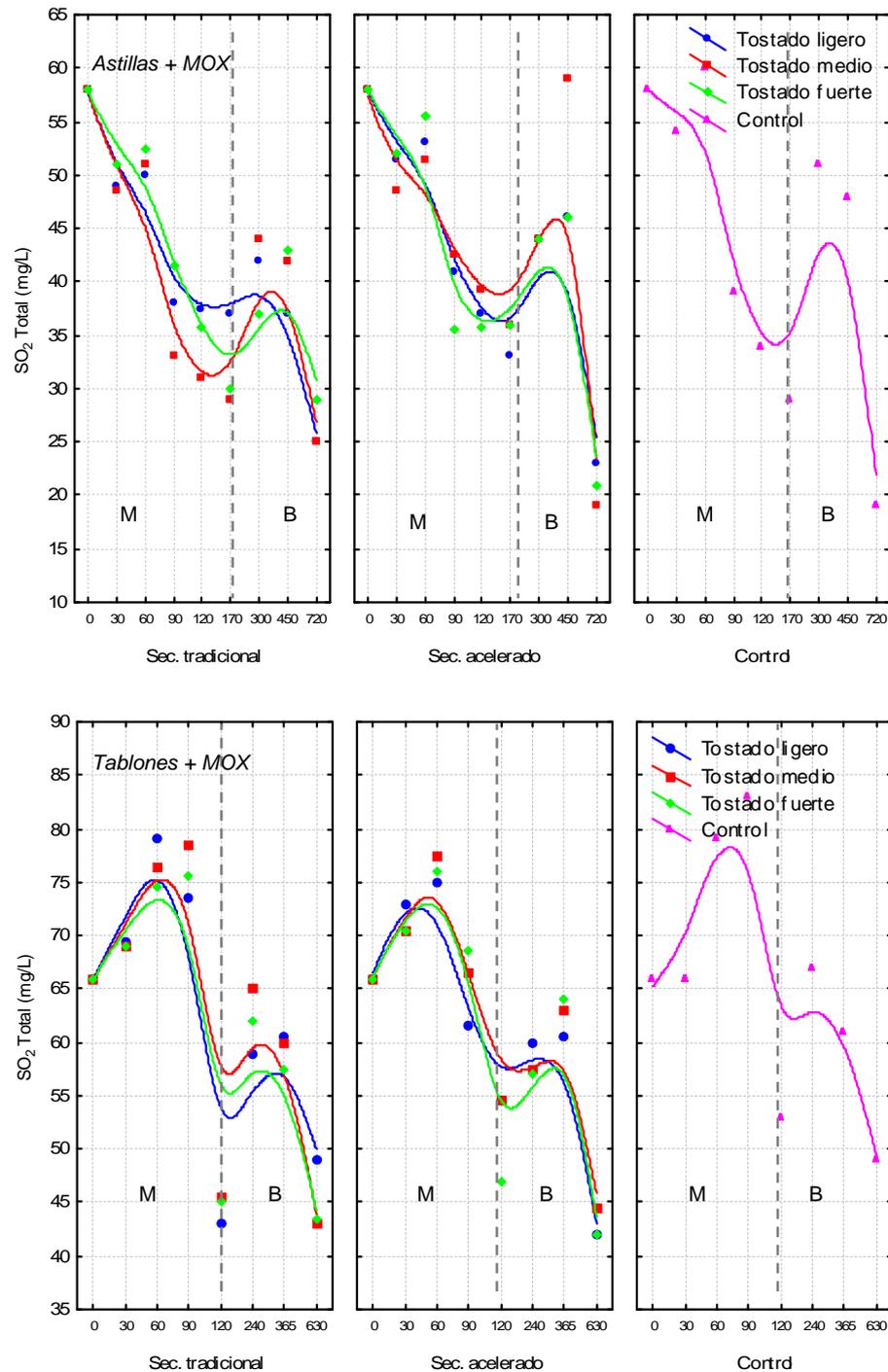


Figura 35- Evolución del  $\text{SO}_2$  total en los vinos con astillas (35a) y tablonos (35b) de *Quercus pyrenaica* Willd. durante el envejecimiento en madera (M) y permanencia en botella (B)

#### **4.1.2. Familias de compuestos fenólicos, índices, edad química y parámetros de copigmentación en los vinos**

Durante el envejecimiento de los vinos los compuestos fenólicos participan en numerosas reacciones químicas, lo que va a provocar la disminución de su contenido polifenólico debido a la condensación entre los antocianos libres y a los procesos de polimerización responsables del descenso de la astringencia de los vinos. Se favorecen una serie de fenómenos de oxidación que están relacionados directamente con la evolución que experimenta el color y que dependen de las características de la madera.

Las tablas 13 y 14 muestran el valor medio y *p* level de las familias fenólicas, índices, edad química y parámetros de copigmentación durante el envejecimiento del vino, en función de los factores tamaño de los productos alternativos a las barricas (astillas y tablones), grado de tostado (ligero, medio y fuerte) y de secado de la madera (tradicional y acelerado), tanto para el periodo de contacto con la madera (tabla 13) como en botella (tabla 14).

La concentración de polifenoles totales (PT) durante todo el envejecimiento (madera y botella) ha estado afectada significativamente por el tamaño de la madera empleada (tablas 13 y 14). Durante el periodo de contacto vino-madera, se ha observado en los vinos un contenido superior de polifenoles totales al envejecer con astillas y micro-oxigenación que al utilizar tablones y micro-oxigenación (tabla 13, figuras 36 a y 36 b).

El grado de tostado de la madera ha influido significativamente en el contenido de PT de los vinos durante el periodo de botella (tabla 14), disminuyendo su concentración en los vinos al aumentar el grado de tostado de la madera. Los vinos embotellados envejecidos con madera de tostado ligero han contenido más polifenoles totales que al emplear madera de tostado fuerte (tabla 14, figuras 36 a y 36 b).

La evolución presentada por los PT en los vinos ha sido similar en todas las muestras analizadas, los vinos envejecidos con astillas han aumentado la concentración en PT (hasta el día 90) debido a la aportación de estos compuestos por parte de la madera, y posteriormente su contenido descendió debido a las reacciones que tienen lugar durante el envejecimiento (figura 36 a). Los vinos tratados con tablones y micro-oxigenación aumentaron el contenido en PT a partir de los 90 días de envejecimiento y a continuación mostraron un descenso de polifenoles menos marcado que al emplear astillas (figura 36 b).

El secado de la madera no ha afectado significativamente al contenido de polifenoles totales en los vinos durante los dos periodos estudiados (madera y botella) (tablas 13 y 14). Los vinos envejecidos con madera de secado acelerado han presentado a lo largo de todo el estudio concentraciones ligeramente superiores que al emplear madera secada de forma tradicional. Durante el periodo de permanencia del vino con la madera, el grado de tostado no ha influido estadísticamente en las concentraciones de PT en los diferentes vinos, aunque se ha observado una disminución de los polifenoles totales al aumentar el grado de tostado (tabla 13, figuras 36 a y 36 b), siendo más evidente este resultado en los vinos con astillas de secado acelerado y en los vinos con tablones de secado tradicional.

Los vinos embotellados tratados con tablonc de tostado ligero han presentado un nivel de polifenoles significativamente más alto que cuando se trataron con tablonc de tostado medio, mostrando los vinos envejecidos con tablonc de tostado fuerte los contenidos más bajos de polifenoles totales (tabla 14, figuras 36 a y 36 b).

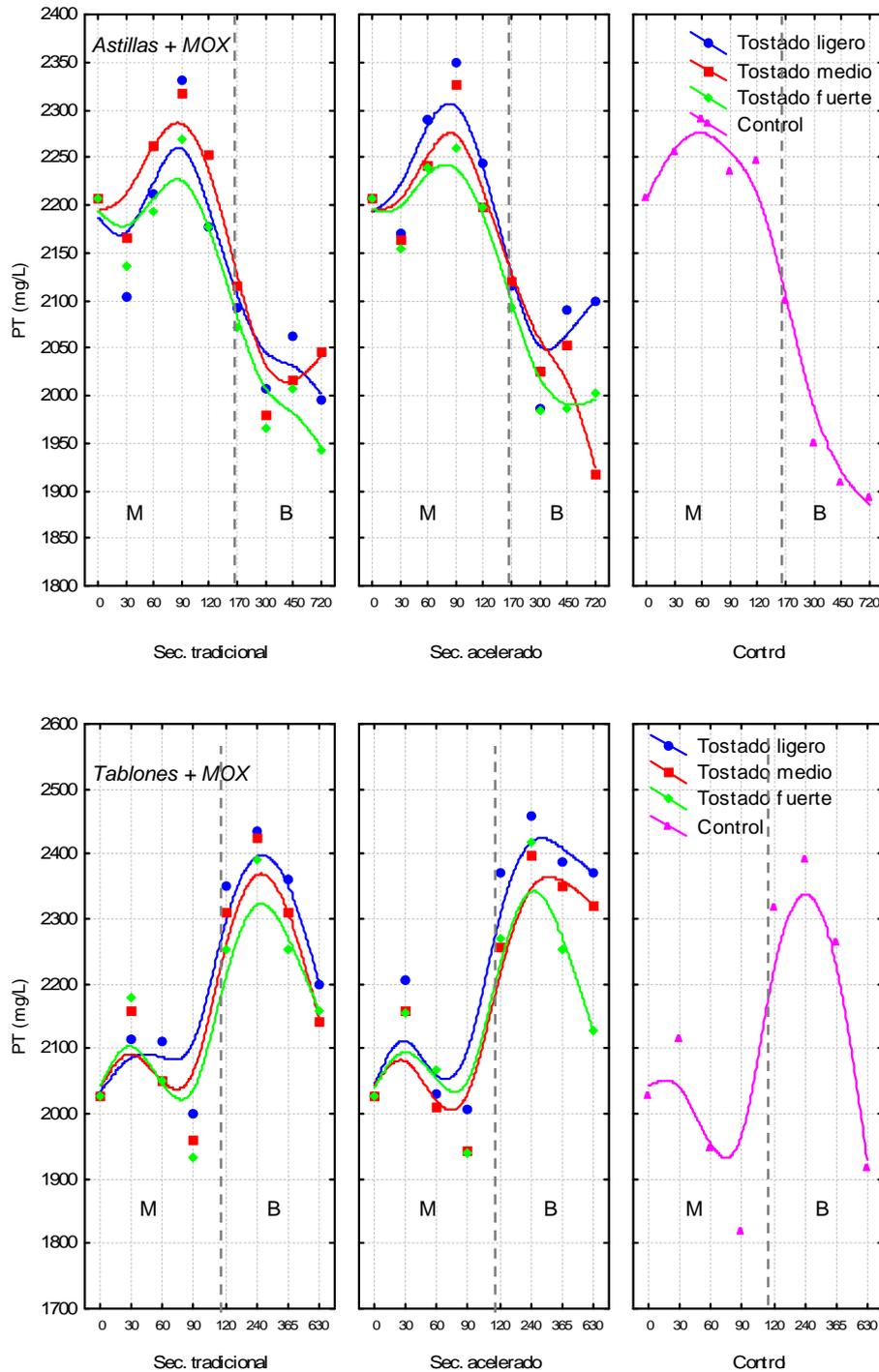


Figura 36- Cambios en el contenido de polifenoles totales durante el envejecimiento con astillas (36a) y tablonc (36b) de *Quercus pyrenaica* Willd. durante el envejecimiento en madera (M) y permanencia en botella (B)

Tabla 13- Contenido promedio de las familias de compuestos fenólicos presentes en el vino en función del formato, tostado y secado durante el envejecimiento en madera y resultados de la ANOVA

	Tamaño			Tostado				Secado		
	Astillas	Tablones	p level	Ligero	Medio	Fuerte	p level	Tradic.	Aceler.	p level
PT (mg/L)	2202,09 b	2125,88 a	<b>0,001</b>	2178,30 a	2169,88 a	2154,16 a	0,686	2163,29 a	2171,60 a	0,741
PPP (mg/L)	1261,38 b	1104,47 a	<b>0,000</b>	1194,26 a	1197,20 a	1178,71 a	0,543	1191,54 a	1188,57 a	0,792
PMP (mg/L)	940,71 a	1021,41b	<b>0,005</b>	984,04 a	972,68 a	975,45 a	0,932	971,75 a	983,03 a	0,688
CAT (mg/L)	746,46 a	794,96 b	<b>0,000</b>	780,35 a	773,56 a	751,60 a	0,175	766,84 a	770,17 a	0,724
ANT (mg/L)	606,06 b	572,51 a	<b>0,001</b>	589,79 a	595,48 a	587,16 a	0,798	591,27 a	590,34 a	0,889
TAN (g/L)	2,35 b	2,19 a	<b>0,000</b>	2,30 a	2,24 a	2,28 a	0,555	2,24 a	2,31 a	0,084
Edad química										
i	0,37 a	0,39 b	<b>0,027</b>	0,38 a	0,38 a	0,38 a	0,883	0,38 a	0,38 a	0,933
ii	0,12 a	0,14 b	<b>0,000</b>	0,13 a	0,13 a	0,13 a	0,525	0,13 a	0,13 a	0,853
i/ii	3,25 b	2,12 a	<b>0,000</b>	3,05 a	3,04 a	3,00 a	0,785	3,04 a	3,02 a	0,775
α	15,86 a	19,38 b	<b>0,004</b>	17,63 a	16,89 a	17,86 a	0,818	17,26 a	17,66 a	0,728
αα	26,16 a	27,48 a	0,057	26,57 a	26,67 a	27,05 a	0,843	26,70 a	26,82 a	0,923
Copigmentación										
C	3,25 b	2,12 a	<b>0,000</b>	2,77 a	2,75 a	2,69 a	0,971	2,77 a	2,70 a	0,775
TA	3,91 a	4,48 b	<b>0,000</b>	4,13 a	4,16 a	4,23 a	0,770	4,17 a	4,17 a	0,965
Ep	3,37 a	3,29 a	0,413	3,35 a	3,32 a	3,33 a	0,965	3,34 a	3,32 a	0,866
FC	9,54 a	9,68 a	0,144	9,59 a	9,60 a	9,62 a	0,981	9,59 a	9,62 a	0,727
TP	72,93 a	72,02 a	0,485	72,11 a	72,73 a	72,71 a	0,830	72,95 a	72,08 a	0,581
COP	0,31 b	0,21 a	<b>0,000</b>	0,27 a	0,27 a	0,27 a	0,967	0,27 a	0,27 a	0,713
AL	0,36 a	0,45 b	<b>0,000</b>	0,40 a	0,40 a	0,41 a	0,943	0,40 a	0,41 a	0,835
PP	0,32 a	0,33 a	0,405	0,33 a	0,32 a	0,32 a	0,926	0,33 a	0,33 a	0,846
Índice etanol	25,33 a	26,69 a	0,250	25,51 a	26,62 a	25,71 a	0,641	26,89 a	25,00 a	0,129
Índice HCL	2,04 a	9,34 b	<b>0,000</b>	4,07 a	5,72 ab	6,28 b	0,091	6,06 a	4,65 a	0,090
Índice gelatina	61,61 a	62,32 a	0,657	62,03 a	61,28 a	62,49 a	0,800	61,66 a	62,21 a	0,640
Índice ionización	22,19 b	20,15 a	<b>0,025</b>	21,49 a	20,68 a	21,61 a	0,679	21,30 a	21,22 a	1,000

(Para cada factor, letras distintas en filas indican diferencias estadísticamente significativas). En negrita se muestra el p level con significación > 95% (p<0,05)

Tabla 14- Contenido promedio de las familias de compuestos fenólicos presentes en el vino en función del formato, tostado y secado durante el periodo de botella y resultados de la ANOVA

	Tamaño			Tostado				Secado		
	Astillas	Tablones	p level	Ligero	Medio	Fuerte	p level	Tradic.	Aceler.	p level
PT (mg/L)	2008,80 a	2280,38 b	<b>0,000</b>	2189,93 c	2143,75 b	2100,09 a	<b>0,000</b>	2131,07 a	2158,11 a	0,102
PPP (mg/L)	1085,89 a	1058,09 a	0,494	1104,82 a	1076,82 a	1034,32 a	0,364	1074,38 a	1069,33 a	0,896
PMP (mg/L)	922,91 a	993,86 a	0,401	970,61 a	950,89 a	953,65 a	0,979	941,81 a	974,96 a	0,694
CAT (mg/L)	710,61 b	520,29 a	<b>0,000</b>	628,02 a	613,62 a	604,71 a	0,894	604,11 a	626,79 a	0,578
ANT (mg/L)	346,18 b	215,15 a	<b>0,000</b>	284,74 a	286,87 a	270,38 a	0,891	273,07 a	288,26 a	0,619
TAN (g/L)	2,23 b	2,10 a	<b>0,017</b>	2,28 b	2,14 ab	2,09 a	<b>0,026</b>	2,15 a	2,19 a	0,469
Edad química										
i	0,53 a	0,58 b	<b>0,007</b>	0,56 a	0,55 a	0,57 a	0,715	0,57 a	0,55 a	0,283
ii	0,22 a	0,27 b	<b>0,000</b>	0,24 a	0,24 a	0,25 a	0,580	0,25 a	0,23 a	0,121
i/ii	2,47 b	2,21 a	<b>0,000</b>	2,38 a	2,34 a	2,31 a	0,428	2,29 a	2,39 b	<b>0,031</b>
α	23,56 a	30,59 b	<b>0,000</b>	25,65 a	27,34 ab	28,24 b	0,125	28,15 b	25,99 a	<b>0,041</b>
αα	29,68 a	34,80 b	<b>0,000</b>	30,90 a	32,80 b	33,02 b	<b>0,013</b>	33,11 b	31,37 a	<b>0,007</b>
Copigmentación										
C	1,26 a	1,92 b	<b>0,000</b>	1,61 a	1,63 a	1,52 a	0,716	1,54 a	1,63 a	0,410
TA	2,86 b	2,10 a	<b>0,000</b>	2,48 a	2,52 a	2,44 a	0,859	2,48 a	2,48 a	0,959
Ep	3,85 a	4,63 b	<b>0,000</b>	4,21 a	4,19 a	4,33 b	<b>0,037</b>	4,30 b	4,18 a	<b>0,010</b>
FC	8,93 a	9,58 b	<b>0,000</b>	9,26 a	9,31 a	9,18 a	0,780	9,17 a	9,34 a	0,245
TP	62,41 a	65,71 b	<b>0,000</b>	65,79 b	64,16 ab	62,23 a	<b>0,007</b>	63,21 a	64,91 a	0,060
COP	0,15 a	0,22 b	<b>0,000</b>	0,19 a	0,19 a	0,18 a	0,586	0,18 a	0,19 a	0,184
AL	0,36 b	0,24 a	<b>0,000</b>	0,30 a	0,30 a	0,29 a	0,693	0,30 a	0,30 a	0,990
PP	0,49 a	0,54 a	<b>0,001</b>	0,51 a	0,51 a	0,53 a	0,525	0,52 a	0,51 a	0,362
Índice etanol	31,13 a	31,46 a	0,875	29,87 a	31,28 b	32,12 b	<b>0,002</b>	32,00 b	30,17 a	<b>0,000</b>
Índice HCL	4,10 a	15,78 b	<b>0,000</b>	8,57 a	10,49 a	10,76 a	0,519	10,74 a	9,14 a	0,351
Índice gelatina	55,44 a	61,11 b	<b>0,001</b>	59,67 a	57,62 a	57,54 a	0,532	57,99 a	58,56 a	0,749
Índice ionización	36,19 a	39,74 a	0,387	39,40 a	38,02 a	36,48 a	0,844	39,08 a	36,86 a	0,588

(Para cada factor, letras distintas en filas indican diferencias estadísticamente significativas). En negrita se muestra el p level con significación > 95% (p<0,05)

El contenido de polifenoles poco polimerizados (PPP) en los vinos ha estado afectado de forma significativa por el tamaño de los productos alternativos a las barricas empleado durante el periodo de envejecimiento con madera (tabla 13, figuras 37 a y 37 b), siendo superior esta concentración en los vinos con astillas y micro-oxigenación. Estos compuestos proceden además del vino de la etanolisis de la madera, de forma que la evolución de estos compuestos viene definida por su extracción de la madera, incluso por la interacción de estos compuestos con los propios del vino (Del Álamo y col., 2002).

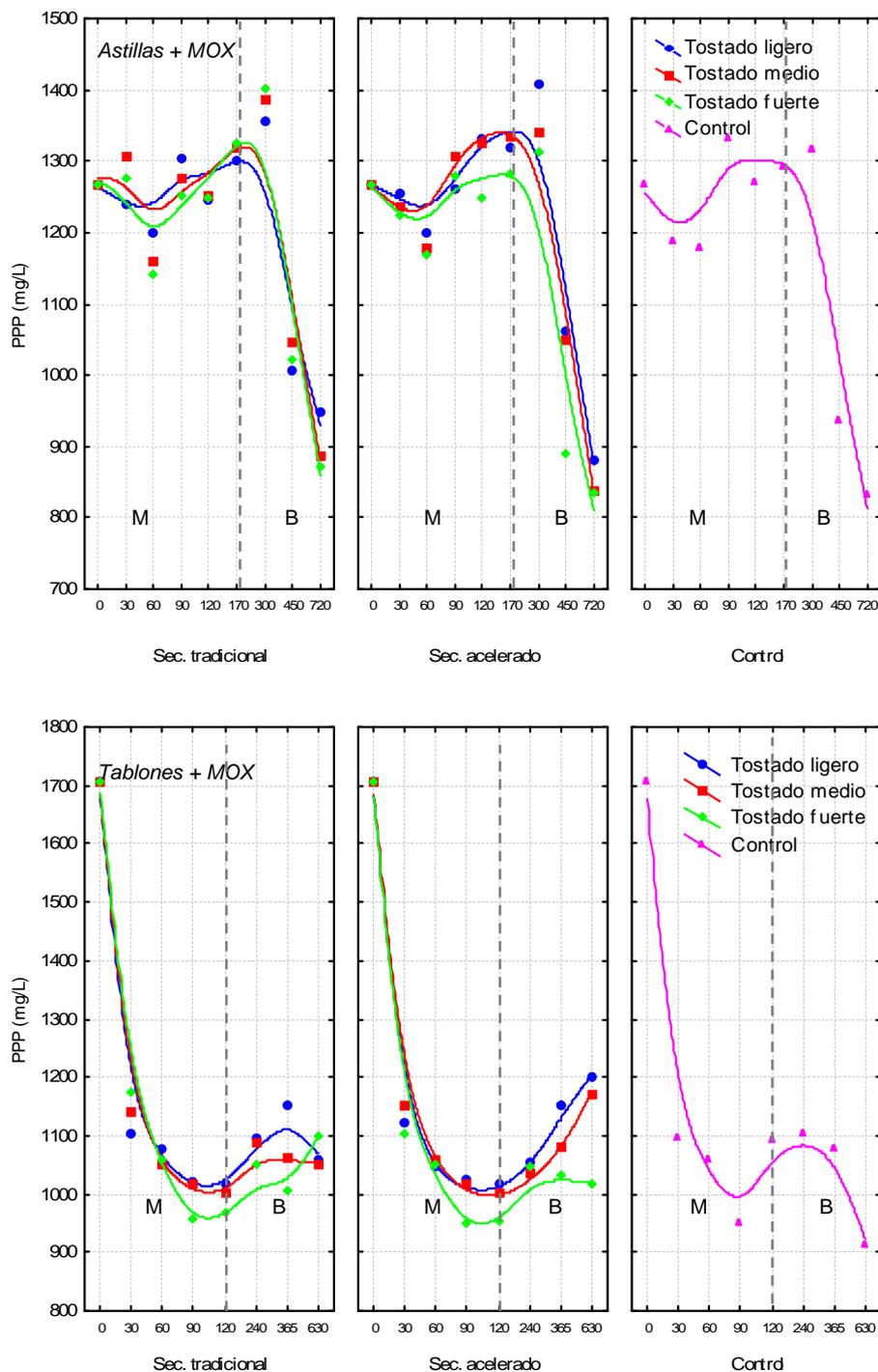


Figura 37- Evolución en el contenido de polifenoles poco polimerizados en vinos envejecidos con astillas (37a) y tablones (37b) durante el periodo vino-madera (M) y permanencia en botella (B)

La concentración de este grupo de compuestos ha disminuido en el vino a lo largo del envejecimiento debido a las reacciones de polimerización y condensación (figuras 37 a y 37 b), especialmente durante el periodo de botella y más significativamente cuando se han empleado astillas.

El grado de tostado y el tipo de secado de la madera no han afectado significativamente en el contenido de polifenoles poco polimerizados en los vinos estudiados. Los vinos tratados con madera secada de forma tradicional han presentado durante todo el envejecimiento menores polimerizaciones y condensaciones que cuando se ha empleado madera acelerada para envejecer los vinos (tablas 13 y 14, figuras 37 a y 37 b).

Respecto al grado de tostado de la madera, durante el periodo de botella se ha observado un descenso de los PPP en los vinos al aumentar el grado de tostado de la madera, resultando los vinos tratados con madera de tostado fuerte los que menor contenido en PPP presentaron (tabla 14, figuras 37 a y 37 b).

Los polifenoles muy polimerizados (PMP) son aquellos que, por su naturaleza o por las reacciones que tienen lugar durante el envejecimiento aparecen en el vino con un alto grado de polimerización. El aumento de la concentración de estos compuestos en el vino se debe a las reacciones en las que participan antocianos y taninos originando compuestos muy polimerizados (figura 38 a y 38 b).

La evolución de los polifenoles muy polimerizados ha estado afectada significativamente por el tamaño de los productos alternativos a las barricas durante el periodo de contacto del vino con la madera, de forma que los vinos tratados con tabloncillos de *Quercus pyrenaica* Willd. y micro-oxigenación han sufrido más polimerizaciones que cuando el vino se ha envejecido con astillas y micro-oxigenación (tabla 13, figuras 38 a y 38 b).

El tipo de secado y el grado de tostado de la madera no han afectado estadísticamente en el contenido de PMP de los vinos estudiados durante todo el estudio, mostrando todos los vinos concentraciones muy similares (tablas 13 y 14, figuras 38 a y 38 b).

Según el grado de tostado de la madera, durante todo el estudio (periodo vino-madera y periodo de botella) los vinos envejecidos con madera de tostado ligero y micro-oxigenación han sufrido mayores polimerizaciones que al emplear madera con tostado medio o fuerte (tablas 13 y 14).

Respecto al secado de la madera, durante todo el periodo de estudio los vinos envejecidos con madera secada de forma tradicional han presentado menores concentraciones de PMP que al utilizar madera con secado acelerado para el envejecimiento de los vinos (tablas 13 y 14).

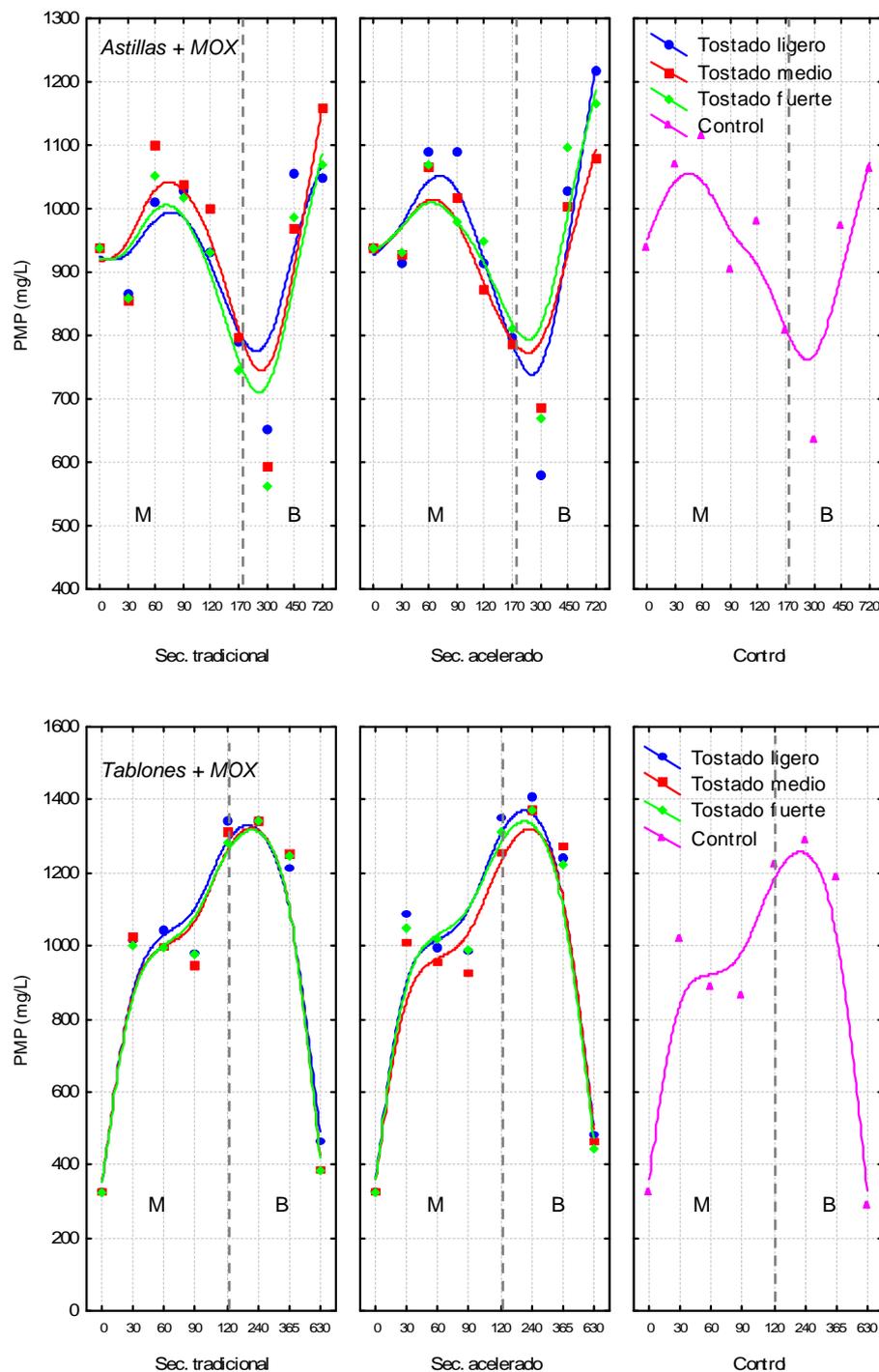


Figura 38- Contenido medio en fenoles muy polimerizados según secado y tostado de la madera en vinos envejecidos con astillas (38a) y tablones (38b) de *Quercus pyrenaica* Willd. durante el envejecimiento en madera (M) y permanencia en botella (B)

La concentración de catequinas en los vinos ha variado en función del tamaño de la madera empleada, el nivel de significación ha sido tanto en el periodo de madera como de botella del 100 % ( $p$  level = 0,000) (tablas 13 y 14). A lo largo de todo el periodo de estudio (contacto vino-madera y periodo de botella) se ha observado un descenso en el contenido de catequinas en los vinos, siendo más acusado al emplear tablones y micro-oxigenación, este descenso es

debido a los procesos de polimerización y copigmentación con otros compuestos del vino (antocianos y taninos) (Del Álamo y col., 2004a).

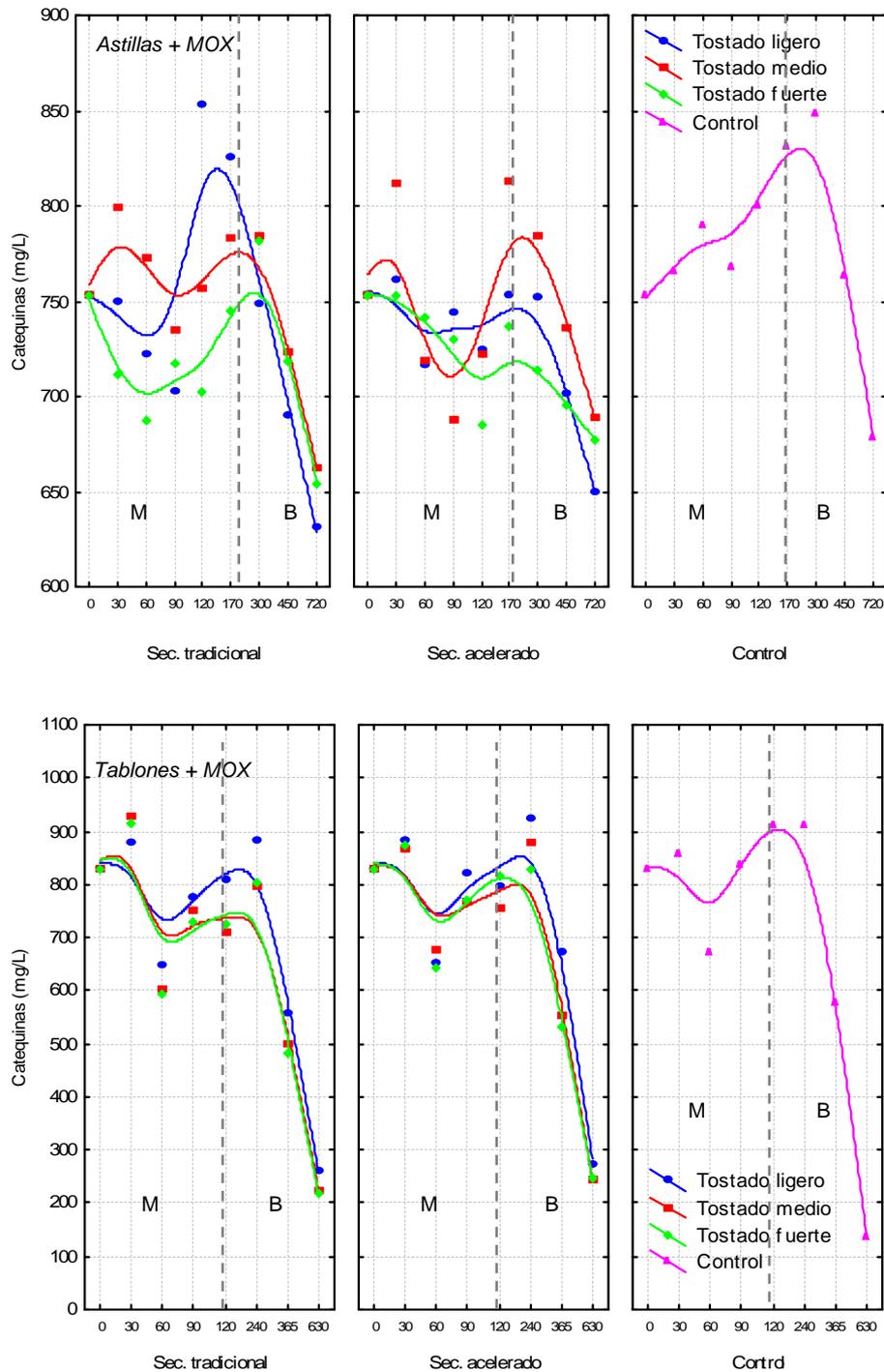


Figura 39- Evolución de catequina en los vinos con astillas (39a) y tablones (39b) de *Quercus pyrenaica* Willd. durante el periodo de contacto del vino con la madera (M) y permanencia en botella (B)

Durante el envejecimiento en madera, el contenido medio de catequinas en los vinos envejecidos con tablones y micro-oxigenación ha sido superior que al utilizar astillas y MOX. Sin embargo en el periodo de botella la concentración ha sido mayor en los vinos tratados con

astillas y micro-oxigenación, por lo tanto estos vinos han sufrido menos combinaciones que los vinos con tablones (tablas 13 y 14, figuras 39 a y 39 b).

El tipo de secado y el grado de tostado de la madera no han influido estadísticamente en la concentración de este flavanol. La concentración de catequinas en los vinos ha disminuido durante todo el periodo de estudio al aumentar el grado de tostado, siendo los vinos tratados con madera de tostado fuerte los que mayores reacciones de copigmentación y polimerización han sufrido durante el envejecimiento en madera y durante el periodo de botella (tablas 13 y 14, figuras 39 a y 39 b).

Respecto al secado de la madera, los vinos envejecidos con madera de secado acelerado han sufrido menos reacciones y por tanto la concentración de catequinas durante todo el envejecimiento ha sido mayor que al emplear madera con secado tradicional (tablas 13 y 14).

Los antocianos son los compuestos flavonoideos más importantes del vino tinto, al ser los responsables de su color y sus modificaciones definen las características cromáticas de los vinos.

El contenido de antocianos totales en los vinos se ha visto afectado por el tamaño de los productos alternativos a las barricas durante todo el envejecimiento (tablas 13 y 14), de forma que los vinos con astillas y micro-oxigenación han presentado mayor color rojo que al emplear tablones, al mantener mayores concentraciones de antocianos totales durante el periodo de estudio analizado (figuras 40 a y 40 b).

Se ha observado un descenso importante en la concentración de antocianos totales en los vinos, siendo más acusado en los vinos con tablones y micro-oxigenación, este descenso es debido a los procesos de polimerización y copigmentación en los que están implicados los antocianos libres (Del Álamo y *col.*, 2004a).

El tipo de secado (tradicional y acelerado) y el grado de tostado de la madera no han afectado significativamente en la concentración de antocianos totales de los diferentes vinos, mostrando concentraciones muy similares durante todo el periodo estudiado (tablas 13 y 14, figuras 40 a y 40 b).

Durante el periodo de botella, los vinos tratados con madera de secado acelerado han presentado un contenido de antocianos totales ligeramente superior que al utilizar madera de secado tradicional (tabla 14, figuras 40 a y 40 b). Los vinos envejecidos con madera de tostado medio han sido los que menos reacciones en las que están implicados los antocianos (condensación y polimerización) han sufrido a lo largo de todo el estudio (envejecimiento con la madera y periodo de botella) (tablas 13 y 14), resultado más visible gráficamente en los vinos tratados con astillas (figuras 40 a y 40 b).

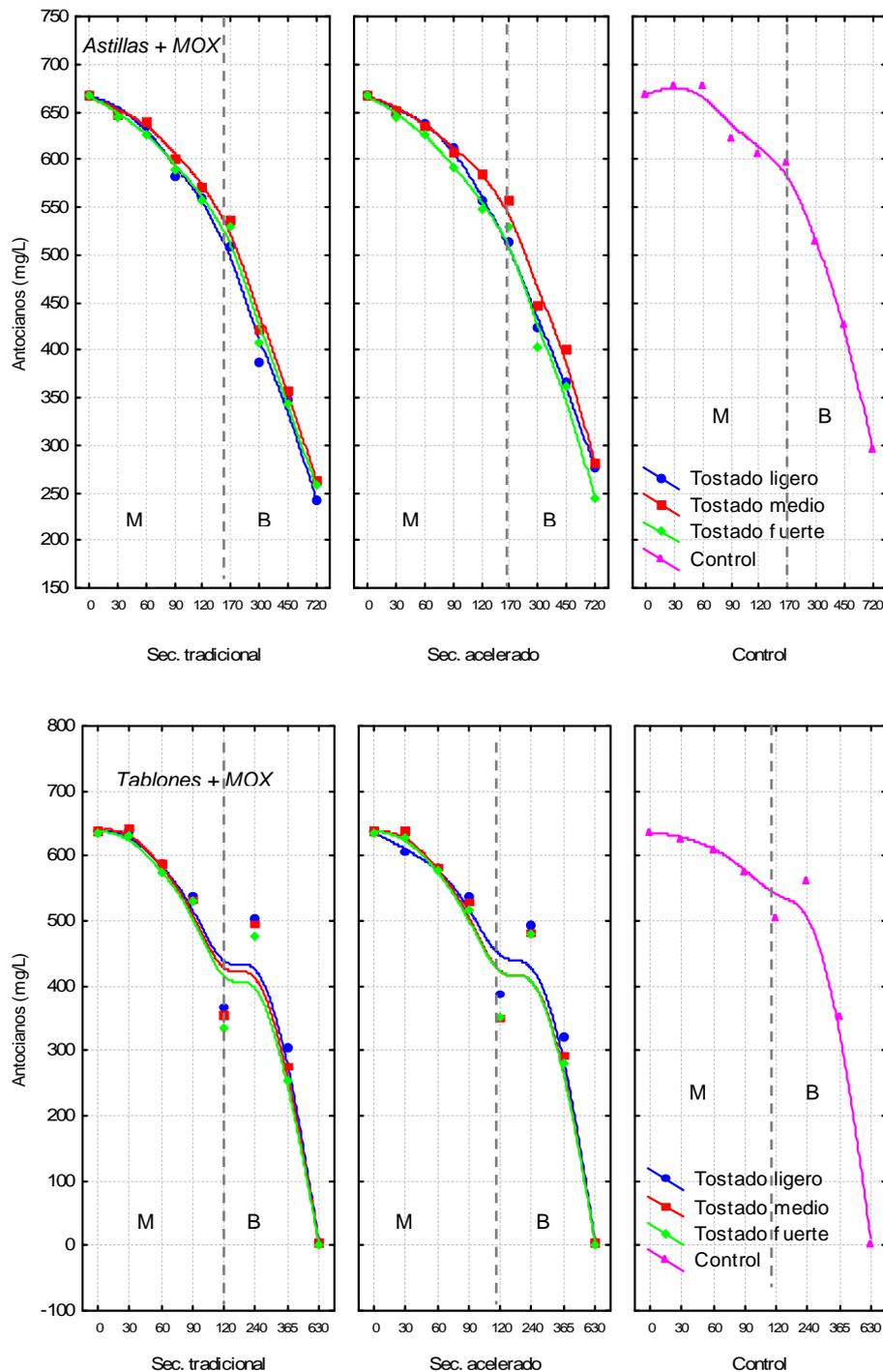


Figura 40- Evolución de los antocianos totales durante el envejecimiento en madera (M) y permanencia en botella (B) de los vinos tratados con astillas (40a) y tablones (40b) de *Quercus pyrenaica* Willd.

El índice de ionización nos indica el porcentaje de antocianos que contribuyen al color del vino. En las figuras 41 a y 41 b se observa un aumento de este índice a lo largo del envejecimiento. El tamaño de los productos alternativos a las barricas ha afectado al porcentaje de este índice durante el periodo de madera (tabla 13) con un nivel de significación superior al 99,9%, siendo superior en los vinos con astillas y micro-oxigenación, por lo que cabe pensar que los vinos tratados con astillas y MOX van a mantener mejor el carácter antociánico del vino inicial, y por ello su color rojo base.

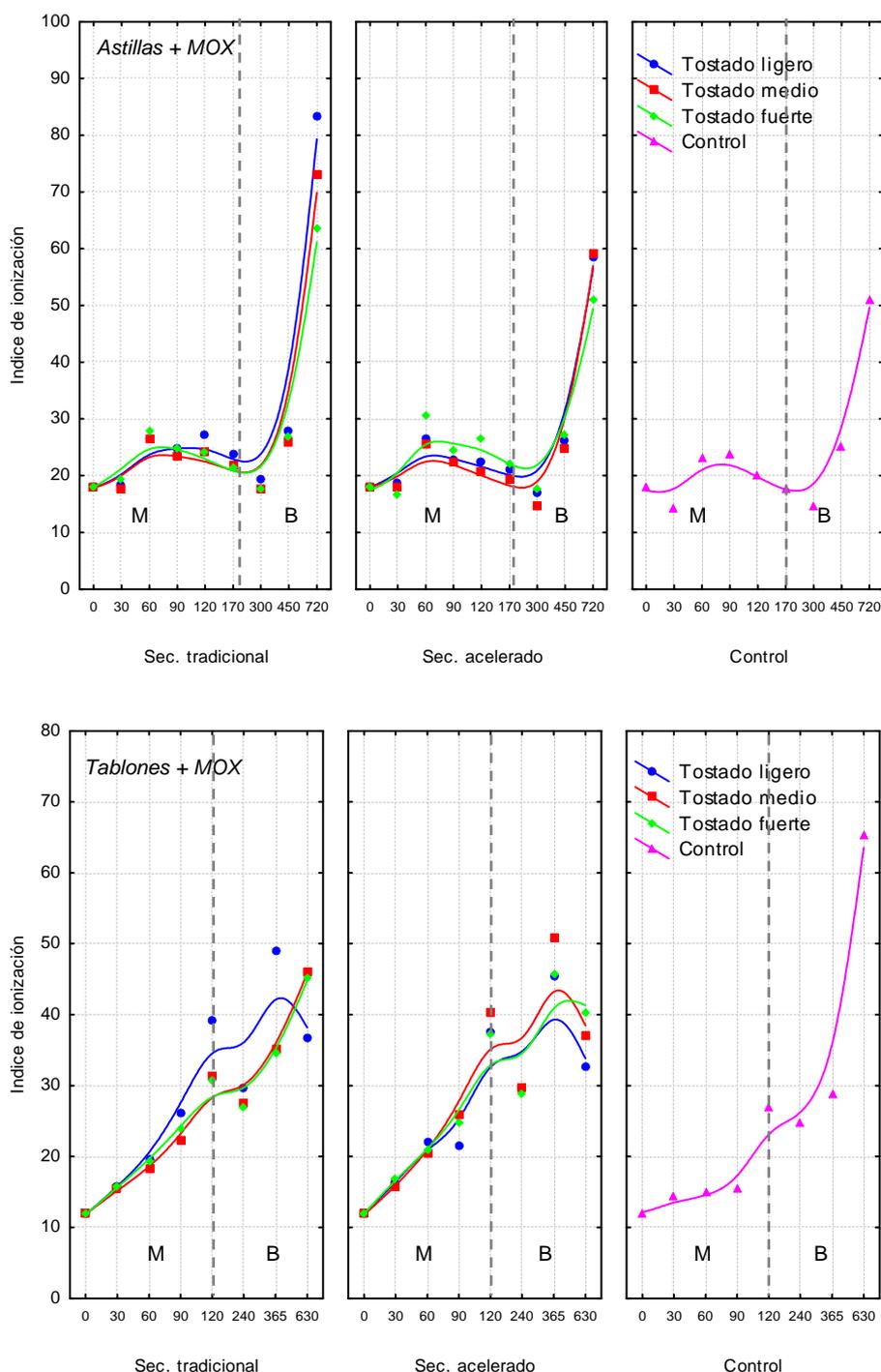


Figura 41- Evolución del índice de ionización en vinos tratados con astillas (41a) y tablones (41b) de *Q. pyrenaica* Willd. durante el envejecimiento en madera (M) y permanencia en botella (B)

El índice de ionización en los vinos estudiados no se ha visto afectado significativamente durante todo el estudio por el grado de tostado y el tipo de secado de la madera empleada para envejecer los vinos. Durante el periodo en que el vino ha estado en contacto con la madera y durante su permanencia en botella (tablas 13 y 14) los vinos envejecidos con madera de secado tradicional han presentado un porcentaje ligeramente superior de este índice que al emplear madera secada de forma acelerada (figuras 41 a y 41 b).

Respecto al grado de tostado de la madera se ha observado que, durante el periodo de contacto vino-madera han sido los vinos envejecidos con madera de tostado fuerte los que mayor porcentaje de antocianos que contribuyen al color rojo han presentado (tabla 13), sin embargo los vinos embotellados tratados con madera de tostado ligero han presentado mayor color rojo (tabla 14). Destacar el aumento del índice de ionización en el último muestreo de los vinos embotellados envejecidos con astillas y micro-oxigenación (figura 41 a), este incremento no es lógico, por lo que se ha considerado este dato como anómalo.

El tostado de la madera ha afectado significativamente a la concentración de taninos en los vinos durante el periodo de botella, disminuyendo su contenido en los vinos al aumentar el grado de tostado de la madera, de forma que los vinos envejecidos con madera de tostado ligero van a ser más astringentes que al emplear madera con tostado medio y fuerte (tabla 14). El descenso en la concentración de taninos en los vinos analizados durante el periodo de botella (figuras 42 a y 42 b) ha sido debido a las reacciones de complejación con proteínas, péptidos y polisacáridos (Chatonnet, 2007).

El tipo de secado de la madera (tradicional y acelerado) no ha afectado significativamente en la concentración de taninos en los vinos, aunque se ha observado que durante todo el periodo de estudio su contenido ha sido ligeramente superior al emplear madera secada de forma acelerada (tablas 13 y 14, figuras 42 a y 42 b).

El tamaño de la madera empleada para envejecer los vinos ha afectado significativamente en el contenido de taninos de los vinos, tanto durante el periodo de contacto del vino con la madera, como una vez embotellados los vinos (tablas 13 y 14, figuras 42 a y 42 b). De forma que los vinos tratados con astillas y micro-oxigenación han presentado durante todo el estudio mayores concentraciones de taninos, lo que hará que sean vinos más astringentes que al emplear tablones y micro-oxigenación.

Los polisacáridos tienen la capacidad de unirse a los taninos, lo que ejerce una labor protectora de precipitación de taninos, disminuyendo por tanto la sensación astringente. El nivel de taninos asociados a polisacáridos se ha evaluado mediante el índice de etanol. Las figuras 43 a y 43 b muestran una tendencia ascendente de este porcentaje, por lo que el aumento de la asociación de taninos-polisacáridos disminuye la astringencia de los vinos.

Durante el periodo de contacto del vino con la madera, el nivel de este índice en los vinos no se ha visto afectado significativamente por los factores estudiados (tamaño, grado de tostado y tipo de secado de la madera). Los vinos tratados con madera de secado tradicional han presentado un porcentaje en el índice de etanol superior que al emplear madera con secado acelerado (tabla 13, figuras 43 a y 43 b). Respecto al grado de tostado de la madera, han sido los vinos envejecidos con madera de tostado ligero los que han presentado mayor astringencia en boca durante el tiempo de permanencia del vino con la madera (tabla 13).

Las modificaciones de este índice en los vinos durante su permanencia en botella han estado afectadas por el tipo de secado y el tostado de la madera, con un nivel de significación superior al 99,9% (tabla 14). Se ha encontrado que los vinos tratados con madera secada de forma tradicional presentaron mayor porcentaje de taninos combinados con polisacáridos. Por otro

lado, ha sido el tostado fuerte de la madera el que ha permitido obtener vinos con mayor volumen y suavidad en boca (figuras 43 a y 43 b).

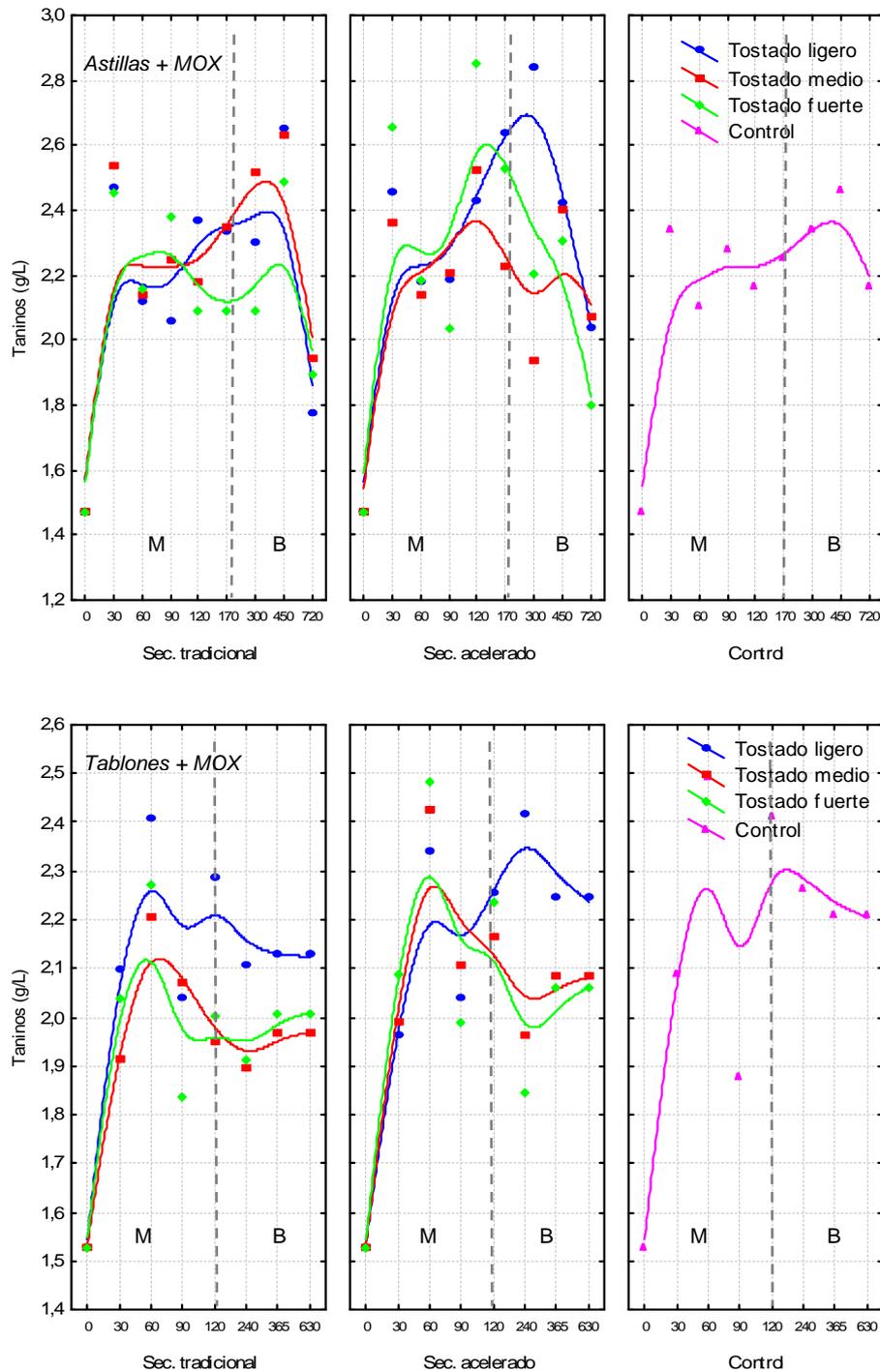


Figura 42- Contenidos medios de taninos en el vino envejecido con astillas (42a) y tablones (42b) de *Q. Pyrenaica* Willd. durante el envejecimiento en madera (M) y permanencia en botella (B)

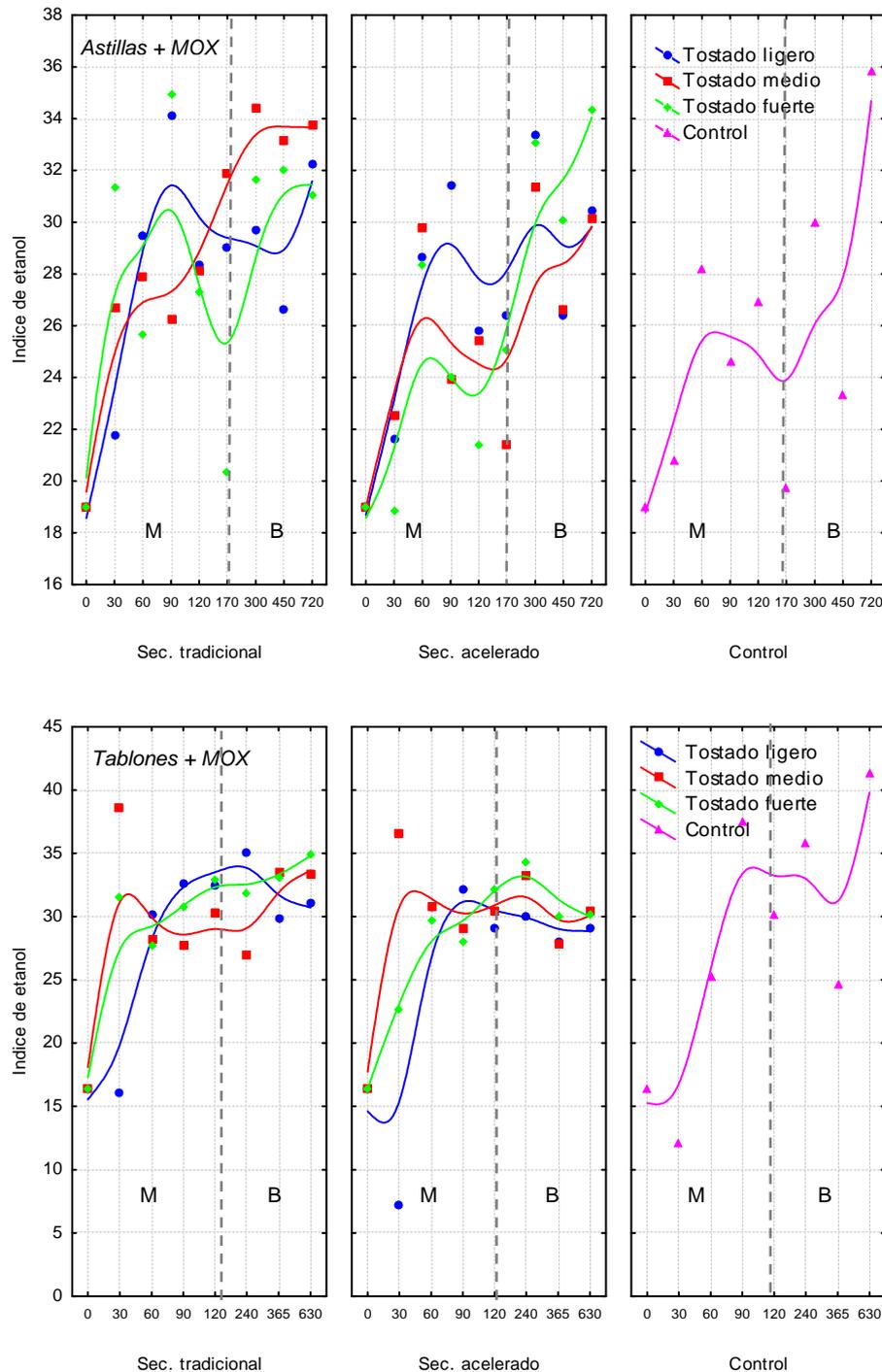


Figura 43- Evolución del índice de etanol en vinos con astillas (43a) y tablones (43b) de *Quercus pyrenaica* Willd. a lo largo del envejecimiento con la madera (M) y permanencia en botella (B)

Otra de las características de los taninos, es su grado de polimerización, el cual se evalúa mediante el índice de clorhídrico. Las figuras 44 a y 44 b muestran la evolución de este índice en los vinos durante el estudio, se observa un aumento con el paso del tiempo debido a las reacciones de polimerización que tienen lugar.

Los taninos presentes en los vinos envejecidos con tablones y micro-oxigenación han presentado significativamente mayor grado de polimerización que los encontrados en los vinos tratados con astillas y micro-oxigenación (tablas 13 y 14, figuras 44 a y 44 b), por lo que cabe

esperar que los vinos procedentes del tratamiento con tabloncillos y MOX presenten menor astringencia y amargor. Se ha encontrado que los vinos tratados con madera de secado tradicional presentaron mayor porcentaje de taninos polimerizados (tablas 13 y 14), resultado más evidente al tratar los vinos con tabloncillos y micro-oxigenación (figuras 44 a y 44 b).

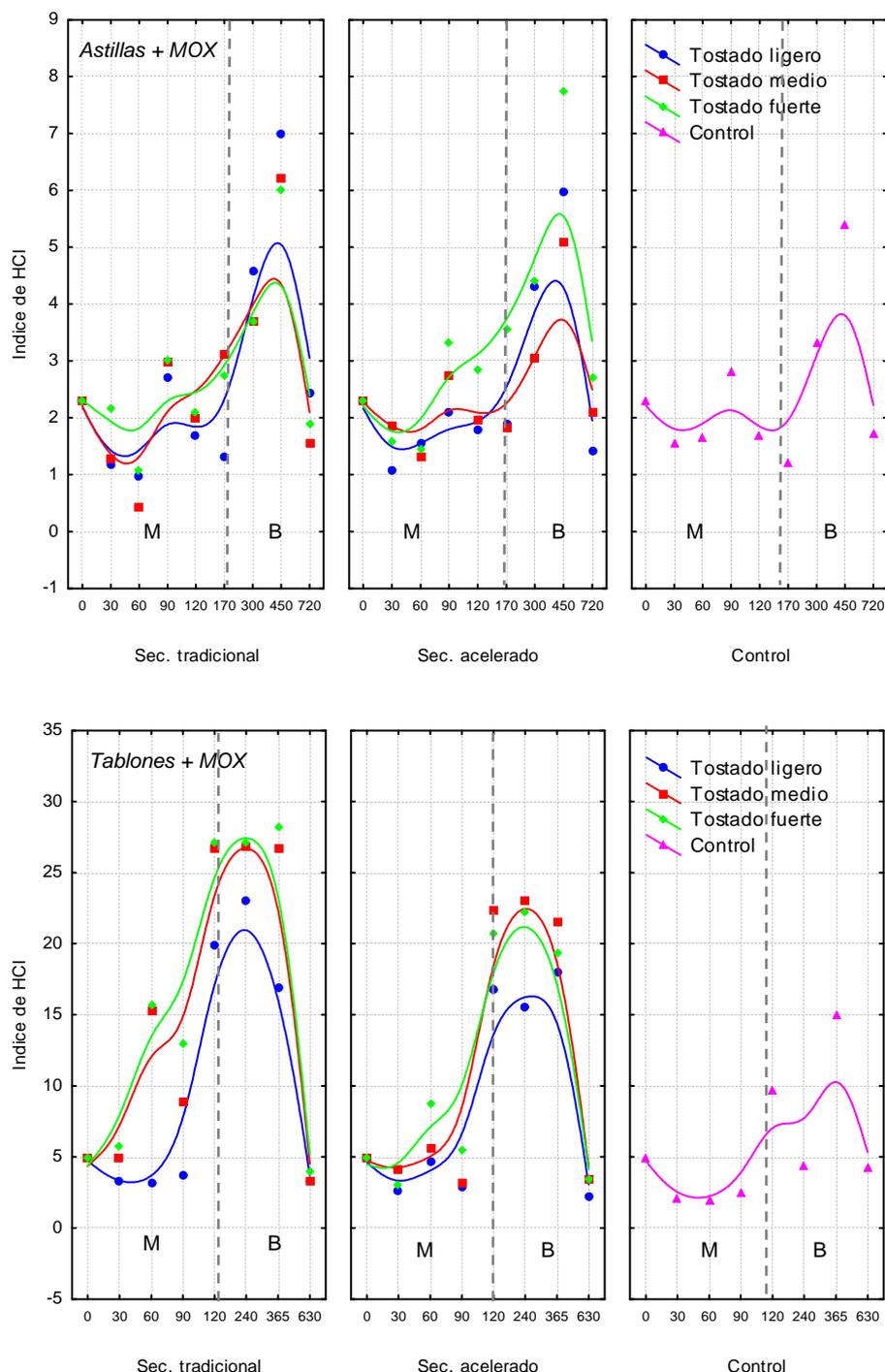


Figura 44- Evolución del porcentaje de taninos con alto grado de polimerización durante el envejecimiento en madera (M) y permanencia en botella (B) de vinos con astillas (44a) y tabloncillos (44b) de *Quercus pyrenaica* Willd.

En lo referente al tostado de la madera, durante el tiempo de contacto del vino con la madera y el periodo de permanencia en botella se ha observado que los taninos en los vinos estudiados han sufrido más polimerizaciones al aumentar el grado de tostado, de forma que

los vinos envejecidos con madera de tostado ligero fueron los vinos mas astringentes, como ya hemos visto en el apartado 4.1.2 (taninos e índice de etanol) (tablas 13 y 14).

La astringencia de los taninos se evalúa con la medida del índice de gelatina, ya que los taninos que precipitan las proteínas salivares (secando la boca) son similares a los que precipitan la gelatina (muy polimerizados). Las figuras 45 a y 45 b muestran la evolución que han presentado estos taninos a lo largo del estudio, se ha observado una tendencia ligeramente descendente por lo que los vinos con el paso del tiempo son menos astringentes.

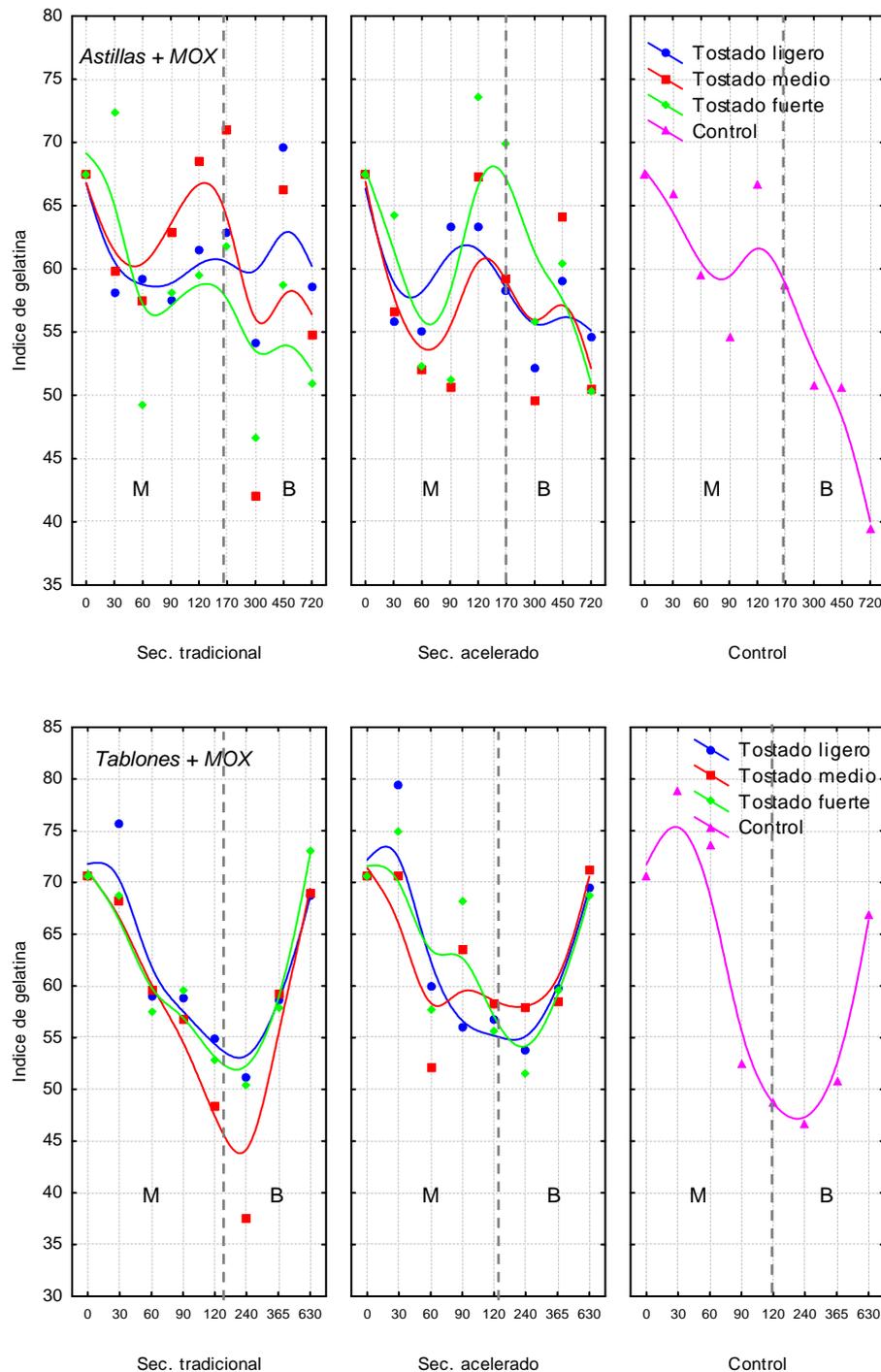


Figura 45- Porcentaje de taninos astringentes de los vinos con astillas (45a) y tablones (45b) de *Quercus pyrenaica* Willd durante el envejecimiento en madera (M) y permanencia en botella (B)

Durante el periodo de botella, el tamaño de la madera ha afectado de forma estadísticamente significativa al índice de gelatina encontrado en los vinos (nivel de significación del 100%), de forma que los vinos embotellados tratados con tablonés y micro-oxigenación han mostrado mayor contenido de taninos secantes que los vinos envejecidos con astillas y MOX (tabla 14, figuras 45 a y 45 b).

El secado y el grado de tostado de la madera no han afectado significativamente al índice de gelatina de los vinos, se ha observado que los vinos tratados con madera de secado acelerado han sido más astringentes que al emplear madera secada de forma tradicional, tanto durante el envejecimiento con la madera como una vez embotellados los vinos (tablas 13 y 14).

Durante el periodo de contacto del vino con la madera han sido los vinos con tostado medio los que han presentado menor índice de gelatina (tabla 13).

Durante el periodo de botella la astringencia de los vinos ha disminuido al aumentar el grado de tostado de la madera, siendo los vinos tratados con madera de tostado fuerte menos astringentes que los vinos envejecidos con madera de tostado ligero y medio (tabla 14).

Los parámetros de edad química (i e ii) dan una idea de las reacciones que sufren los antocianos del vino implicándose en la formación de pigmentos. Se ha encontrado que el tamaño de los productos alternativos a las barricas (astillas y tablonés) ha afectado significativamente a los parámetros de la edad química del vino (i, ii e i/ii), con niveles de significación superiores a 99,9% (tablas 13 y 14). Concretamente, en los vinos tratados con tablonés y micro-oxigenación (figuras 46 a y 46 b) el ascenso de la edad química de los vinos (i) ha sido significativamente más marcada que en los vinos tratados con astillas y MOX. Este resultado nos ha indicado que los vinos tratados con tablonés han sufrido un envejecimiento más rápido que los vinos envejecidos con astillas (tablas 13 y 14). Estos resultados han coincidido con los encontrados en el parámetro ii (relación de pigmentos poliméricos respecto a los antocianos en forma flavilium) (tablas 13 y 14, figuras 47 a y 47 b). Es decir, la pérdida de antocianos para formar pigmentos poliméricos ha sido más rápida en los vinos envejecidos con tablonés y micro-oxigenación que con astillas y micro-oxigenación, debido al mayor número de reacciones de polimerización que han sufrido los antocianos.

El grado de tostado y el secado de la madera no han influido estadísticamente en los parámetros de la edad química (i e ii) de los vinos analizados a lo largo de todo el estudio (tablas 13 y 14). Durante el periodo de contacto del vino con la madera, todos los vinos teniendo en cuenta el secado y el tostado de la madera han sufrido las mismas reacciones para la formación de pigmentos, alcanzando valores muy similares de i e ii (tabla 13). La evolución de i e ii sufrida por los vinos embotellados ha aumentado progresivamente durante todo el periodo, siendo ligeramente más acusado este aumento en los vinos tratados con madera de secado tradicional (tabla 14, figuras 46 a-b y 47 a-b).

Respecto al tostado de la madera, los niveles alcanzados de i e ii por los vinos embotellados han sido similares, aunque los vinos tratados con madera de tostado fuerte han envejecido más rápidamente que al emplear madera de tostado ligero y medio, no siendo significativas las diferencias entre los diferentes tostados (tabla 14, figuras 46 a-b y 47 a-b).

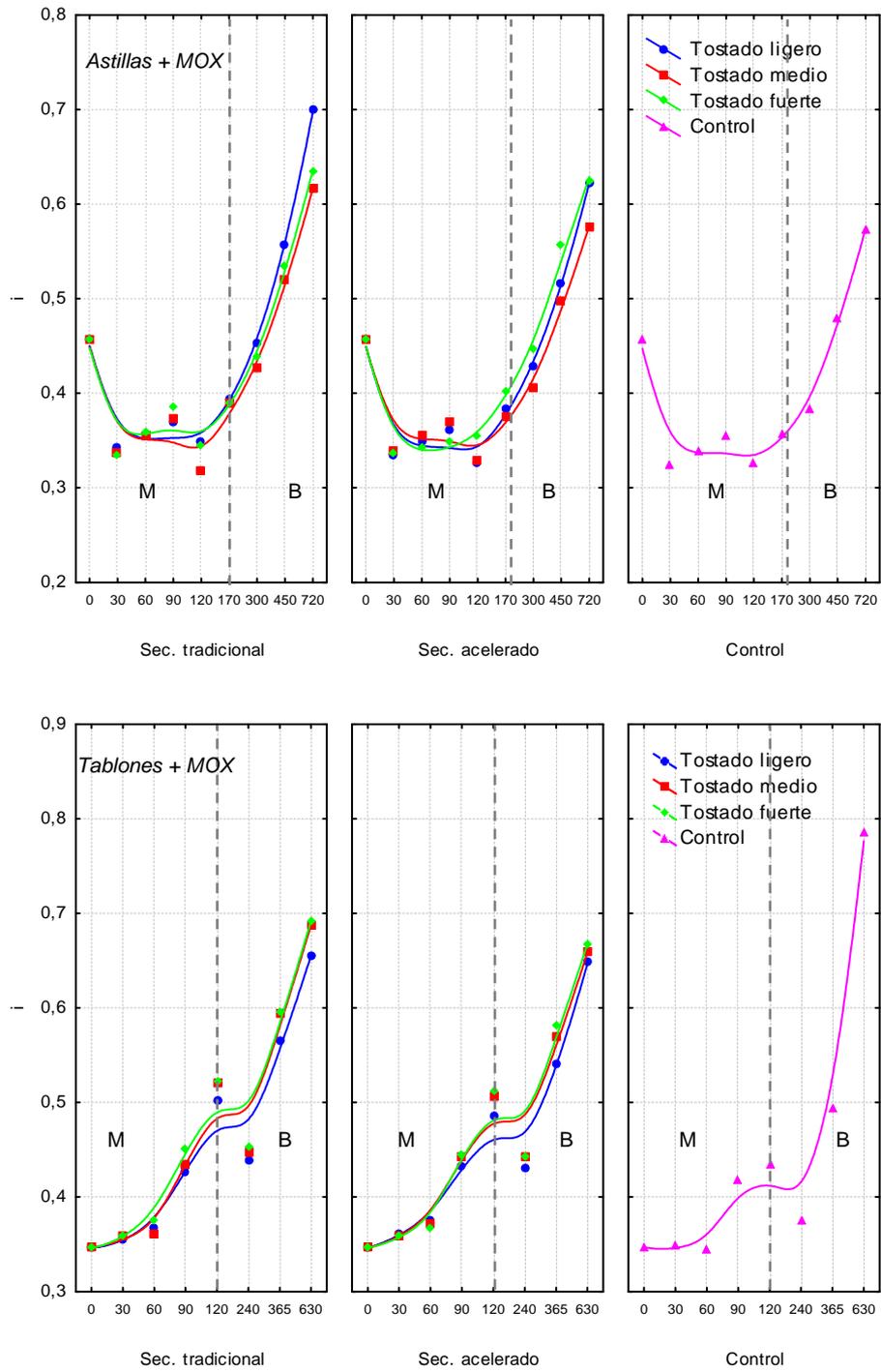


Figura 46- Evolución del parámetro *i* de edad química de un vino tratado con astillas (46a) y tablones (46b) de *Quercus pyrenaica* Willd. durante el periodo de contacto vino-madera (M) y periodo de botella (B)

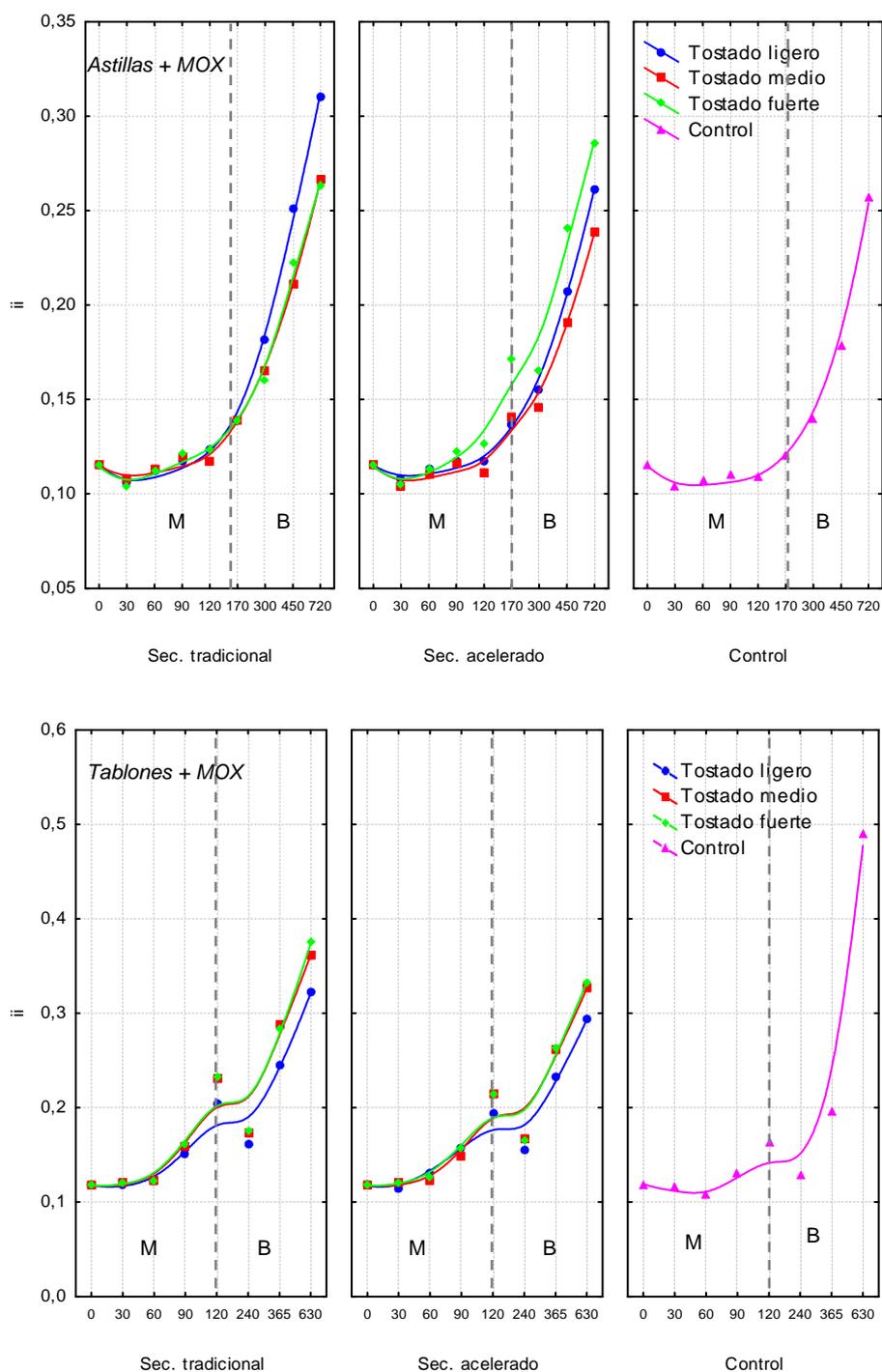


Figura 47- Cambios en la edad química (ii) durante el envejecimiento en madera (M) y periodo de botella (B) de un vino envejecido con astillas (47a) y tablones (47b) de *Quercus pyrenaica* Willd.

El parámetro  $i/ii$  (relación de los antocianos en forma flavilium respecto a los antocianos de un vino) ha sufrido un descenso en los vinos a lo largo del envejecimiento al igual que el contenido de antocianos totales, debido al descenso de los antocianos en forma flavilium (figuras 48 a y 48 b). Este descenso ha sido más evidente en el caso de los vinos tratados con tablones y micro-oxigenación, afectando significativamente a este parámetro el tamaño de la madera empleado para envejecer los vinos durante todo el envejecimiento, con un nivel de significación del 100% (tablas 13 y 14).

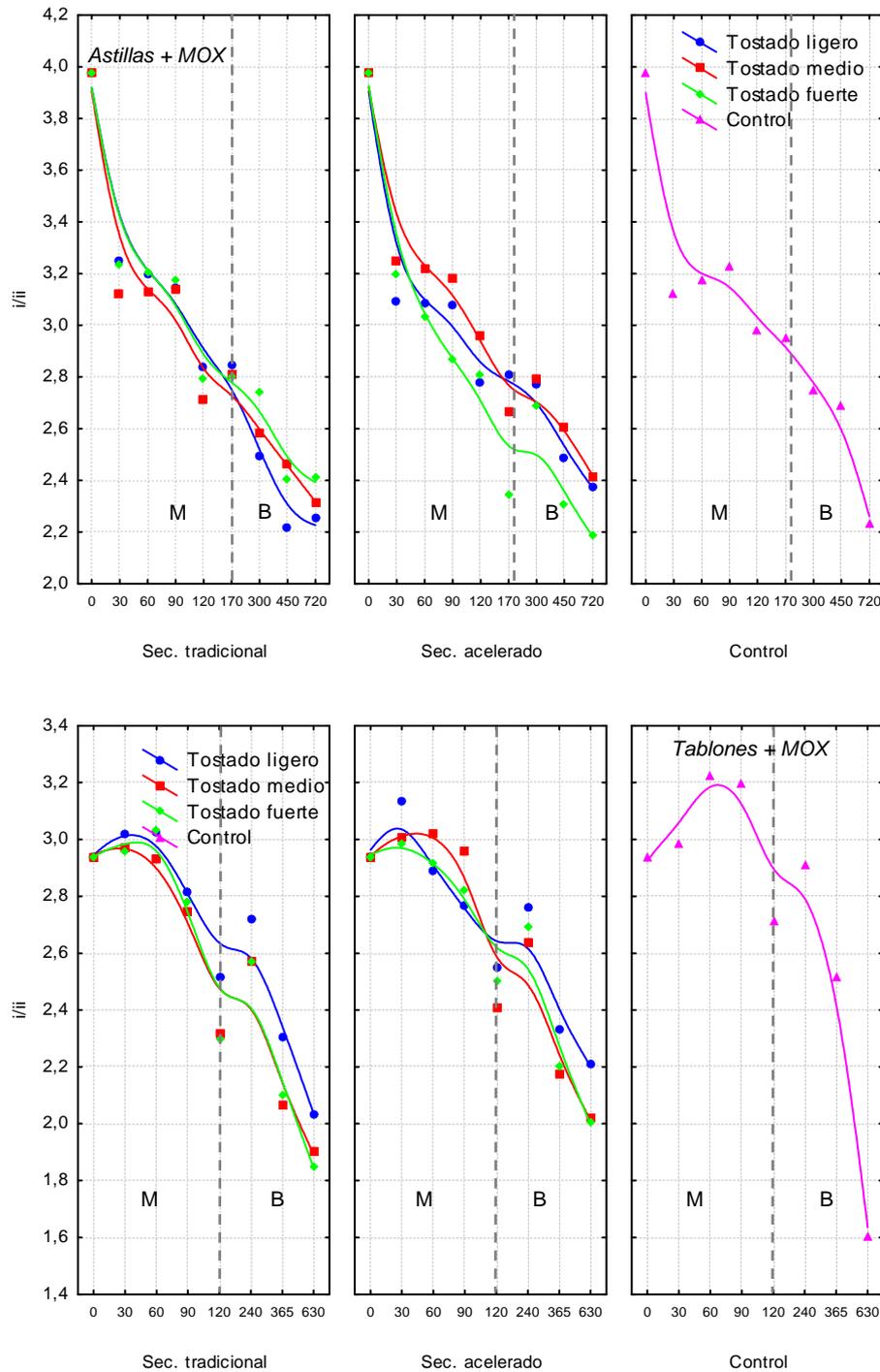


Figura 48- Evolución de la relación de los antocianos en forma flavilium respecto a los antocianos del vino tratado con astillas (48a) y tablones (48b) de *Quercus pyrenaica* Willd. durante el periodo de contacto vino-madera (M) y periodo de botella (B)

El grado de tostado de la madera empleada para el envejecimiento de los vinos no ha afectado significativamente al parámetro  $i/ii$  durante todo el estudio (permanencia vino-madera y periodo de botella), de forma que ha disminuido en los vinos al aumentar el grado de tostado de la madera, siendo los vinos con madera de tostado ligero los que han presentado mayor valor del parámetro  $i/ii$ , resultado más evidente al utilizar tablones y micro-oxigenación en el envejecimiento (tablas 13 y 14, figuras 48 a y 48 b).

Teniendo en cuenta el secado de la madera, durante el periodo de botella el descenso de i/ii ha sido mayor al emplear madera con secado tradicional (tabla 14, figuras 48 a y 48 b), siendo significativas las diferencias.

Las modificaciones de la mayoría de los parámetros de copigmentación en los vinos analizados han estado influidas de forma estadísticamente significativa por el tamaño de los productos alternativos a las barricas, con un nivel de significación superior a 99,9 % (tablas 13 y 14).

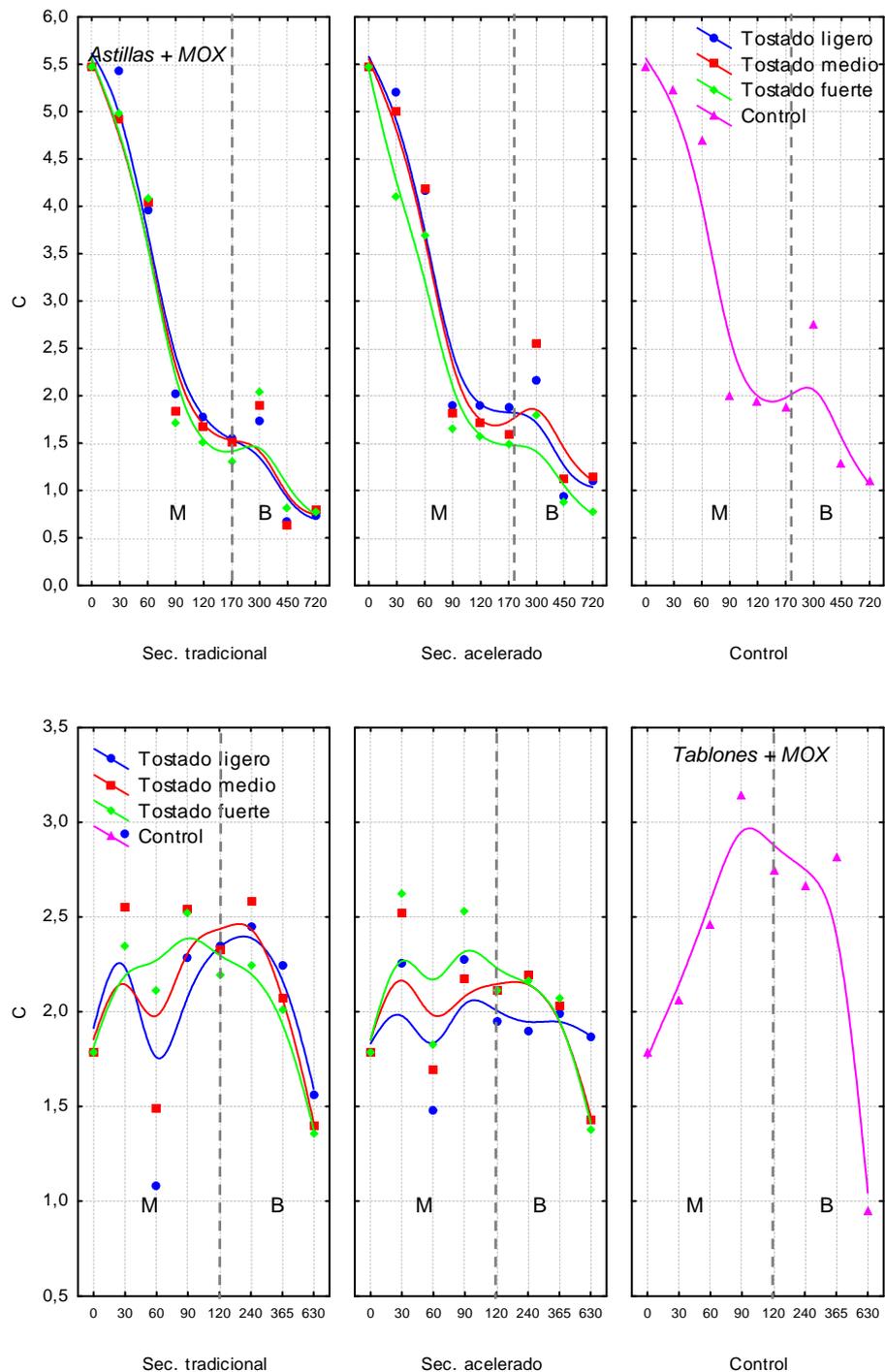


Figura 49- Evolución del color debido a los antocianos copigmentados (C) del vino con astillas (49a) y tablones (49b) de *Quercus pyrenaica* Willd. durante el periodo de contacto vino-madera (M) y permanencia en botella (B)

El parámetro C de copigmentación representa el color del vino debido a los antocianos copigmentados (figuras 49 a y 49 b).

Durante el envejecimiento en madera, los vinos con astillas y micro-oxigenación han sufrido más copigmentaciones que al emplear tablones y micro-oxigenación (tabla 13, figuras 49 a y 49 b). Este resultado no ha sido el esperado ya que los procesos de copigmentación aumentan durante el envejecimiento, sin embargo en este caso durante el contacto del vino con las astillas y micro-oxigenación el parámetro C ha disminuido a lo largo de todo el envejecimiento, mientras que en el caso del envejecimiento con tablones y micro-oxigenación los niveles se han mantenido durante todo el estudio.

En función del grado de tostado y el secado de la madera no se han observado diferencias significativas en el parámetro C de los vinos estudiados. Durante el periodo de contacto con la madera y permanencia en botella, los vinos tratados con madera de tostado fuerte han sido los que menos antocianos copigmentados han presentado (tablas 13 y 14, figuras 49 a y 49 b).

Todos los factores estudiados (tamaño, grado de tostado y tipo de secado de la madera) han afectado significativamente al color debido al pigmento polimérico de los vinos (Ep) durante el periodo de botella, con un nivel de significación superior a 99,9% (tabla 14).

A lo largo del envejecimiento se ha producido un incremento del parámetro Ep en los vinos, el cual tuvo lugar por las polimerizaciones entre los compuestos antociánicos y taninos (figuras 49 a y 49 b), tanto en los vinos envejecidos con madera y micro-oxigenación como en los depósitos control. Durante el periodo de botella, se han originado más polimerizaciones en el vino envejecido previamente con madera secada de forma tradicional.

El contenido de Ep ha sido superior al envejecer los vinos con tablones y micro-oxigenación (tabla 14, figuras 50 a y 50 b). Han destacado los mayores niveles de Ep en los vinos envejecidos con astillas de secado tradicional y tostado ligero, mientras que en los vinos con astillas de secado acelerado los niveles más elevados se han originado en los vinos con madera de tostado fuerte (tabla 14, figuras 50 a y 50 b).

El contenido en cofactores (FC) en los vinos ha disminuido a lo largo del envejecimiento, debido a que son compuestos que disminuyen al participar de las reacciones de copigmentación con los antocianos del vino (figuras 51 a y 51 b).

Durante el periodo de botella, el contenido de FC en los vinos ha estado afectado significativamente por el tamaño de la madera empleada ( $p$  level 0,000), los vinos con tablones y MOX han presentado mayor contenido en cofactores (tabla 14, figuras 51 a y 51 b). El descenso del contenido de FC en estos vinos ha sido más evidente cuando la madera ha sufrido un tostado fuerte, siendo los vinos envejecidos con madera de tostado ligero los que mayores cofactores han mantenido durante el periodo estudiado (tabla 14).

Respecto al secado de la madera, se ha observado durante todo el envejecimiento (periodo vino-madera y permanencia en botella) que los vinos tratados con madera de secado acelerado han presentado un contenido ligeramente superior en cofactores (tablas 13 y 14, figuras 51 a y 51 b).

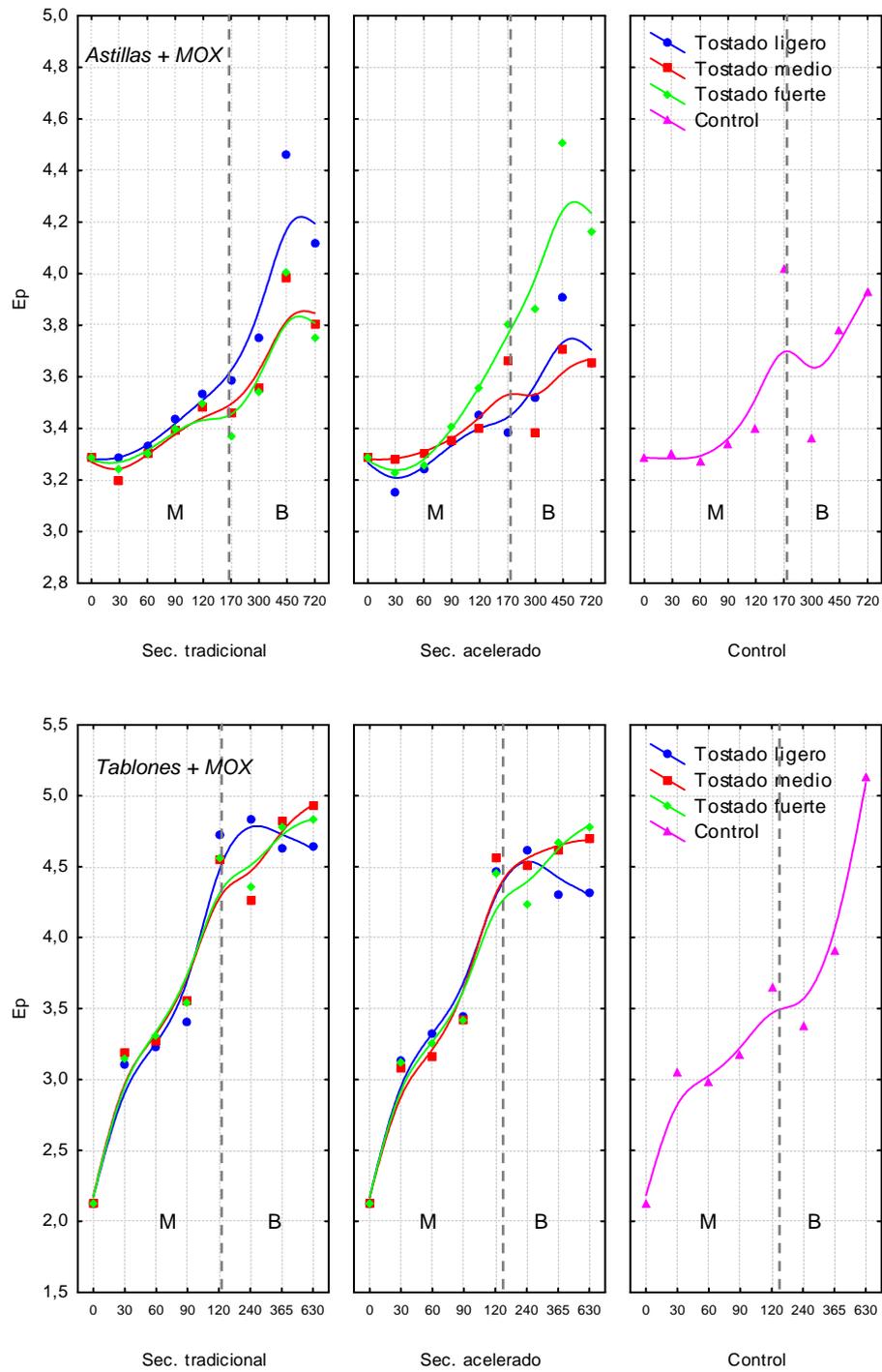


Figura 50- Evolución del color debido al pigmento polimérico (Ep) de los vinos con astillas (50a) y tablones (50b) de *Quercus pyrenaica* Willd. durante el periodo de contacto vino-madera (M) y periodo de botella (B)

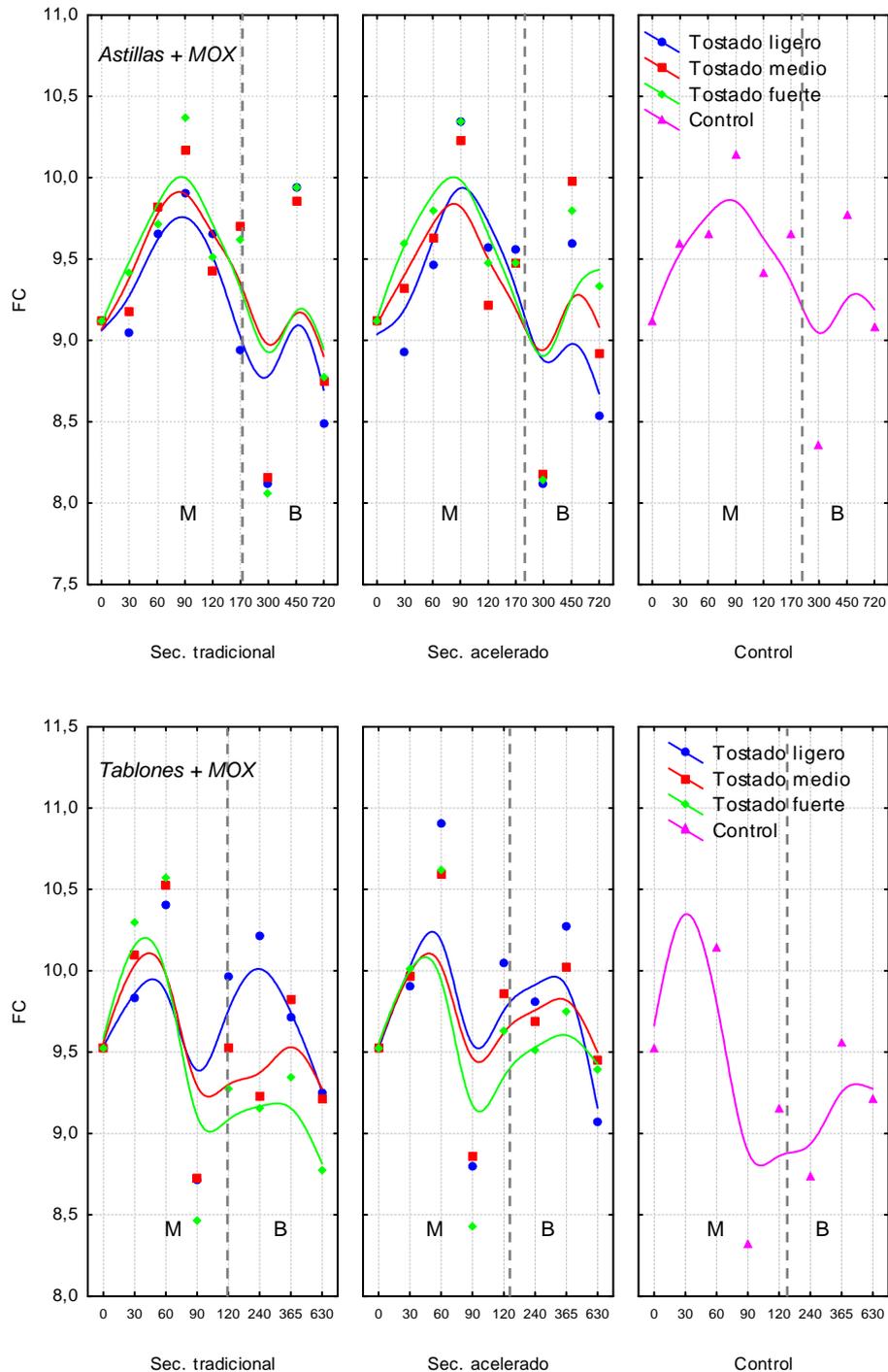


Figura 51- Estimación del contenido de cofactores flavonoles durante el periodo vino-madera (M) y periodo de botella (B) de los vinos con astillas (51a) y tablones (51b) de *Quercus pyrenaica* Willd.

La evaluación del contenido de fenoles totales se ha estimado mediante la medida de los vinos a 280 nm y también con el método de Folin-Ciocalteu (figura 36). El incremento de polifenoles durante el contacto vino-madera ha sido debido a la aportación de estos componentes por parte de la madera y, posteriormente el descenso ha sido consecuencia de las reacciones de polimerización y condensación (figuras 52 a y 52b).

Durante el periodo de envejecimiento, el contenido de fenoles totales de las muestras estudiadas no se ha visto afectado por ninguno de los factores estudiados (tamaño, tipo de

secado y grado de tostado de la madera). Durante este periodo se ha observado que los vinos tratados con astillas y micro-oxigenación han presentado un contenido de fenoles totales ligeramente superior que los vinos de tablonos y micro-oxigenación.

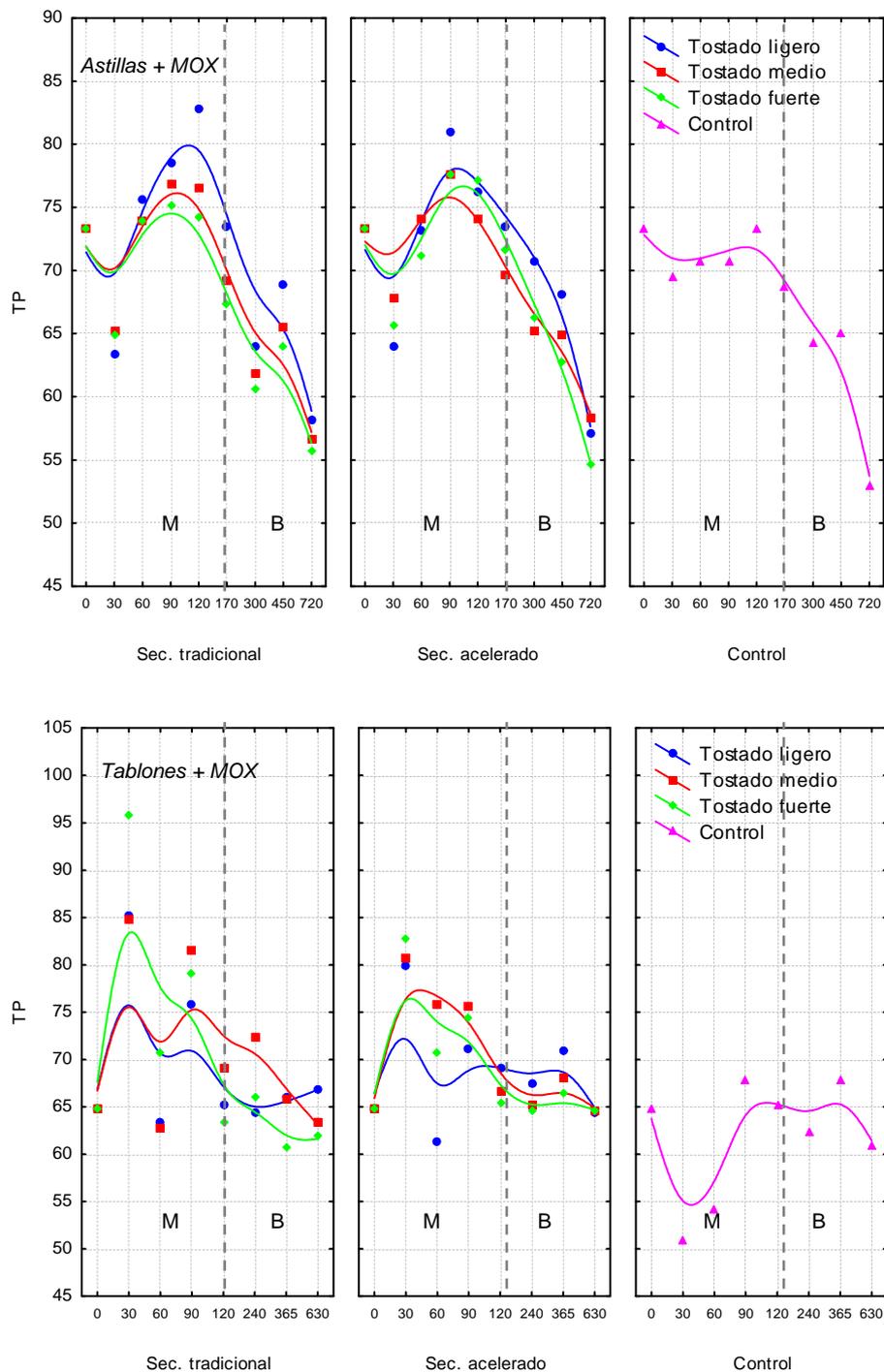


Figura 52- Estimación del contenido de fenoles totales durante el envejecimiento en madera (M) y permanencia en botella (B) en vinos con astillas (52a) y tablonos (52b) de *Quercus pyrenaica* Willd., con dos tipos de secado y tres tipos de tostado

Durante el periodo de botella, el contenido de fenoles volátiles de los vinos tratados con astillas y MOX ha continuado descendiendo, sin embargo los vinos embotellados tratados con tablonos y MOX han mantenido la estabilidad en el contenido de TP (figuras 52 a y 52 b). La cesión de los componentes de la madera ha sido más significativa cuando se ha realizado un

tostado ligero, seguido del medio y, finalmente el índice de polifenoles más bajo se ha encontrado en los vinos en contacto con madera de tostado fuerte, siendo esta tendencia más clara con el empleo de astillas (tabla 14, figuras 52 a y 52 b).

#### 4.1.3. Parámetros cromáticos del vino

El color de los vinos se ha estudiado mediante el método de Glories y CIELab. La intensidad colorante de los vinos nos da información sobre la estructura, cuerpo y sabor en boca, las figuras 53 a y 53 b nos muestran su evolución en los vinos a lo largo del envejecimiento, se ha observado un incremento durante su permanencia en madera debido a la formación de nuevos compuestos coloreados de gran estabilidad, siendo muy importantes los compuestos formados por las condensaciones entre antocianos y taninos (Chatonnet, 2007).

Durante el periodo de botella, se ha observado un descenso en la intensidad colorante que han presentado los vinos estudiados, debido a que algunas de las reacciones de copigmentación y polimerización pueden dar lugar a estructuras poco estables en solución que se pierden por precipitación (Hernández y col., 2007), coincidiendo con lo observado por otros autores (Cano y col., 2007).

El tamaño de los productos alternativos a las barricas ha afectado significativamente a los cambios observados en la intensidad colorante, tanto durante su envejecimiento con la madera como en botella, con un nivel de significación superior al 99,9%. Los vinos envejecidos con tablones y MOX han presentado mayor intensidad colorante que los vinos tratados con astillas y micro-oxigenación (tablas 15 y 16, figuras 53 a y 53 b).

El secado y el grado de tostado de la madera no han afectado significativamente a la intensidad colorante de los diferentes vinos. En los vinos embotellados, la intensidad colorante ha aumentado al incrementar el grado de tostado de la madera, siendo los vinos con madera de tostado ligero los que menor intensidad colorante han presentado (tabla 16), siendo más visible este resultado en los vinos tratados con tablones y MOX (figuras 53 a y 53 b).

Respecto al secado de la madera, durante el periodo de contacto vino-madera los vinos con madera de secado acelerado han presentado una intensidad colorante ligeramente superior que al emplear madera de secado tradicional, sin embargo en los vinos embotellados se ha observado el efecto contrario (tablas 15 y 16).

Se ha visto que al emplear astillas fabricadas con madera de *Quercus pyrenaica* Willd. de secado acelerado, los vinos con mayor intensidad colorante han sido los envejecidos con astillas de tostado fuerte, siendo los vinos con menor color los envejecidos con astillas de tostado medio (figuras 53 a y 53 b).

Durante todo el periodo de estudio (figuras 53 a y 53 b) se ha observado que, la intensidad colorante ha sido superior en los vinos micro-oxigenados respecto al vino control (vino sin madera y sin micro-oxigenación), coincidiendo este resultado con otros autores (Cano y col., 2006, 2007; Rayne y col., 2011), lo que nos ha indicado que el efecto positivo de la técnica de

la micro-oxigenación en las características cromáticas de los vinos se ha mantenido en los vinos embotellados.

Tabla 15- Contenido promedio de los componentes del color en el vino en función del formato, tostado y secado durante el envejecimiento en madera y resultados de la ANOVA

	Tamaño			Tostado				Secado		
	Astillas	Tablones	p level	Ligero	Medio	Fuerte	p level	Tradic.	Aceler.	p level
<b>Glories</b>										
IC	13,66 a	15,02 b	<b>0,000</b>	14,40 a	14,10 a	14,34 a	0,760	14,26 a	14,30 a	0,864
Tonalidad	0,70 a	0,69 a	0,134	0,69 a	0,70 a	0,69 a	0,659	0,70 a	0,69 a	0,647
420%	35,43 b	34,51 a	<b>0,000</b>	34,94 a	35,11 a	34,99 a	0,704	35,04 a	34,99 a	0,759
520%	50,87 a	50,97 a	0,507	51,06 a	50,81 a	50,87 a	0,349	50,85 a	50,98 a	0,323
620%	13,62 a	15,35 b	<b>0,000</b>	14,35 a	14,41 a	14,47 a	0,902	14,44 a	14,37 a	0,726
%dA	51,66 b	50,17 a	<b>0,003</b>	51,25 a	50,79 a	50,92 a	0,719	50,87 a	51,10 a	0,608
<b>CIELab</b>										
Luminosidad	60,26 a	60,41 a	0,765	60,07 a	60,75 a	60,17 a	0,527	60,32 a	60,34 a	0,978
a*	38,62 a	37,98 a	0,072	38,73 b	37,86 a	38,39 ab	0,145	38,20 a	38,45 a	0,385
b*	4,25 b	3,80 a	<b>0,027</b>	4,05 a	4,01 a	4,07 a	0,973	4,02 a	4,07 a	0,803
C*	38,86 a	38,19 a	0,060	38,96 b	38,09 a	38,63 ab	0,141	38,43 a	38,68 a	0,381
H	6,47 b	5,74 a	<b>0,017</b>	6,11 a	6,16 a	6,15 a	0,987	6,13 a	6,15 a	0,956

(Para cada factor, letras distintas en filas indican diferencias estadísticamente significativas). En negrita se muestra el p level con significación > 95% (p<0,05)

Tabla 16- Contenido promedio de los componentes del color en el vino en función del formato, tostado y secado durante el periodo de botella y resultados de la ANOVA

	Tamaño			Tostado				Secado		
	Astillas	Tablones	p level	Ligero	Medio	Fuerte	p level	Tradic.	Aceler.	p level
<b>Glories</b>										
IC	14,90 a	16,19 b	<b>0,004</b>	15,19 a	15,48 a	15,97 a	0,322	15,84 a	15,25 a	0,170
Tonalidad	0,66 a	0,76 b	<b>0,000</b>	0,70 a	0,71 a	0,71 a	0,903	0,71 a	0,71 a	0,995
420%	30,72 a	34,43 b	<b>0,000</b>	32,35 a	32,70 a	32,67 a	0,813	32,57 a	32,58 a	0,979
520%	52,61 b	47,60 a	<b>0,000</b>	50,21 a	50,14 a	49,96 a	0,871	49,88 a	50,33 a	0,279
620%	16,41 a	17,91 b	<b>0,000</b>	17,18 a	17,06 a	17,24 a	0,880	17,32 a	17,00 a	0,292
%dA	54,77 b	45,27 a	<b>0,000</b>	50,58 a	49,91 a	49,56 a	0,494	49,75 a	50,28 a	0,456
<b>CIELab</b>										
Luminosidad	63,18 b	54,79 a	<b>0,000</b>	59,73 a	59,27 a	57,96 a	0,801	58,23 a	59,74 a	0,506
a*	36,75 a	38,67 a	0,156	37,46 a	37,54 a	38,13 a	0,907	37,87 a	37,55 a	0,809
b*	7,61 a	8,52 a	0,620	8,08 a	8,04 a	8,07 a	0,999	7,93 a	8,20 a	0,883
C*	39,63 b	33,19 a	<b>0,000</b>	36,14 a	36,36 a	36,73 a	0,674	36,50 a	36,32 a	0,745
H	9,65 b	3,30 a	<b>0,000</b>	6,67 a	6,41 a	6,35 a	0,322	6,36 a	6,60 a	0,193

(Para cada factor, letras distintas en filas indican diferencias estadísticamente significativas). En negrita se muestra el p level con significación > 95% (p<0,05)

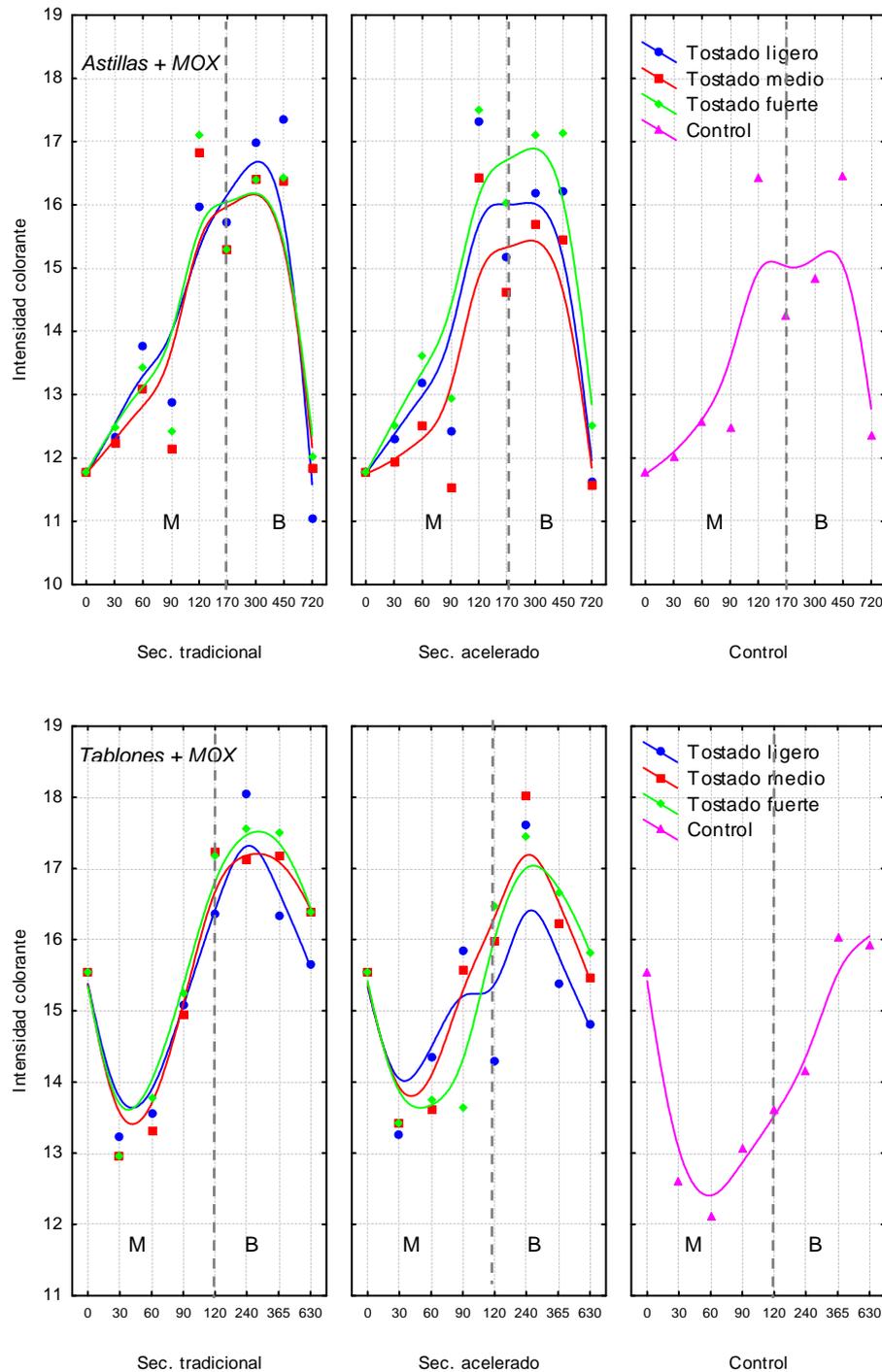


Figura 53- Evolución de la intensidad colorante de los vinos con dos tipos de secado y tres grados de tostado con astillas (53a) y tablones (53b) de *Quercus pyrenaica* Willd. durante el envejecimiento en madera (M) y permanencia en botella (B)

La componente amarilla (%420) de los vinos ha experimentado una evolución diferente en función del tamaño de la madera empleada (nivel de significación 100%) (tablas 15 y 16). Los vinos envejecidos con tablones y micro-oxigenación han presentado un incremento de la tonalidad amarilla a lo largo del envejecimiento, debido a varios factores: la formación de compuestos amarillos debido a la oxidación del vino, las polimerizaciones o la extracción de compuestos fenólicos de la madera (Cadahía y col., 2008).

El secado y el grado de tostado de la madera no han influido significativamente en la componente amarilla de los vinos durante todo el envejecimiento (periodo vino-madera y periodo de botella), presentando valores muy similares aunque los vinos con madera de tostado ligero han mostrado menor contenido y por lo tanto serán vinos menos evolucionados que al emplear tostado medio y fuerte (tablas 15 y 16). Los vinos tratados con madera de secado acelerado y tradicional han presentado valores muy similares de la componente amarilla durante todo el estudio (tablas 15 y 16, figuras 54 a y 54 b).

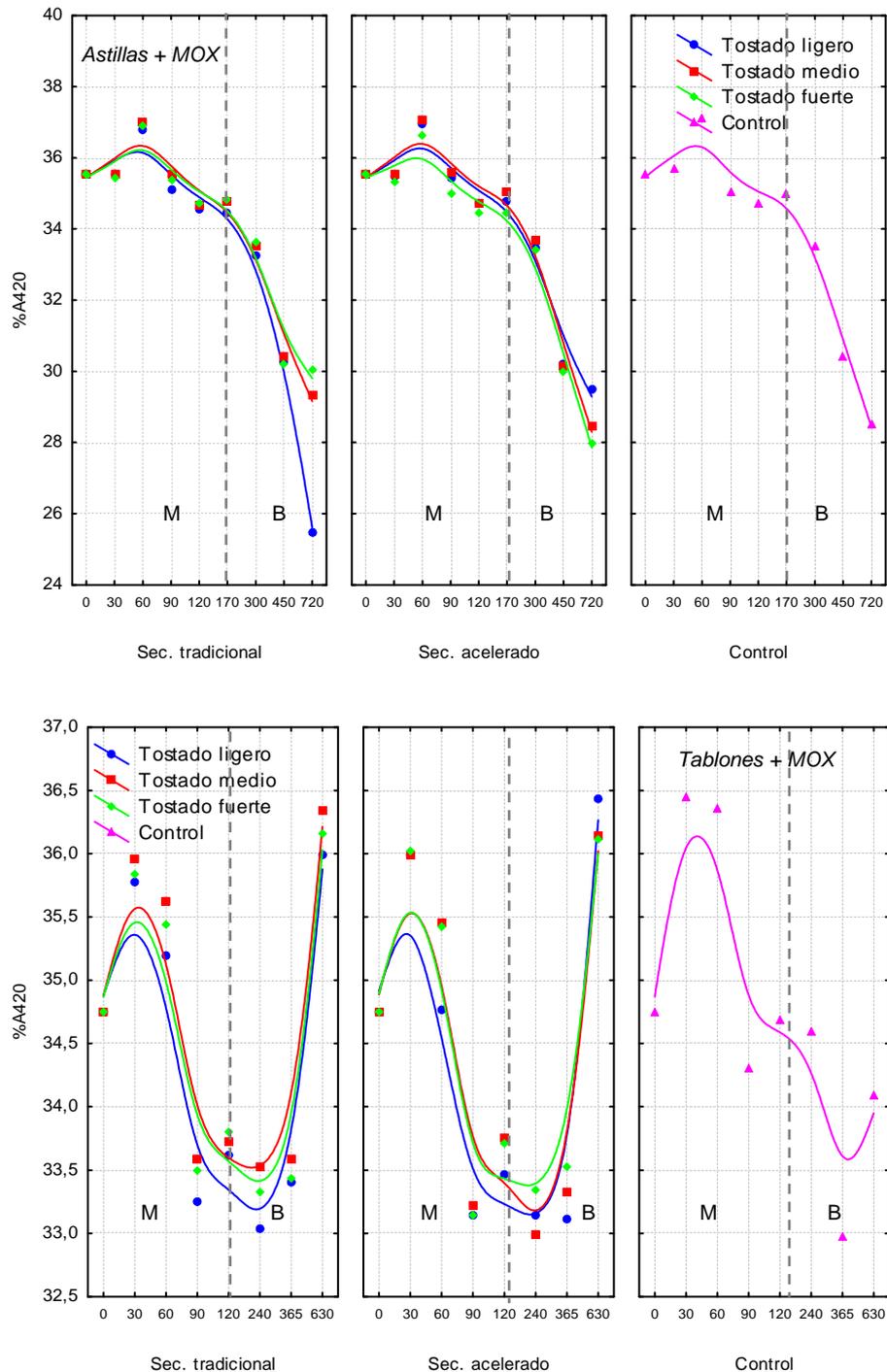


Figura 54- Evolución del color amarillo durante el envejecimiento en madera (M) y permanencia en botella (B) en los vinos con astillas (54a) y tablones (54b) de *Quercus pyrenaica* Willd.

La componente roja contribuye a la composición global del color de un vino. Al igual que la componente amarilla su contenido en los vinos durante el periodo en botella ha estado influido por el tamaño de los productos alternativos (tabla 16).

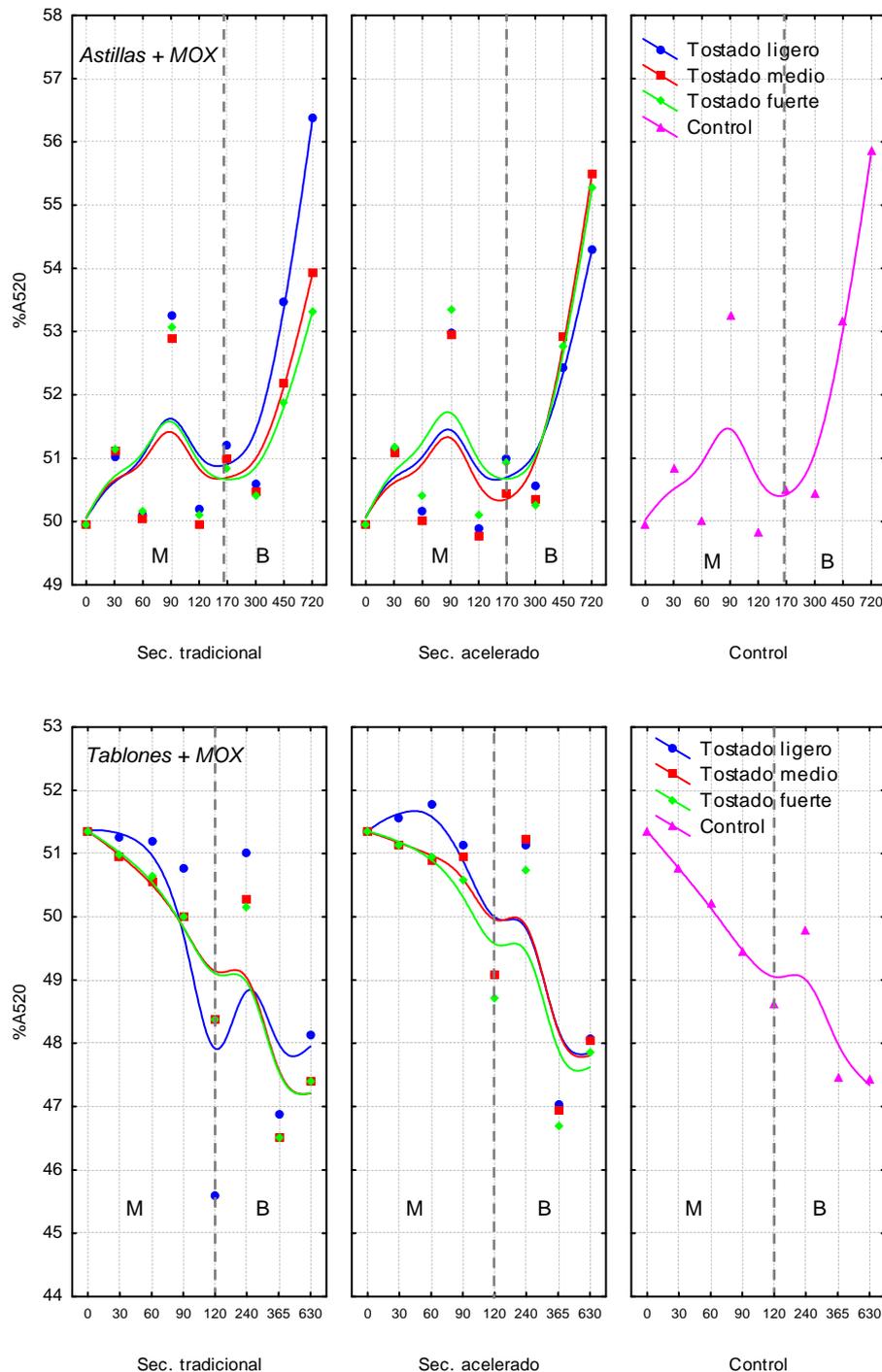


Figura 55- Evolución de color rojo en los vinos tratados con astillas (55a) y tablones (55b) de *Quercus pyrenaica* Willd. durante el envejecimiento en madera (M) y periodo de botella (B)

La evolución de los diferentes vinos ha sido diferente, los vinos con astillas y micro-oxigenación han sufrido un incremento en su componente roja, y los vinos con tablones y MOX un descenso (figuras 55 a y 55 b). Los vinos tratados con astillas y micro-oxigenación han mantenido más el color rojo propio de los vinos jóvenes.

El descenso observado en la componente roja de los vinos ha sido lógico, debido a los procesos que tienen lugar durante la crianza de un vino, como las polimerizaciones y condensaciones en las que están implicados los antocianos con los taninos (Feuillat y col., 1999). El ligero aumento que han experimentado los vinos con astillas en su componente roja durante el periodo de botella, ha podido ser debido al predominio de los procesos de copigmentación y de polimerización estabilizadores (Valls y col., 2000).

El contenido del color rojo en los vinos al tener en cuenta el secado y el grado de tostado de la madera no ha estado afectado significativamente durante todo el estudio, presentando valores similares, aunque han destacado los vinos con madera de secado acelerado y de tostado ligero por tener ligeramente mayor tonalidad roja, siendo unos vinos menos evolucionados que al utilizar tostado medio y fuerte (tablas 15 y 16).

Los resultados obtenidos de las componentes amarilla y roja no han sido los esperados, ya que con el envejecimiento se debe producir un aumento de la tonalidad amarilla de los vinos debido a la formación de compuestos amarillos como consecuencia de la oxidación del vino y a las polimerizaciones que tienen lugar, y un descenso de la componente roja debido a las reacciones en que están involucrados los antocianos y los taninos.

Los vinos han presentado una tendencia ascendente en la concentración de la componente azul (figuras 56 a y 56 b), la cual es debida a los procesos de condensación entre taninos y antocianos, la oxidación, incluso a las copigmentaciones que sufre el vino con la formación de nuevos pigmentos, los cuales pueden incrementar los tonos azulados (Del Álamo y col., 2004a).

El tamaño de la madera ha afectado al contenido del color azul en los vinos con un nivel de significación del 100% (tablas 15 y 16). Los vinos con tablones y micro-oxigenación han presentado mayor tono azul que los vinos tratados con astillas y micro-oxigenación durante el periodo de contacto vino-madera y el periodo de permanencia en botella.

El secado y el grado de tostado de la madera no han afectado significativamente a la componente azul de los vinos estudiados. Durante el envejecimiento en madera, los tonos azules en los vinos han aumentado al incrementar el grado de tostado de la madera, siendo los vinos tratados con madera de tostado fuerte los que mayores tonos azulados han presentado, seguidos de los vinos con madera de tostado medio y ligero (tabla 15), resultado gráficamente más visible en los vinos tratados con tablones (figuras 56 a y 56 b).

Los vinos embotellados tratados con madera de tostado fuerte también han presentado mayor componente azul (tabla 16, figuras 56 a y 56 b).

Respecto al secado de la madera, los vinos envejecidos con madera de secado tradicional han presentado mayores tonos azulados tanto durante el periodo de envejecimiento con la madera como durante el periodo en botella (tablas 15 y 16, figuras 56 a y 56 b).

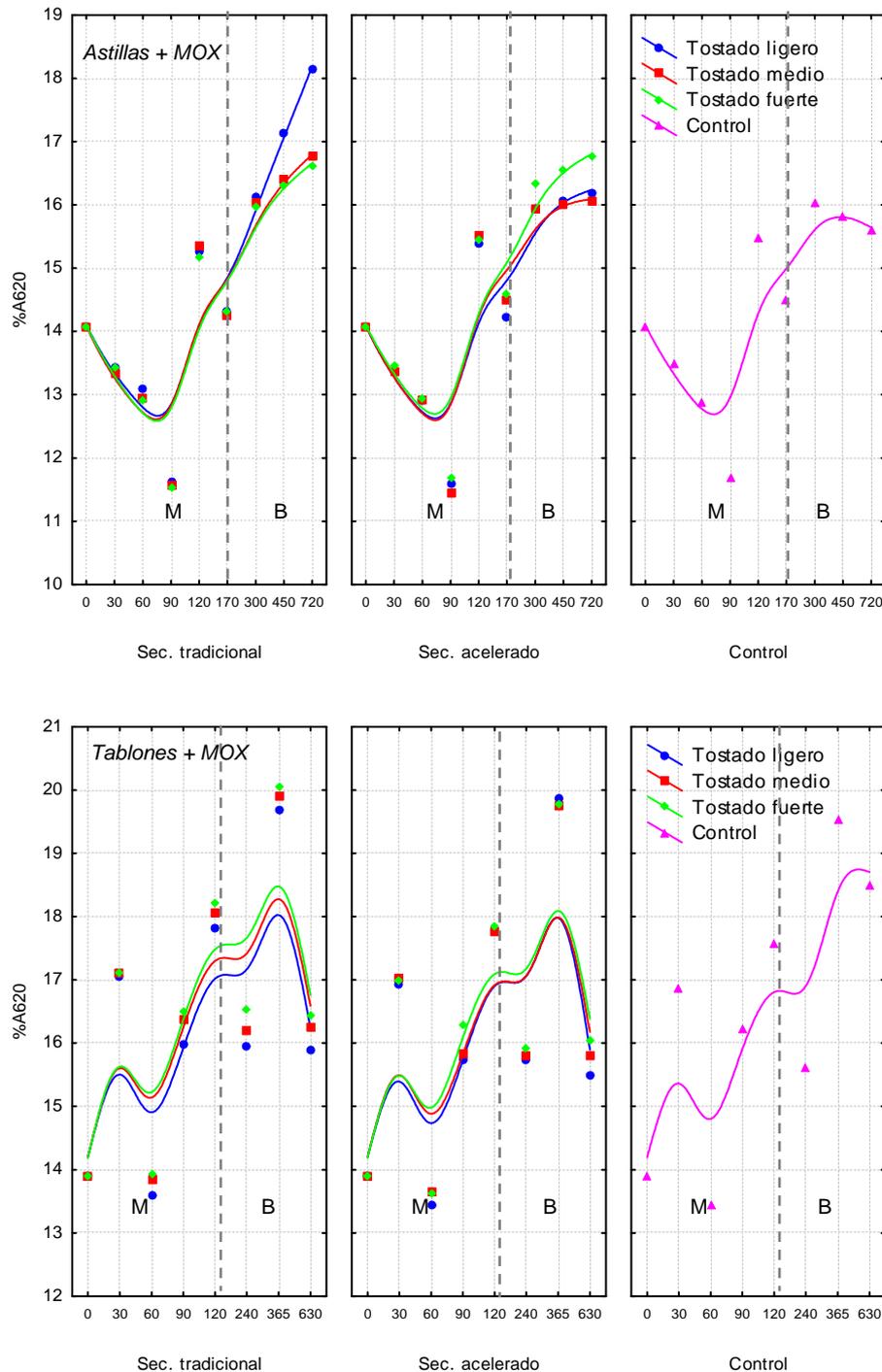


Figura 56- Cambios en el color azul de los vinos de este estudio tratados con astillas (56a) y tablones (56b) de *Quercus pyrenaica* Willd. durante el envejecimiento en madera (M) y permanencia en botella (B)

Las coordenadas cromáticas y el espacio CIELab permiten definir el color de los vinos de forma más precisa que los parámetros de Glories. Se han encontrado diferencias significativas al tener en cuenta el tamaño de los productos alternativos para algunos de los parámetros, durante el envejecimiento en madera y botella.

La luminosidad ( $L^*$ ) de los vinos nos indica la claridad que presentan los vinos. No se han encontrado diferencias significativas en la luminosidad en los diferentes vinos durante el tiempo que el vino ha permanecido con la madera (tabla 15), aunque durante el periodo de

botella los vinos tratados con astillas y micro-oxigenación han sido más limpios que los vinos de tablonos y MOX (tabla 16, figuras 57 a y 57 b).

El tipo de secado de la madera y el grado de tostado no han afectado significativamente a la limpidez de los vinos (tablas 15 y 16). Ha destacado la mayor limpidez de los vinos tratados con madera secada de forma acelerada y con tostado medio durante el periodo de contacto del vino con la madera (tabla 15, figuras 57 a y 57 b).

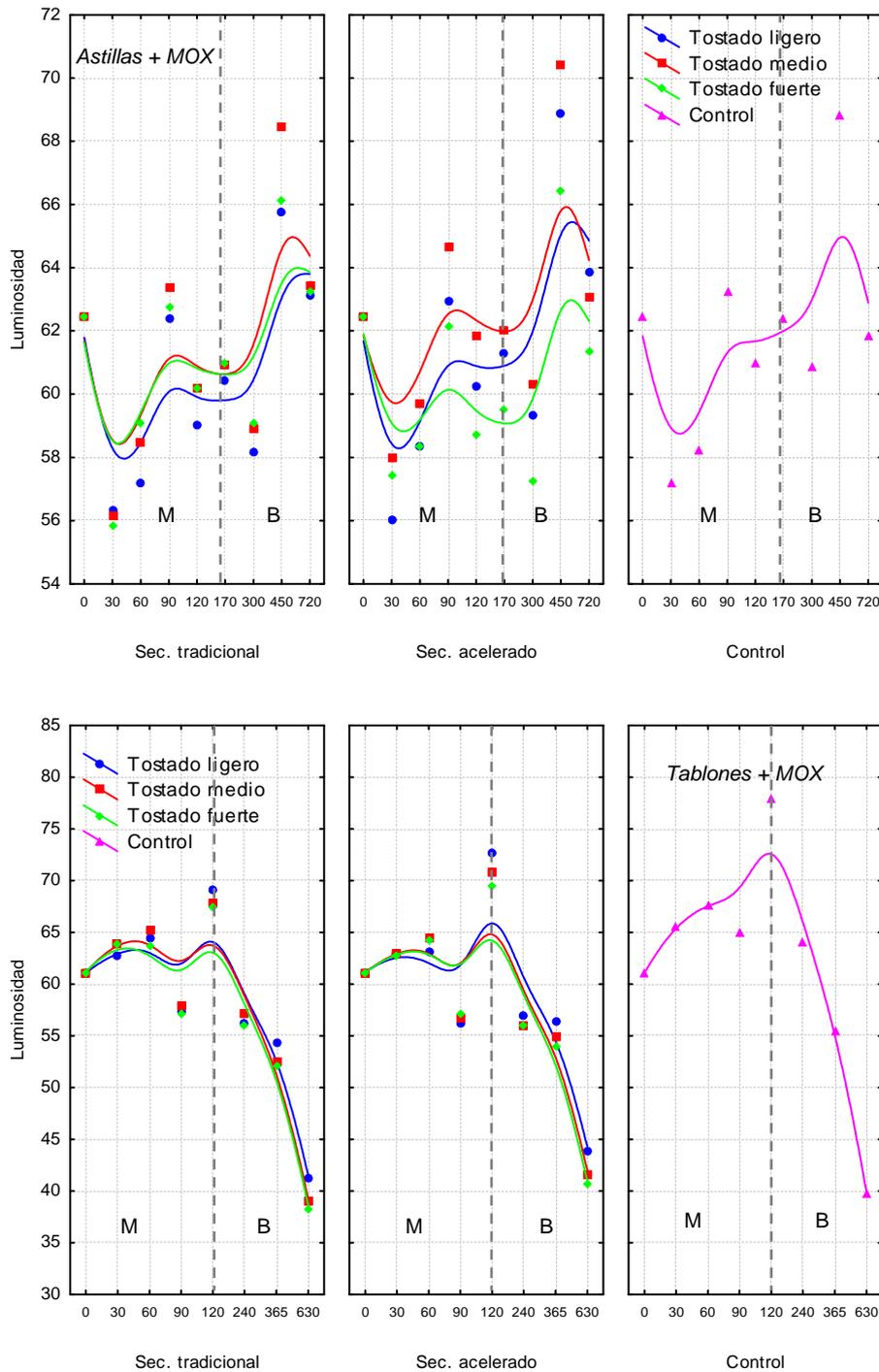


Figura 57- Evolución de la luminosidad de los vinos con astillas (57a) y tablonos (57b) de *Quercus pyrenaica* Willd. durante el periodo vino-madera (M) y permanencia en botella (B)

El parámetro  $a^*$  representa la tonalidad rojo-verde que tiene un vino. En todos los vinos analizados ha predominado la componente roja, con una tendencia general a descender debido a la degradación de los antocianos (figuras 58 a y 58 b).

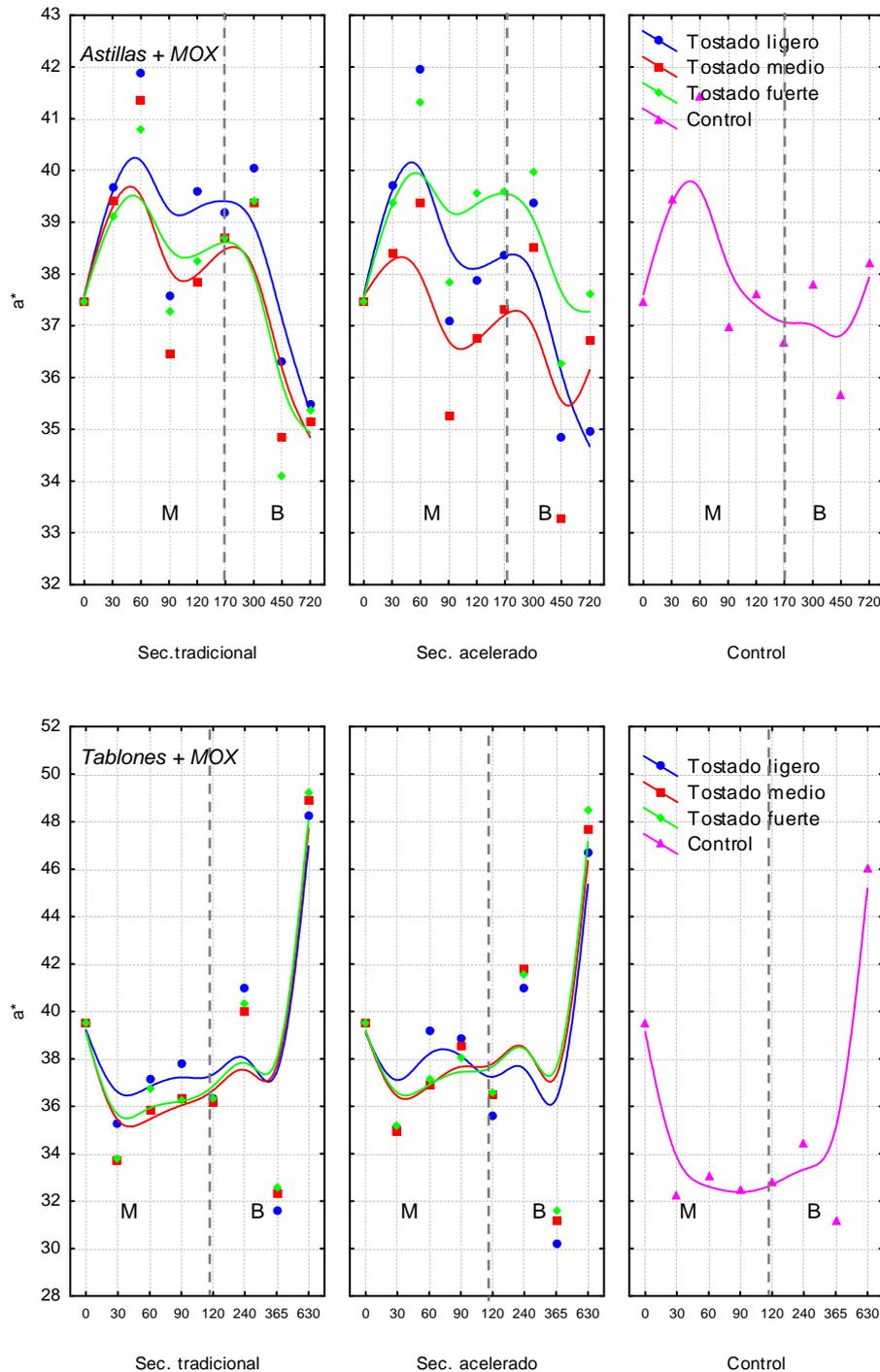


Figura 58- Evolución de la tonalidad rojo-verde de los vinos con productos alternativos, astillas (58a) y tablones (58b) de *Quercus pyrenaica* Willd. durante el envejecimiento en madera (M) y periodo de botella (B)

La tonalidad en los vinos no ha estado influida durante todo el periodo de estudio por los factores estudiados (tamaño, grado de tostado y secado de la madera) (tablas 15 y 16). Destacar que cuando se han empleado astillas y micro-oxigenación, los vinos tratados con madera de tostado medio han mostrado las menores tonalidades rojas, por lo que se trata de

vinos con menos antocianos libres (aspecto muy claro con el empleo de madera con secado acelerado) (figura 58 a).

En el sistema CIELab parámetro  $b^*$  informa del color azul-amarillo que presentan los vinos.

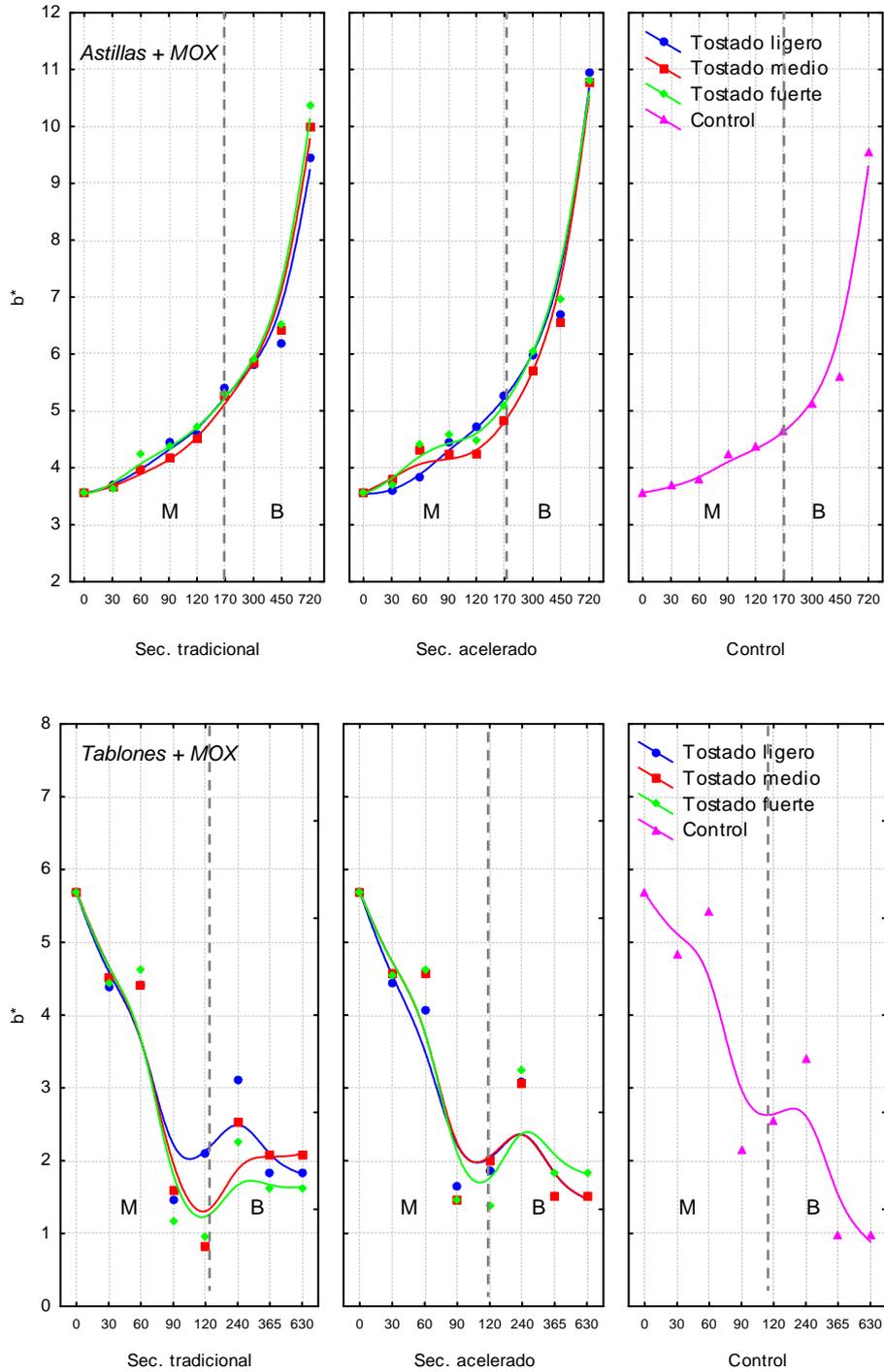


Figura 59- Evolución de la tonalidad amarillo-azul de los vinos tratados con astillas (59a) y tablones (59b) de *Quercus pyrenaica* Willd. durante el envejecimiento en madera (M) y permanencia en botella (B)

Durante el envejecimiento en madera, el empleo de astillas o tablones y micro-oxigenación ha influido estadísticamente en el parámetro  $b^*$ . Los vinos con astillas y MOX han presentado mayor tonalidad amarilla que los de tablones y micro-oxigenación (tabla 15). La evolución del parámetro  $b^*$  en los vinos durante el envejecimiento ha aumentado tanto durante el periodo de madera como el de botella (figuras 59 a y 59 b).

El grado de tostado y el tipo de secado de la madera no han afectado significativamente al parámetro  $b^*$  de los vinos. Los vinos tratados con madera de secado tradicional han presentado menos color amarillo que al utilizar madera secada de forma acelerado durante todo el estudio (vino-madera y botella) (tablas 15 y 16, figuras 59 a y 59 b). Respecto al grado de tostado de la madera, los vinos tratados con madera de tostado medio han presentado menor tonalidad amarilla durante todo el envejecimiento (tablas 15 y 16).

El parámetro H de un vino se deduce a partir de los parámetros de CIELab  $a^*$ ,  $b^*$  y L. Indica el ángulo de color o matiz que expresa la variación cualitativa del color y puede variar entre  $0^\circ$  y  $360^\circ$ . El ángulo de color de los vinos analizados ha estado influido estadísticamente por el tamaño de la madera de los productos alternativos durante el envejecimiento en madera y el periodo en botella (tablas 15 y 16). Los vinos tratados con astillas y micro-oxigenación han presentado mayor ángulo de color que al utilizar tablones y micro-oxigenación (tablas 15 y 16, figuras 60 a y 60 b).

El secado y el grado de tostado de la madera no han influido estadísticamente en el ángulo de color de los vinos, mostrando valores muy similares entre los diferentes vinos. En las tablas 15 y 16 se ha observado durante todo el envejecimiento que el matiz ha sido levemente superior en los vinos tratados con madera secada de forma acelerada (figuras 60 a y 60 b). Respecto al grado de tostado de la madera, durante el periodo de botella (tabla 16) se ha observado que el ángulo de color en los vinos ha disminuido al aumentar el grado de tostado de la madera, siendo los vinos embotellados tratados madera de tostado ligero los que mayor matiz han presentado.

El descenso que ha experimentado el matiz de los vinos envejecido con tablones y MOX durante todo el periodo de estudio (periodo de contacto vino-madera y periodo de botella) (figura 60 b), ha coincidido con lo estudiado por Cano y su equipo de investigación en 2007, observando que el color de los vinos envejecidos en barricas de roble cambiaba hacia tonalidades azuladas (Cano y *col.*, 2007).

A partir de las coordenadas  $a^*$  y  $b^*$  se obtiene la cromaticidad o croma ( $C^*$ ), que corresponde a la pureza del color. La cromaticidad de los vinos analizados ha estado afectada significativamente durante el periodo de botella por el tamaño de la madera empleada (tabla 16). Los vinos con astillas y micro-oxigenación han presentado mayor cromaticidad que los envejecidos con tablones y MOX. La evolución del croma ha presentado pequeñas variaciones a lo largo del envejecimiento, con una tendencia hacia el descenso (figuras 61 a y 61 b), coincidiendo este resultado con lo obtenido por el grupo de investigación de Cano en 2007 al envejecer un vino tinto en barricas de roble americano y en botella (Cano y *col.*, 2007).

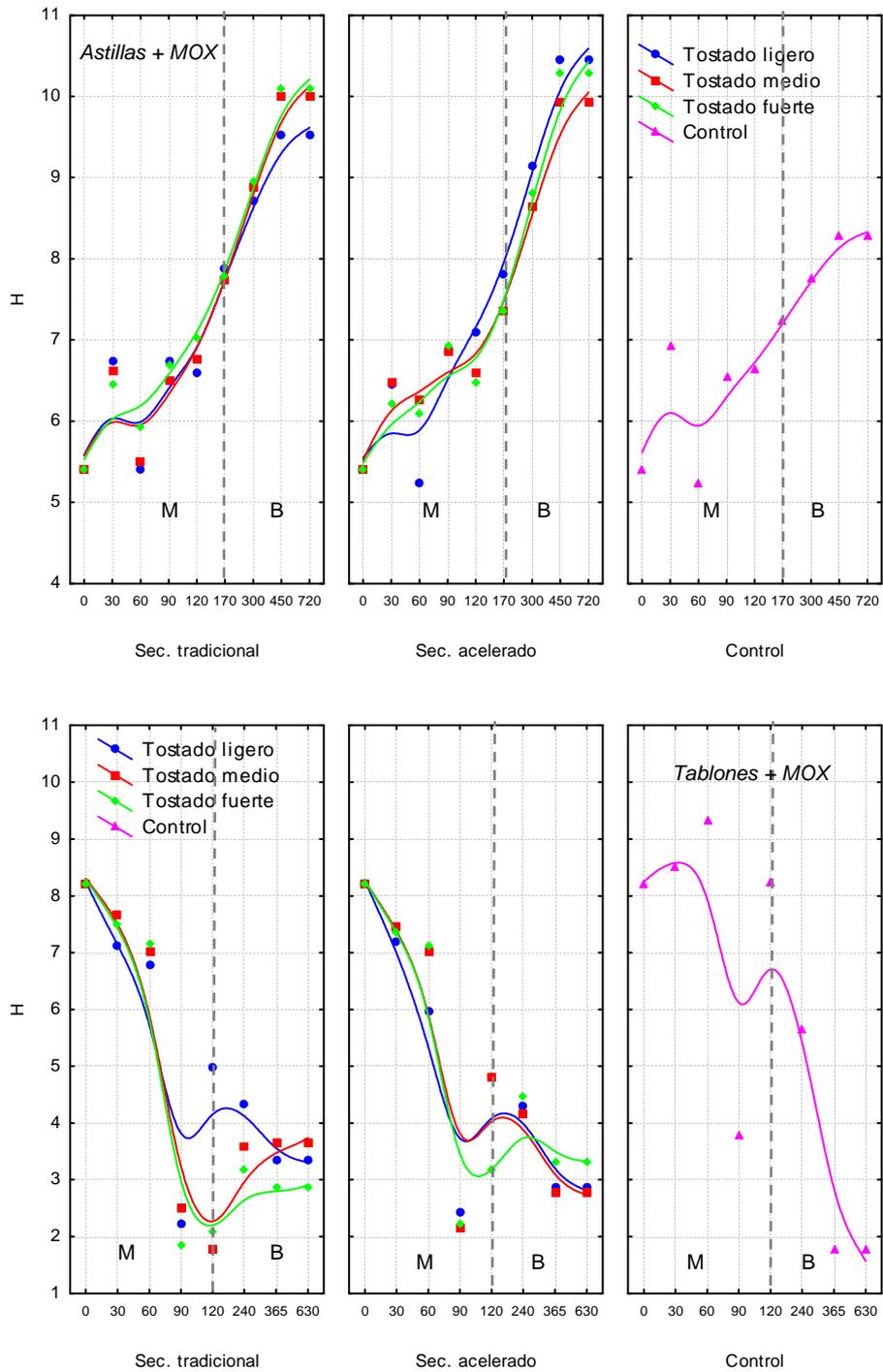


Figura 60- Angulo de color en vinos con astillas (60a) y tablones (60b) *Quercus pyrenaica* Willd.a lo largo del periodo de contacto del vino-madera (M) y permanencia en botella (B)

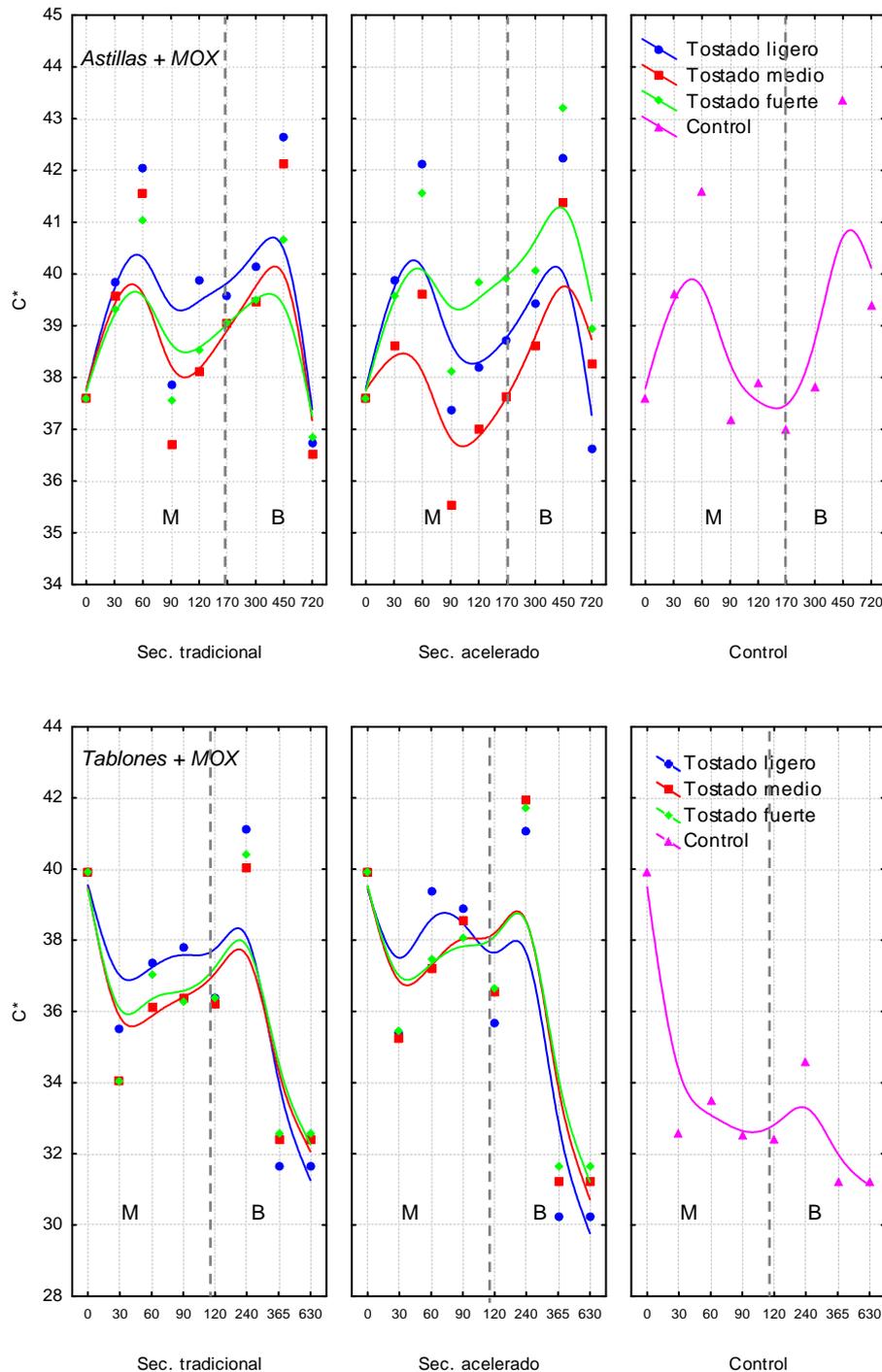


Figura 61- Evolución de la cromaticidad en los vinos con astillas( 61a) y tablones (61b) de *Quercus pyrenaica* Willd. durante el envejecimiento en madera (M) y periodo de botella (B)

El tostado y el secado de la madera no han influido estadísticamente en la cromaticidad de los vinos, se ha observado durante el periodo de contacto vino-madera que los vinos tratados con madera de tostado medio han presentado menor croma que los vinos con madera de tostado ligero y fuerte (tabla 15, figuras 61 a y 61 b).

En los vinos embotellados, la cromaticidad ha aumentado con el grado de tostado de la madera, siendo los vinos con madera de tostado fuerte los que mayor croma han presentado. Según el secado de la madera, durante este periodo han sido los vinos tratados con madera

secada de forma tradicional los que han tenido mayor croma que al emplear madera de secado acelerado (tabla 16).

#### **4.1.4. Componentes volátiles procedentes de la madera de roble**

El envejecimiento con madera de roble permite aumentar la calidad de los vinos. Durante los últimos años, se han identificado gran cantidad de compuestos volátiles extraídos de la madera de roble los cuales aportan a los vinos mayor complejidad aromática (vainilla, coco, tostado, almendras tostadas, caramelo, etc.).

Estos compuestos volátiles aportados por la madera pueden pertenecer a familias químicas muy diferentes, se clasifican como compuestos furánicos, aldehídos fenólicos, fenoles volátiles, fenil cetonas, lactonas y otros heterociclos volátiles. Todos estos compuestos se encuentran en el vino antes del envejecimiento, excepto el 5MF, isomaltol, isobutirovainillona y los isómeros cis y trans de  $\beta$ -metil  $\gamma$ - octolactona (W-lactona) que solo se encuentran en los vinos sometidos a contacto con madera. La cesión de todos los compuestos volátiles aportados por la madera va a modificar sus concentraciones en el vino a lo largo del envejecimiento.

Las distintas concentraciones encontradas en los vinos se han debido fundamentalmente al tamaño del producto alternativo (tablas 17 y 18), aunque el tipo de tostado y el secado de la madera también han sido determinantes en el contenido de algunos compuestos volátiles encontrados en los vinos. A continuación se pasa a describir los resultados obtenidos para cada grupo de compuestos analizados.

Los furanos (furfural, 5MF y 5HMF) van a ser aportados por la madera de roble. Las diferencias de concentración encontradas en los vinos se han debido fundamentalmente al tamaño de los productos alternativos a las barricas empleado (astillas o tablones).

El secado y el tostado de la madera han afectado de forma significativa a los contenidos de 5MF y 5HMF. Han destacado especialmente las altas concentraciones encontradas en los vinos tratados con tablones y micro-oxigenación, que han podido ser debidas al intercambio térmico que tiene lugar a través de la convección con poco oxígeno, ya que el calentamiento por convección favorece la producción de aldehídos furánicos que posteriormente pasan al vino.

En las figuras 62 a 64 se observa un aumento en la concentración de furanos en el vino durante los 3 primeros meses de contacto del vino con la madera. Se han encontrado concentraciones significativamente superiores en el vino al envejecer con tablones y micro-oxigenación frente al uso de astillas y micro-oxigenación (tabla 17, figuras 62 a 64). Los valores medios de furfural en el vino durante el periodo de contacto vino-madera han sido de 6,55 mg/L y 0,61 mg/L con el uso de tablones y astillas respectivamente y micro-oxigenación (tabla 17). La concentración media de 5MF ha variado entre 1,68 y 0,96 mg/L y la de 5HMF ha estado entre 1,22 y 0,10 mg/L en tablones y astillas y micro-oxigenación (tabla 17).

El secado y el tostado de la madera han influido significativamente en la concentración en el vino de estos compuestos durante su envejecimiento con madera (tabla 17). Los vinos con las

mayores concentraciones de estos compuestos han sido los tratados con madera de secado tradicional frente a la madera que sufrió un secado acelerado.

Respecto a la importancia del grado de tostado de la madera, los vinos han presentado mayores concentraciones cuanto mayor ha sido el grado de tostado, excepto en el 5HMF, con los mayores niveles en los vinos tratados con madera de tostado medio (resultado más evidente con el empleo de tablonos) (tabla 17, figuras 64 a y 64 b).

Se ha observado que, con el envejecimiento la concentración de estos compuestos en el vino descendía progresivamente (tabla 18, figuras 62 a 64). Este descenso se atribuye a la participación de estos derivados furánicos en reacciones que tienen lugar durante el envejecimiento, como es la formación del alcohol furfúrico a partir de la reducción biológica del furfural o la reacción con (+)-catequina, dando lugar a aductos de color marrón (Fernández de Simón y *col.*, 2008), alcanzando concentraciones cercanas a 0,05 mg/L al llevar 18 meses en botella (figuras 62 a 64).

Estos compuestos pueden comunicar aromas a tostado y almendras tostadas, pero observando los valores medios alcanzados por cada uno de los aldehídos furánicos, vemos que no se alcanzaron los umbrales de percepción (20 mg/L el furfural, 45 mg/L el 5MF y 15 mg/L el 5HMF) (Cadaña y *col.*, 2008), por lo que su contribución sensorial directa a los vinos será muy pequeña, aunque participan del aroma global del vino.

Durante la permanencia en botella, el grado de tostado y el secado de la madera han afectado significativamente a la concentración de 5MF y 5HMF de los vinos, siendo mayor la concentración en los vinos tratados con madera de secado tradicional frente al secado acelerado (resultado más evidente en tablonos) (tabla 18, figuras 63 a-b y 64 a-b).

La concentración de furfural de los vinos embotellados envejecidos con tablonos de madera secada de forma tradicional también ha sido superior que al emplear madera con secado acelerado (tabla 18, figura 62 b). La concentración de furfural y 5MF en los vinos embotellados ha aumentado con el grado de tostado de la madera, al igual que ha ocurrido durante el periodo de contacto del vino con la madera, de forma que los vinos tratados con madera de tostado fuerte alcanzaron mayores concentraciones de furfural y 5MF que al utilizar madera con tostado ligero y medio, siendo significativas estas diferencias en el caso del 5MF, resultado gráficamente más visible en los tablonos de secado acelerado y micro-oxigenación (tabla 18, figuras 62 a-b y 63 a-b).

Durante el envejecimiento en madera, el tostado medio ha sido el que ha aportado mayores concentraciones de 5HMF a los vinos (tabla 18, figuras 64 a y 64 b), siendo más evidente este resultado en los vinos tratados con tablonos de secado tradicional.

Tabla 17- Contenido promedio de compuestos volátiles (mg/L) presentes en el vino procedentes de la madera en función del formato, tostado y secado durante el envejecimiento en madera y resultados de la ANOVA

	Tamaño			Tostado				Secado		
	Astillas	Tablones	<i>p</i> level	Ligero	Medio	Fuerte	<i>p</i> level	Tradic.	Aceler.	<i>p</i> level
Furfural	0,61 a	6,55 b	<b>0,000</b>	1,26 a	3,85 b	4,82 b	<b>0,000</b>	4,95 b	1,68 a	<b>0,000</b>
5MF	0,96 a	1,68 b	<b>0,000</b>	0,82 a	1,48 b	1,55 b	<b>0,001</b>	1,53 b	1,04 a	<b>0,003</b>
5HMF	0,10 a	1,22 b	<b>0,000</b>	0,44 a	0,76 b	0,62 ab	<b>0,032</b>	0,73 b	0,48 a	<b>0,014</b>
Alcohol furfurílico	0,01 b	0,00 a	<b>0,005</b>	0,00 a	0,01 a	0,01 a	0,534	0,01 a	0,00 a	0,488
γ-butirolactona	14,38 a	16,82 a	0,102	16,16 a	15,41 a	14,89 a	0,782	15,91 a	15,06 a	0,561
Guayacol	0,37 b	0,24 a	<b>0,001</b>	0,33 a	0,31 a	0,28 a	0,576	0,31 a	0,31 a	0,873
Alcohol bencílico	0,31 a	0,29 a	0,437	0,32 a	0,29 a	0,29 a	0,711	0,32 a	0,29 a	0,327
W-lactona trans	0,15 a	0,17 a	0,090	0,14 a	0,16 a	0,16 a	0,217	0,17 b	0,14 a	<b>0,002</b>
W-lactona cis	0,32 a	0,80 b	<b>0,000</b>	0,51 a	0,56 a	0,54 a	0,757	0,69 b	0,38 a	<b>0,000</b>
Maltol	0,29 a	0,25 a	0,156	0,25 a	0,27 a	0,30 a	0,194	0,28 a	0,27 a	0,604
Eugenol	0,03 a	0,04 a	0,135	0,04 a	0,03 a	0,03 a	0,321	0,03 a	0,04 a	<b>0,040</b>
4-etilfenol	0,01 a	0,39 b	<b>0,000</b>	0,19 a	0,20 a	0,15 a	0,699	0,20 a	0,15 a	0,304
Isoeugenol	0,09 a	0,01 b	<b>0,000</b>	0,05 a	0,03 a	0,06 a	0,204	0,01 a	0,08 b	<b>0,000</b>
<i>p</i> -Vainillina	0,23 a	0,20 a	0,295	0,12 a	0,20 b	0,33 c	<b>0,000</b>	0,22 a	0,20 a	0,654
Acetovainillona	0,06 a	0,09 b	<b>0,000</b>	0,07 a	0,07 a	0,08 a	0,222	0,07 a	0,08 a	0,699
Siringaldehído	0,22 a	0,17 a	0,067	0,09 a	0,16 a	0,34 b	0,000	0,17 a	0,22 a	0,081

(Para cada factor, letras distintas en filas indican diferencias estadísticamente significativas). En negrita se muestra el *p* level con significación > 95% (*p*<0,05)

Tabla 18- Contenido promedio de compuestos volátiles (mg/L) presentes en el vino procedentes de la madera en función del formato, tostado y secado durante el envejecimiento en botella y resultados de la ANOVA

	Tamaño			Tostado				Secado		
	Astillas	Tablones	<i>p</i> level	Ligero	Medio	Fuerte	<i>p</i> level	Tradic.	Aceler.	<i>p</i> level
Furfural	0,23 a	1,19 b	<b>0,035</b>	0,29 a	0,62 a	1,23 a	0,222	1,13 a	0,29 a	0,065
5MF	0,29 a	0,99 b	<b>0,000</b>	0,33 a	0,79 b	0,81 b	<b>0,043</b>	0,85 b	0,44 a	<b>0,023</b>
5HMF	0,07 a	0,54 b	<b>0,000</b>	0,20 a	0,41 b	0,31 ab	<b>0,028</b>	0,40 b	0,22 a	<b>0,005</b>
Alcohol furfurílico	0,01 a	0,06 b	<b>0,012</b>	0,05 a	0,03 a	0,03 a	0,683	0,03 a	0,04 a	0,776
γ-butirolactona	27,09 b	23,73 a	<b>0,000</b>	27,26 b	25,36 a	23,60 a	<b>0,001</b>	24,96 a	25,85 a	0,251
Guayacol	0,19 a	0,20 a	0,415	0,18 a	0,19 a	0,21 a	0,231	0,19 a	0,19 a	0,957
Alcohol bencílico	0,51 b	0,35 a	<b>0,003</b>	0,44 a	0,43 a	0,41 a	0,850	0,44 a	0,42 a	0,731
W-lactona trans	0,22 a	0,17 b	<b>0,000</b>	0,20 a	0,21 a	0,20 a	0,727	0,21 a	0,19 a	0,072
W-lactona cis	0,46 a	1,28 b	<b>0,000</b>	0,79 a	0,97 b	0,84 a	<b>0,001</b>	1,12 b	0,62 a	<b>0,000</b>
Maltol	0,40 a	0,38 a	0,252	0,34 a	0,40 b	0,43 b	<b>0,003</b>	0,40 a	0,38 a	0,427
Eugenol	0,04 a	0,26 a	<b>0,000</b>	0,16 a	0,17 a	0,13 a	0,227	0,14 a	0,16 a	0,250
4-etilfenol	0,05 b	0,15 a	<b>0,000</b>	0,13 a	0,08 a	0,09 a	0,283	0,13 a	0,08 a	0,069
Isoeugenol	0,42 a	0,26 a	<b>0,000</b>	0,39 a	0,32 a	0,32 a	0,351	0,39 b	0,29 a	<b>0,029</b>
<i>p</i> -Vainillina	0,23 a	0,23 b	0,930	0,14 a	0,23 b	0,31 c	<b>0,000</b>	0,23 a	0,22 a	0,528
Acetovainillona	0,13 a	0,16 b	<b>0,014</b>	0,15 a	0,14 a	0,15 a	0,918	0,14 a	0,15 a	0,197
Siringaldehído	0,09 a	0,25 b	<b>0,000</b>	0,10 a	0,17 b	0,24 c	<b>0,000</b>	0,18 a	0,16 a	0,296

(Para cada factor, letras distintas en filas indican diferencias estadísticamente significativas). En negrita se muestra el *p* level con significación > 95% (*p*<0,05)

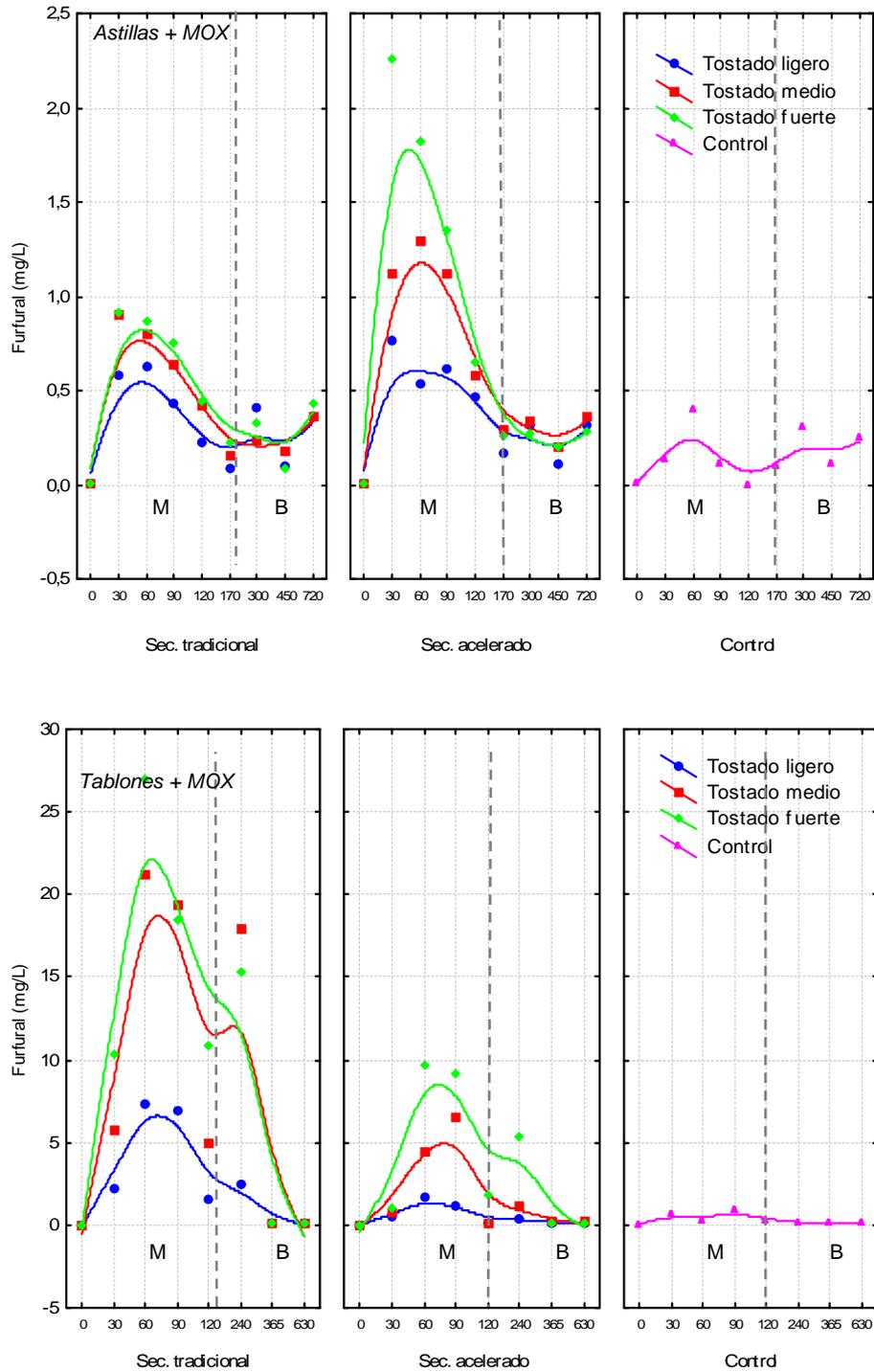


Figura 62- Evolución del contenido de furfural (mg/L) del vino a lo largo del envejecimiento en madera (M) y botella (B) al emplear astillas (62a) y tablones (62b) de *Quercus pyrenaica* Willd.

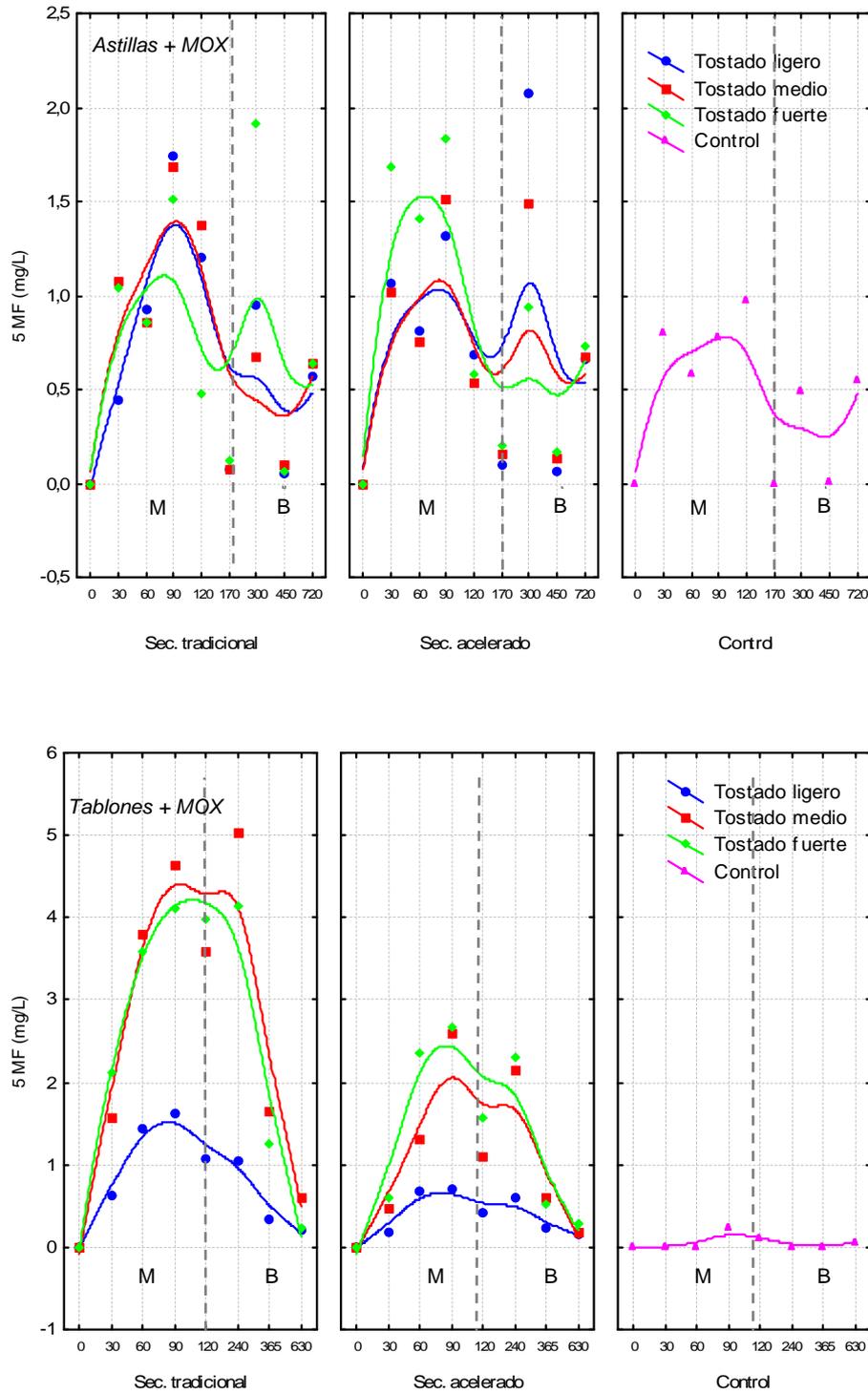


Figura 63- Evolución del contenido de 5MF (mg/L) durante el envejecimiento en madera (M) y permanencia en botella (B) de los vinos con astillas (63a) y tablones (63b) de *Quercus pyrenaica* Willd.

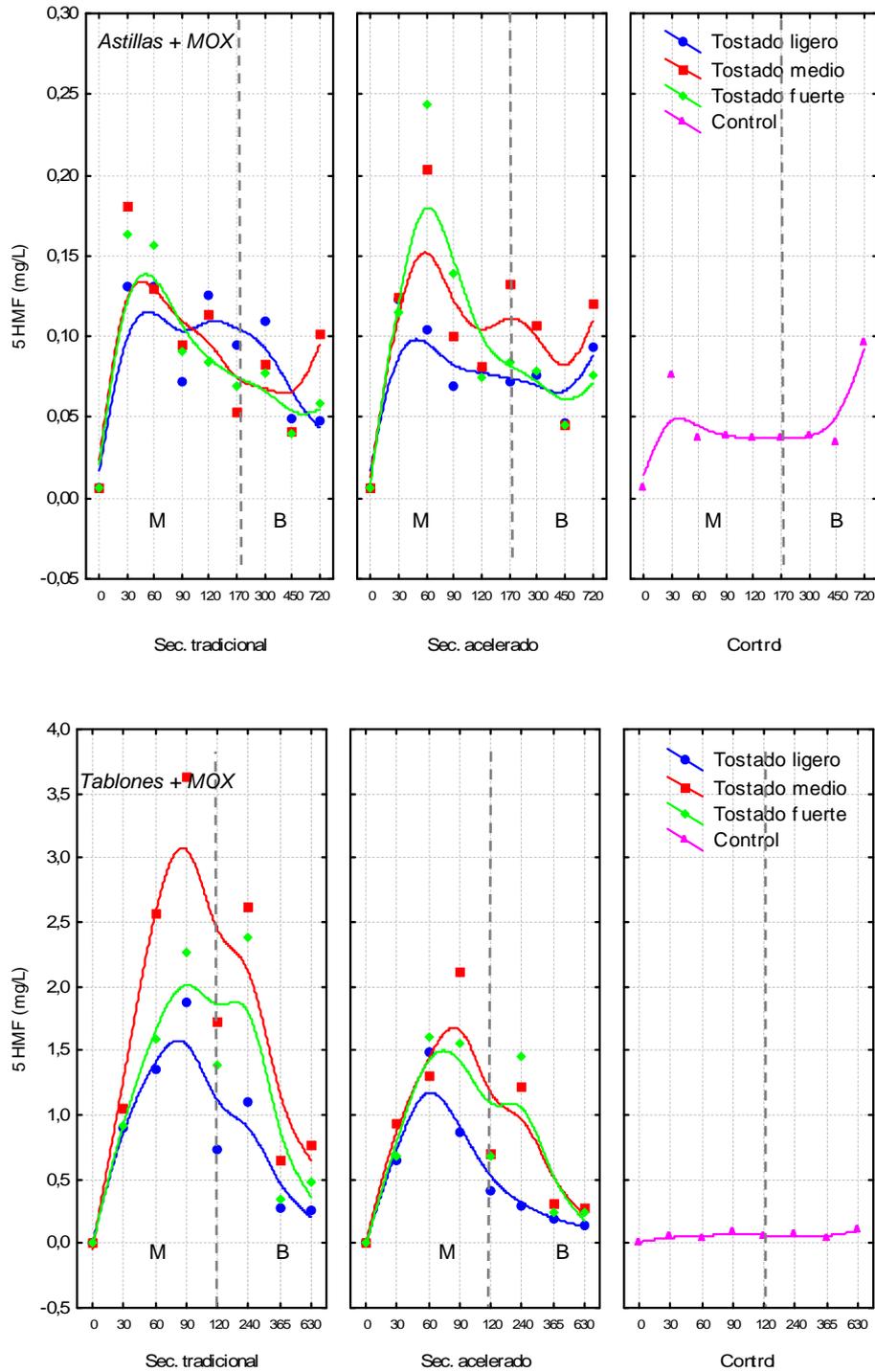


Figura 64- Contenido de 5HMF (mg/L) de los vinos tratados con astillas (64a) y tablones (64b) de *Quercus pyrenaica* Willd. durante el envejecimiento en madera (M) y periodo de botella (B)

Los isómeros cis y trans de la  $\beta$ -metil  $\gamma$ -octolactona son compuestos considerados marcadores del envejecimiento de los vinos, ya que su concentración en el vino no tratado con madera es prácticamente nula.

El isómero cis comunica notas a tostado, nuez de coco y madera. Es el isómero más importante sensorialmente, con un umbral de percepción de 54  $\mu\text{g/L}$  (Fernández de Simón y col., 2008). El isómero trans aporta notas de especias y nuez de coco, pero tiene un umbral de

percepción mucho más alto que el isómero *cis*, situándose en 370 µg/L, por lo que será menos aromático. Son considerados los compuestos volátiles más importantes procedentes de la madera, siendo importante el efecto sinérgico que presentan sobre los aldehídos fenólicos (vainillina y siringaldehído), aspecto que mejora la calidad aromática de los vinos, aunque con concentraciones excesivas pueden producir aromas resinosos, barniz, lo que puede resultar desagradable (Garde y *col.*, 2002).

Se ha observado que ambos isómeros son extraídos de la madera de roble hacia el vino a lo largo de los 6 meses de estudio. En cuanto al contenido del isómero *cis*, como en el caso de los compuestos furánicos, se han encontrado niveles significativamente más elevados en el vino envejecido con tablonos de roble con secado tradicional (tablas 17 y 18, figuras 66 a y 66 b).

En todos los vinos analizados la concentración media del isómero *cis* ha sido superior al *trans*, alcanzando durante los meses de contacto del vino con la madera valores máximos de 0,32 y 0,80 mg/L al emplear astillas y tablonos y micro-oxigenación respectivamente, y valores de 0,46 y 1,28 mg/L en vinos con astillas y tablonos durante el periodo de botella (tabla 18). Este incremento en la concentración del isómero *cis* durante el periodo de botella ha podido ser debido a que este isómero puede aumentar en el vino tanto durante el envejecimiento en madera como en botella, proveniente de compuestos precursores extraídos también de la madera de roble (Pollnitz y *col.*, 2000).

En todos los vinos analizados la concentración de *cis*-W-lactona ha sido superior a su umbral de percepción, pero en el caso del isómero *trans* el contenido ha sido inferior. Los vinos envejecidos con tablonos de secado tradicional y micro-oxigenación han presentado mayores niveles del isómero *trans*. Este resultado también se ha observado en el caso del isómero *cis*, coincidiendo con lo descrito por Chatonnet en 1999 y el grupo de Koussissi durante 2009 (Chatonnet, 1999a; Koussissi y *col.*, 2009).

Durante el periodo de permanencia en botella, los tres factores estudiados (tamaño de la madera, secado y grado de tostado de la madera) han influido estadísticamente en el contenido de *cis*-W-lactona, siendo mayores los niveles al envejecer los vinos con tablonos de secado tradicional de tostado medio y micro-oxigenación (tabla 18, figura 65 b). Este comportamiento también se ha observado en el isómero *trans* aunque las diferencias en la concentración en los vinos con distintos grados de tostado y tipo de secado de la madera no han sido significativas (tabla 18).

Diversos autores estudiaron la relación de los dos isómeros (*cis/trans*), la cual ha sido utilizada como indicador del envejecimiento en madera de diferentes orígenes, mostrando valores alrededor de 2 en los vinos envejecidos en madera francesa, y superior a 5 en los vinos envejecidos en roble americano (Cadahía y *col.*, 2009; Garde y *col.*, 2002, 2010). La relación *cis/trans* en los vinos estudiados durante el contacto vino-madera ha estado comprendida entre 2 y 4 en función del tamaño de los productos alternativos a las barricas, siendo 2 esta relación para los vinos tratados con astillas y micro-oxigenación y 4 para los vinos con tablonos y micro-oxigenación. Sin embargo, durante el periodo de botella la relación ha sido de 2 para los vinos tratados con astillas y 7 para los vinos con tablonos.

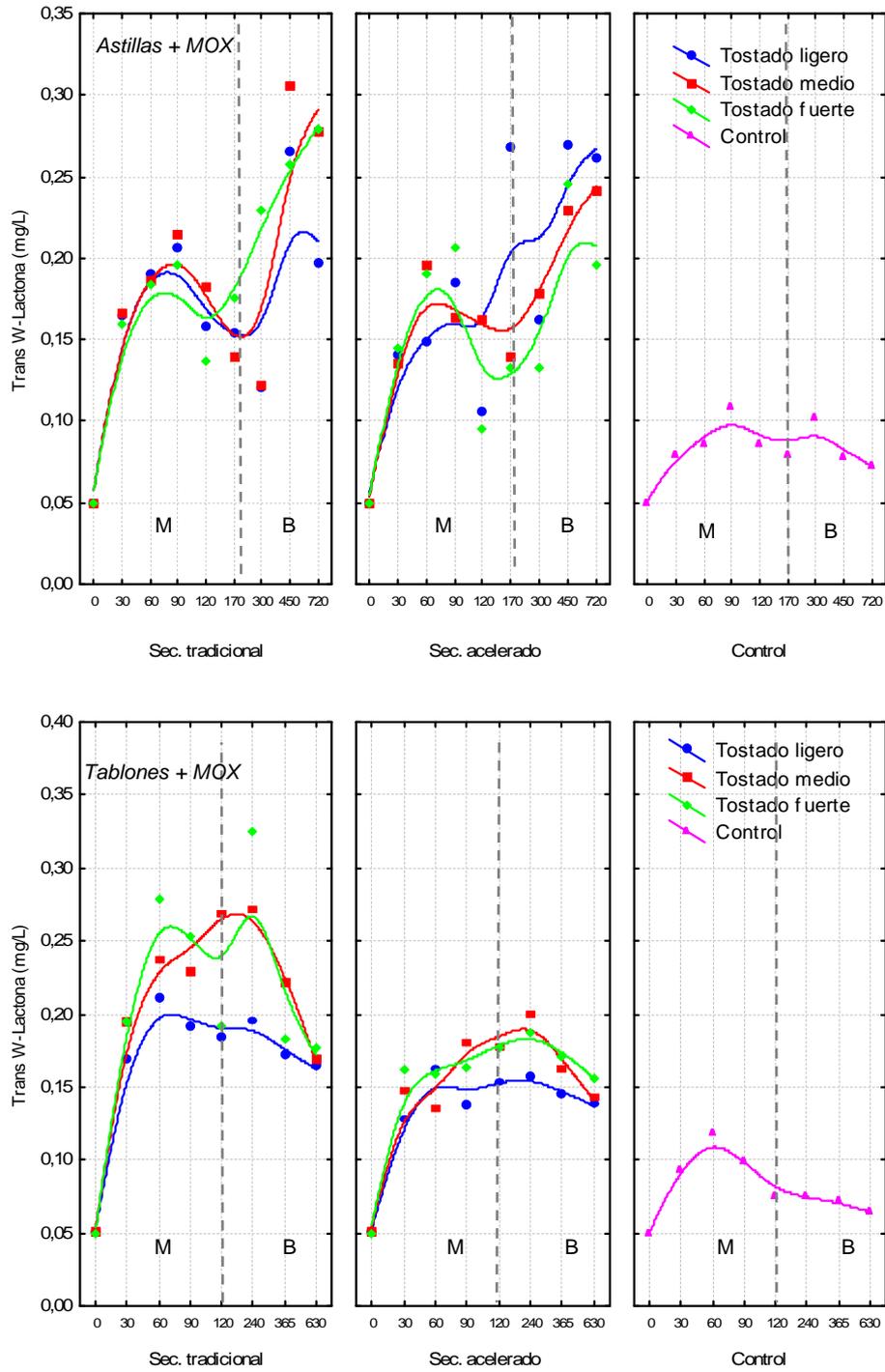


Figura 65- Evolución del isómero trans  $\beta$ -metil  $\gamma$ -octolactona (mg/L de trans W-lactona) en los vinos a lo largo del envejecimiento en madera (M) y botella (B) al emplear astillas (65a) y tablones (65b) de *Quercus pyrenaica* Willd.

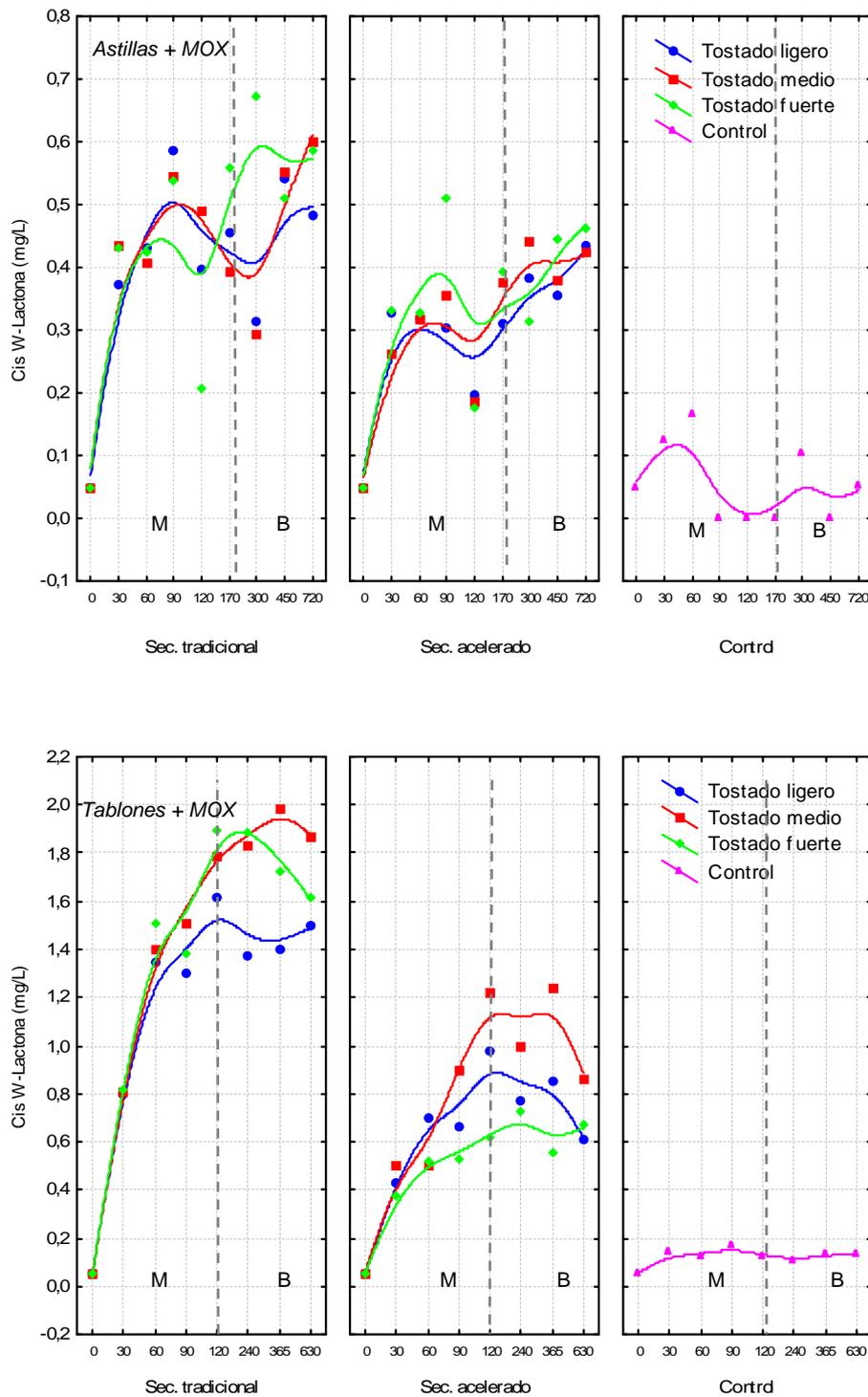


Figura 66- Evolución del isómero cis  $\beta$ -metil  $\gamma$ -octolactona (mg/L de cis W-lactona) en los vinos tratados con astillas (66a) y tablones (66b) de *Quercus pyrenaica* Willd. durante el envejecimiento en madera (M) y periodo de botella (B)

El vino contiene antes del envejecimiento pequeñas cantidades de maltol, este compuesto es extraído de la madera y proporciona aromas a caramelo y a tostado. Los niveles de este heterociclo oxigenado en los diferentes vinos han sido similares, no existiendo grandes diferencias en las concentraciones de maltol en los diferentes vinos al tener en cuenta el

tamaño y el secado de la madera, siendo las concentraciones levemente más altas al envejecer con astillas y con madera de secado tradicional (tablas 17 y 18, figuras 67 a y 67 b).

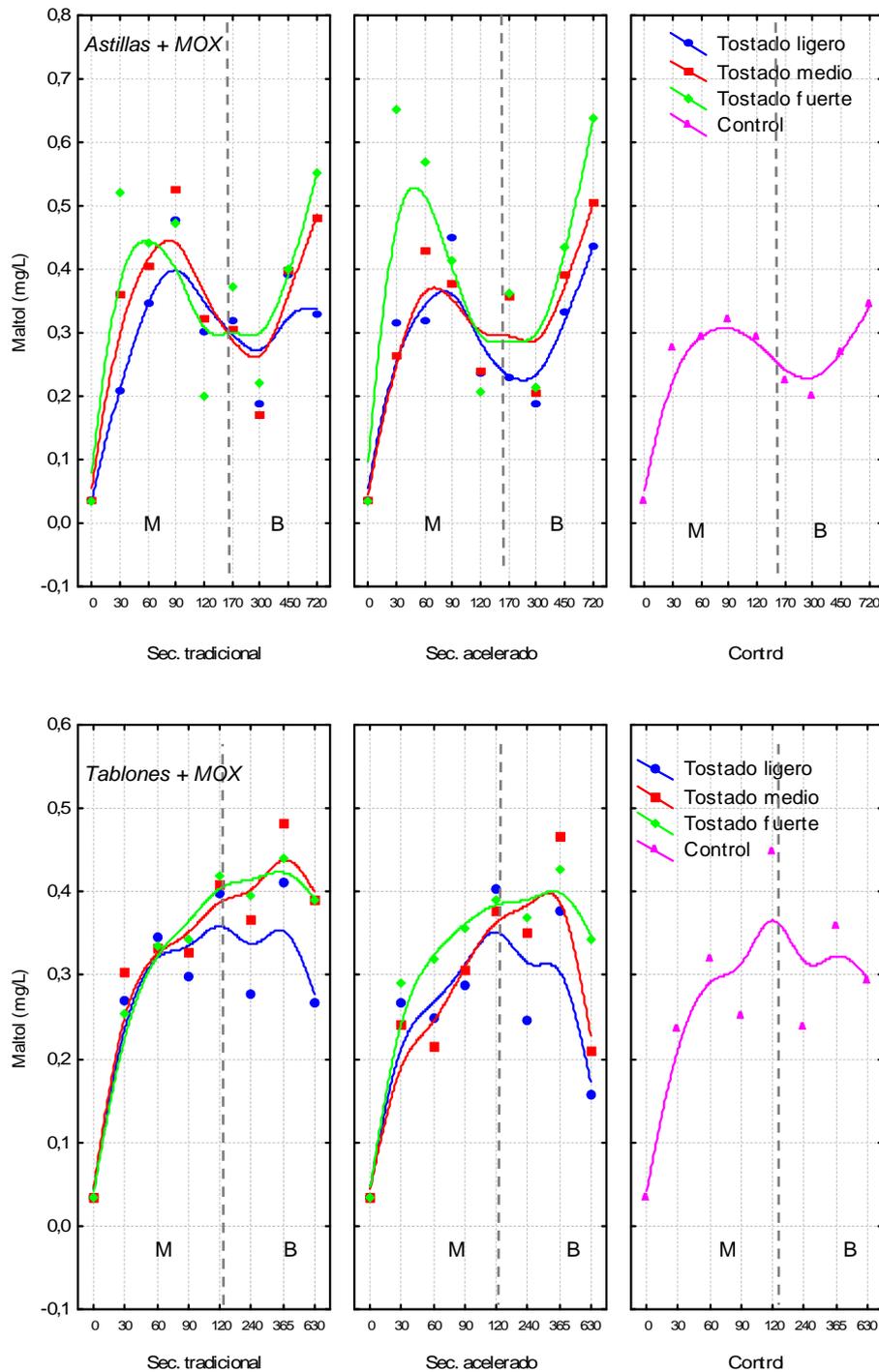


Figura 67- Evolución de maltol (g/L) en el vino durante el envejecimiento en madera (M) y periodo de botella (B) al emplear astillas (67a) y tablones (67b) de *Quercus pyrenaica* Willd.

En las figuras 67 a y 67 b se puede observar un aumento de la concentración de maltol en todos los vinos a lo largo del envejecimiento con la madera. No se han alcanzado concentraciones superiores a su umbral de detección (5 mg/L) (Fernández de Simón y col., 2008), aunque los umbrales pueden depender según el tipo de vino analizado (tabla 1), por lo

que puede afectar ligeramente al carácter sensorial del vino, ejerciendo un efecto aditivo en el potencial aromático global.

El grado de tostado de la madera ha influido estadísticamente en la concentración de maltol en el vino embotellado, aumentando significativamente al incrementar la temperatura del tostado (tabla 18), siendo los vinos tratados con madera de tostado fuerte y micro-oxigenación los que mayor contenido de maltol han presentado, seguidos de los vinos con madera de tostado medio y ligero (figuras 67 a y 67 b).

El grupo de los fenoles volátiles está compuesto entre otros por el guayacol (aroma a tostado, ahumados), eugenol (aroma a especias y clavo), 4-etilfenol (animal, sudor de caballo) e isoeugenol, estando presentes en los vinos envejecidos con madera. Se ha observado una tendencia general con un aumento significativo de los fenoles volátiles en el vino durante el contacto vino-madera. Desde el punto de vista sensorial, el eugenol y guayacol son los fenoles con mayor incidencia, aportando aromas (tostado, especiados) muy apreciados por los catadores.

Estos compuestos tienen un umbral de percepción muy alto (500  $\mu\text{g/L}$  el eugenol y 75  $\mu\text{g/L}$  el guayacol) (Fernández de Simón *y col.*, 2008), sin embargo como el vino es un medio muy complejo se producen efectos aditivos y sinérgicos, de forma que ejercen una influencia sensorial en los vinos, aunque sus concentraciones se encuentren por debajo de su umbral de percepción.

La concentración de eugenol ha aumentado progresivamente a lo largo de todo el envejecimiento. Se han observado diferencias significativas entre los vinos envejecidos con astillas y micro-oxigenación o tablones y micro-oxigenación durante su estancia en botella, siendo el contenido superior cuando se emplearon tablones (tabla 18, figuras 68 a y 68 b).

El grado de tostado de la madera no ha afectado significativamente a la concentración de estos compuestos durante todo el estudio (periodo vino-madera y periodo de botella) (tablas 17 y 18). Durante los meses en que el vino se ha envejecido con la madera, la concentración de eugenol ha sido menor al aumentar el grado de tostado de la madera, resultando los vinos tratados con madera de tostado ligero los que mayor contenido de eugenol han presentado (efecto gráfico más evidente al emplear tablones) (tabla 17, figuras 68 a y 68 b). Durante el periodo de botella, han sido los vinos tratados con madera de tostado medio los que mayor contenido de eugenol han tenido (tabla 18, figuras 68 a y 68 b), siendo gráficamente más evidente este comportamiento en los vinos con madera de secado tradicional.

El tipo de secado de la madera ha influido estadísticamente en el contenido de eugenol en los vinos durante el periodo de contacto del vino con la madera, se ha observado una concentración ligeramente superior de eugenol al emplear madera de secado acelerado en el envejecimiento de los vinos (tabla 17).

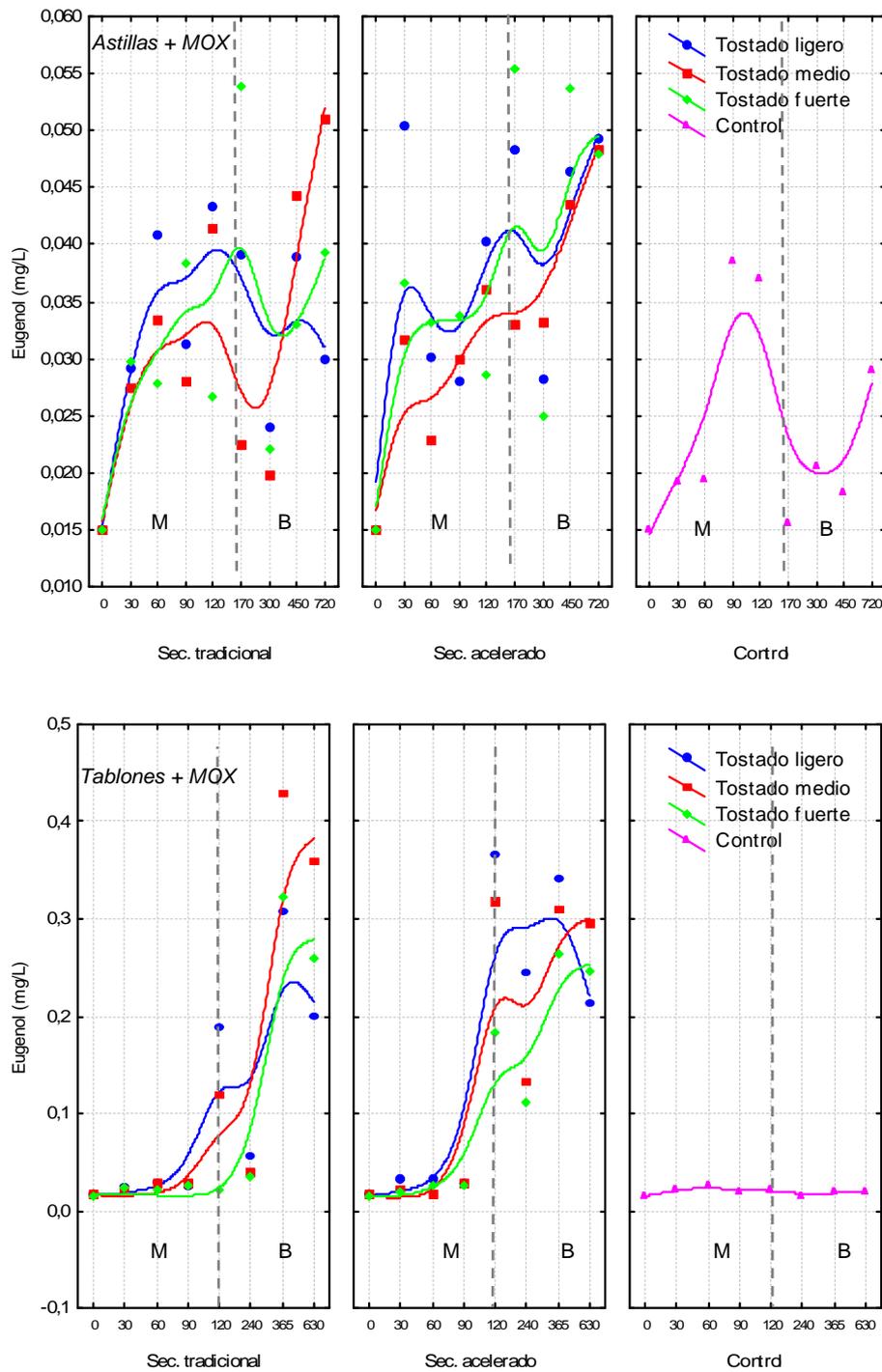


Figura 68- Evolución de eugenol (mg/L) en el vino tratado con astillas (68a) y tablones (68b) de *Quercus pyrenaica* Willd. durante el envejecimiento en madera (M) y periodo de botella (B)

Respecto a la concentración de guayacol, se ha observado un aumento en su concentración con el envejecimiento de los vinos, alcanzando las mayores concentraciones a los 90-100 días, a partir de este momento el contenido de guayacol en los vinos disminuyó, y esto ha podido ser debido a las reacciones químicas que tienen lugar, similares a las que afectan a los derivados furánicos, W-lactonas o aldehídos fenólicos, las cuales permiten su formación y degradación (Fernández de Simón y col., 2006) (figuras 69 a y 69 b).

Se han observado diferencias significativas durante el periodo de contacto vino-madera al tener en cuenta el tamaño de la madera (tabla 17, figuras 69 a y 69 b), siendo la concentración media de guayacol superior al emplear astillas y MOX, sin embargo durante el envejecimiento en botella la concentración ha sido superior en los vinos tratados con tablonces y MOX.

Según el secado de la madera, no se han encontrado diferencias en la concentración de guayacol en los vinos estudiados, mostrando contenidos muy similares a lo largo de todo el envejecimiento (tablas 17 y 18).

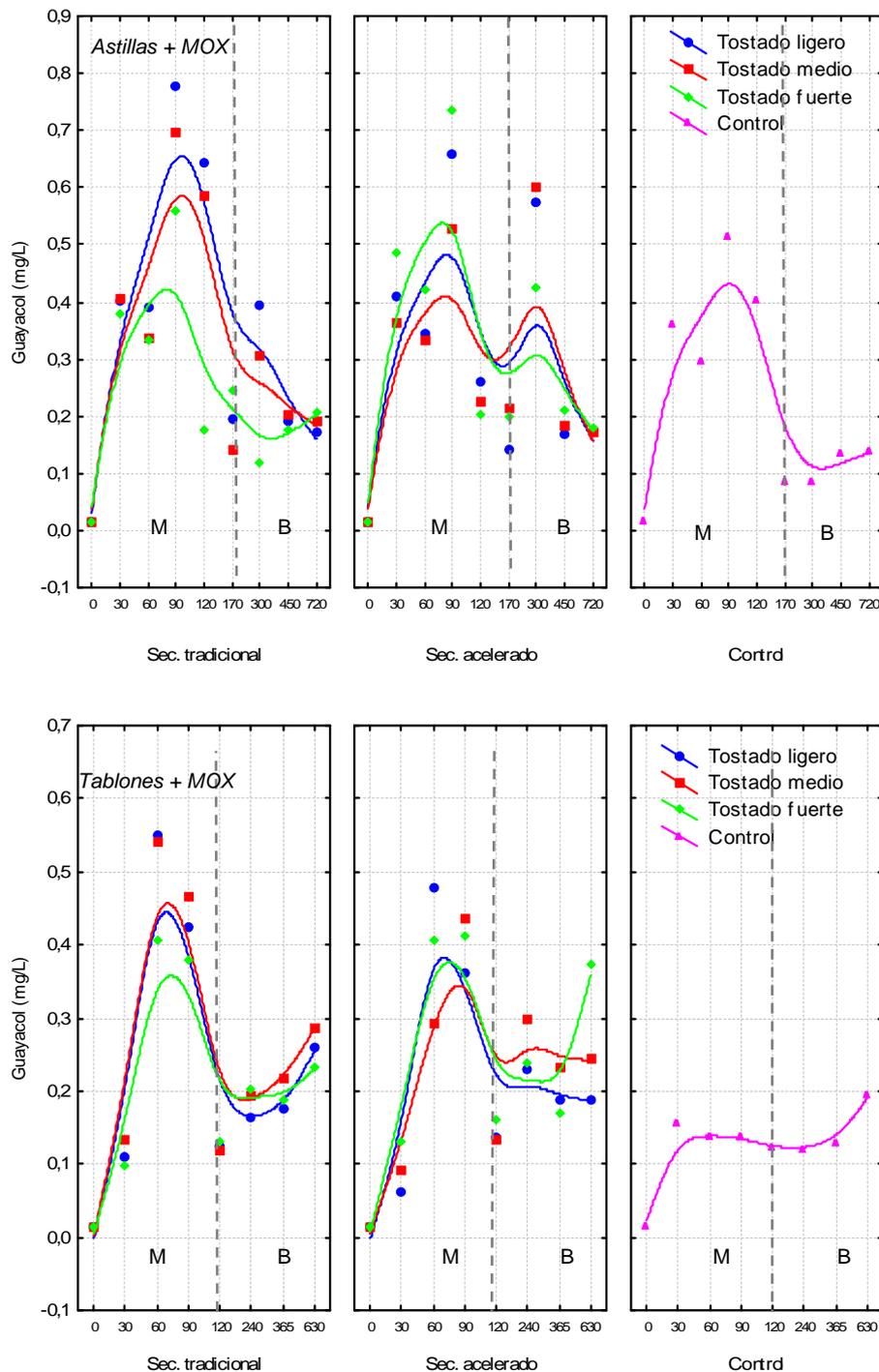


Figura 69- Evolución de guayacol (mg/L) en el vino con astillas (69a) y tablonces (69b) de *Quercus pyrenaica* Willd. durante el envejecimiento en madera (M) y permanencia en botella (B)

El tostado de la madera no ha influido significativamente en la concentración de guayacol de los vinos (tablas 17 y 18). Durante el periodo de contacto vino-madera y periodo de botella, el contenido de guayacol ha disminuido levemente al aumentar el grado de tostado de la madera, alcanzándose concentraciones ligeramente mayores al envejecer los vinos con madera de tostado ligero (durante el periodo vino-madera efecto más evidente al emplear tablonces de secado acelerado, y durante el periodo de botella al emplear tablonces de secado tradicional) (figuras 69 a y 69 b).

La concentración de isoeugenol ha aumentado durante el envejecimiento (figuras 70 a y 70 b).

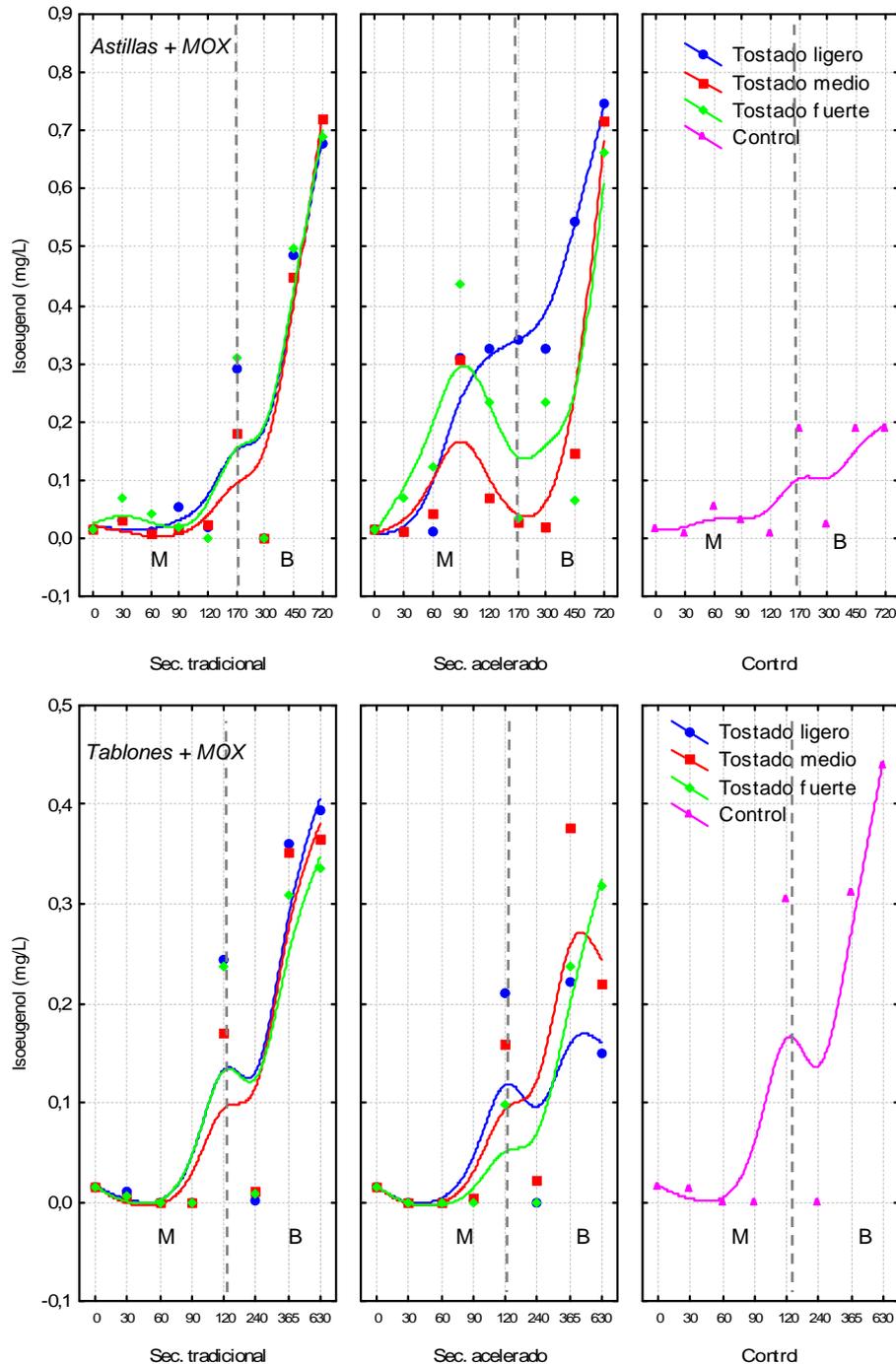


Figura 70- Evolución de isoeugenol (mg/L) durante el envejecimiento en madera (M) y periodo de botella (B) de los vinos tratados con astillas (70a) y tablonces (70b) de *Quercus pyrenaica* Willd.

El formato y el secado de la madera han influido en la concentración de isoeugenol durante el periodo de contacto del vino con la madera y durante su permanencia en botella (tablas 17 y 18), alcanzando mayores valores medios al emplear astillas y micro-oxigenación en el envejecimiento de los vinos durante todo el estudio (figuras 70 a y 70 b).

Durante el periodo de botella los vinos tratados con madera secada de manera tradicional han presentado mayor contenido de isoeugenol que al utilizar madera con secado acelerado (tabla 16, figuras 70 a y 70 b), siendo más evidente este resultado en los vinos tratados con tablonés.

El tostado de la madera no ha afectado significativamente a la concentración de isoeugenol en los vinos. Durante el envejecimiento con la madera, la menor extracción de isoeugenol se ha producido en los vinos tratados con madera de tostado medio (tabla 17, figuras 70 a y 70 b). En los vinos embotellados las concentraciones de isoeugenol han sido similares, siendo ligeramente superiores al emplear madera de tostado ligero (tabla 18), resultado más evidente en los vinos de astillas de secado acelerado y en los vinos de tablonés de secado tradicional (figuras 70 a y 70 b).

Se han identificado en los vinos estudiados los aldehídos fenólicos vainillina y siringaldehído, y la fenil cetona acetovainillona.

Las concentraciones de vainillina y acetovainillona han aumentado en el vino a lo largo del envejecimiento, debido a su extracción de la madera (figuras 71 a-b y 72 a-b). La presencia de estos compuestos en el vino ha dependido del grado de tostado aplicado a la madera, ya que proceden de la degradación de la lignina. La vainillina se asocia a los aromas de café, chocolate negro y ahumados, presentando un umbral de detección muy bajo (320 µg/L) (Boidron y *col.*, 1988; Fernández de Simón y *col.*, 2008), por lo que repercutirá sobre el aroma final de los vinos. Sin embargo el siringaldehído tiene un umbral muy elevado (50 mg/L) (Fernández de Simón y *col.*, 2008; Singleton y *col.*, 1995), es muy poco odorante y su contribución al aroma será pequeña. Estos aldehídos pueden participar en gran variedad de reacciones que van a influir en su evolución durante el envejecimiento (diversas reacciones con flavanoles y antocianidinas, contribuyendo en la evolución del color y la astringencia de los vinos) (Sousa y *col.*, 2007).

Las concentraciones de vainillina y de siringaldehído han aumentado en el vino a lo largo del envejecimiento aunque posteriormente han sufrido un ligero descenso, el cual ha podido ser debido a que la vainillina se ha transformado en ácido vainillínico y en su etil éster o por reducción pasa a alcohol vainillínico (figuras 71 a-b y 72 a-b).

Analizando el efecto del tamaño de la madera (astillas o tablonés), así como el tipo de secado y el grado de tostado aplicado a la madera en la concentración de vainillina de los vinos, se ha encontrado que solamente el grado de tostado ha influido significativamente, encontrándose mayores concentraciones en los vinos al aumentar el grado de tostado de la madera tanto en el periodo de contacto del vino con la madera como durante la permanencia en botella (tablas 17 y 18, figuras 71 a y 71 b), destacando las concentraciones de vainillina en los vinos tratados con madera de tostado fuerte durante todo el envejecimiento frente a los vinos con madera de tostado medio y ligero. Este resultado ha coincidido con lo descrito por diferentes autores, Chatonnet y su grupo de investigación indicaron que el contenido de vainillina de la madera

aumentaba con el grado de tostado de las barricas alcanzando valores máximos con tostado medio, sin embargo con un tostado fuerte y muy fuerte la vainillina disminuía (Chatonnet y col., 1999b). En el caso de la fabricación de productos alternativos a las barricas, los resultados han sido semejantes a los descritos con el tostado de barricas, encontrándose un descenso de vainillina en la madera de tostado fuerte más marcado en el caso de madera de roble francés que americano y en el caso de astillas que de tabloncillos (Chatonnet, 2007).

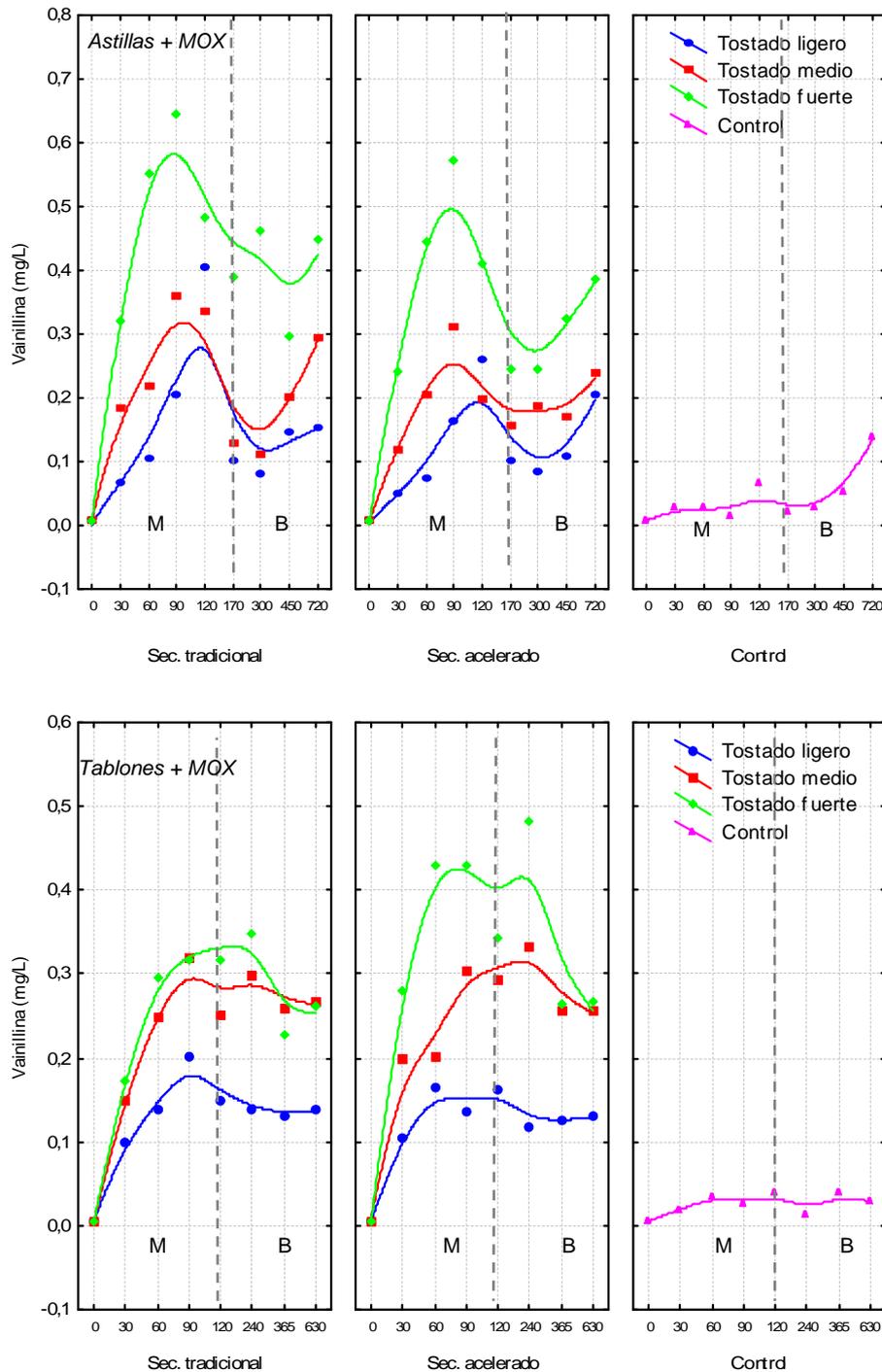


Figura 71- Evolución de vainillina (mg/L) en el vino con astillas (71a) y tabloncillos (71b) de *Quercus pyrenaica* Willd. durante el envejecimiento en madera (M) y periodo de botella (B)

El tamaño y el secado de la madera utilizada para el envejecimiento no han influido estadísticamente en la concentración de vainillina de los vinos durante el envejecimiento (periodo contacto vino-madera y permanencia en botella). Los vinos tratados con astillas y micro-oxigenación han presentado concentraciones de vainillina ligeramente superiores que al emplear tablonos y micro-oxigenación (tablas 17 y 18, figuras 71 a y 71 b). Respecto al secado de la madera, las concentraciones de vainillina han sido ligeramente superiores al emplear madera secada de manera tradicional (resultado más evidente en los vinos tratados con astillas y MOX) (figuras 71 a y 71 b).

Durante el periodo de permanencia en botella, las concentraciones de vainillina en los vinos han sufrido un descenso, el cual ha sido más marcado en los vinos envejecidos con tablonos y micro-oxigenación (figuras 71 a y 71 b). En función del tostado de la madera, las menores concentraciones de vainillina las han presentado los vinos envejecidos con madera de tostado ligero, siendo significativas las diferencias (tabla 18, figuras 71 a y 71 b).

La evolución que ha experimentado el contenido de siringaldehído en los vinos ha sido muy similar a la de la vainillina.

Durante el periodo de envejecimiento con la madera, la concentración de siringaldehído ha aumentado y ha disminuido progresivamente en los vinos (figuras 72 a y 72 b). Este descenso podría ser debido a la reducción microbiológica y a la transformación en sus correspondientes alcoholes, ya que en 2004 el grupo de investigación de Garde encontró que este descenso se correspondía con el aumento del alcohol vainillínico y siríngico (Garde y *col.*, 2004).

El tamaño de la pieza de madera para envejecer los vinos, así como el grado de tostado de la madera han influido estadísticamente en la concentración de este aldehído en el vino, de forma que la concentración de siringaldehído en los vinos ha sido mayor al aumentar la intensidad de tostado de la madera durante el periodo de contacto del vino con la madera y en el vino embotellado (tablas 17 y 18, figuras 72 a y 72 b), alcanzándose las mayores concentraciones de siringaldehído en los vinos envejecidos con madera de tostado fuerte y micro-oxigenación. Respecto al empleo de astillas o tablonos, durante el periodo en que la madera ha permanecido con el vino, los vinos tratados con astillas y MOX han presentado concentraciones ligeramente superiores que al emplear tablonos y micro-oxigenación, no siendo significativas las diferencias (tabla 17, figuras 72 a y 72 b). Sin embargo en el periodo de permanencia en botella ha ocurrido lo contrario, siendo el contenido superior al tratar el vino con tablonos y micro-oxigenación (tabla 18, figuras 72 a y 72 b), influyendo significativamente (nivel de significación 100%).

El secado de la madera no ha afectado significativamente en el contenido de siringaldehído en los vinos estudiados, mostrando valores medios similares en todos los vinos estudiados. Durante el envejecimiento en madera, los vinos tratados con madera secada de forma acelerada han presentado concentraciones ligeramente superiores que al emplear madera de secado tradicional (tabla 17, figuras 72 a y 72 b). Durante el periodo de botella ha ocurrido lo contrario, siendo los vinos con madera de secado tradicional los que han presentado el mayor contenido de siringaldehído (tabla 18, figuras 72 a y 72 b).

Este compuesto ha tenido muy poca influencia en las características sensoriales de los vinos al presentar concentraciones inferiores a su umbral de percepción.

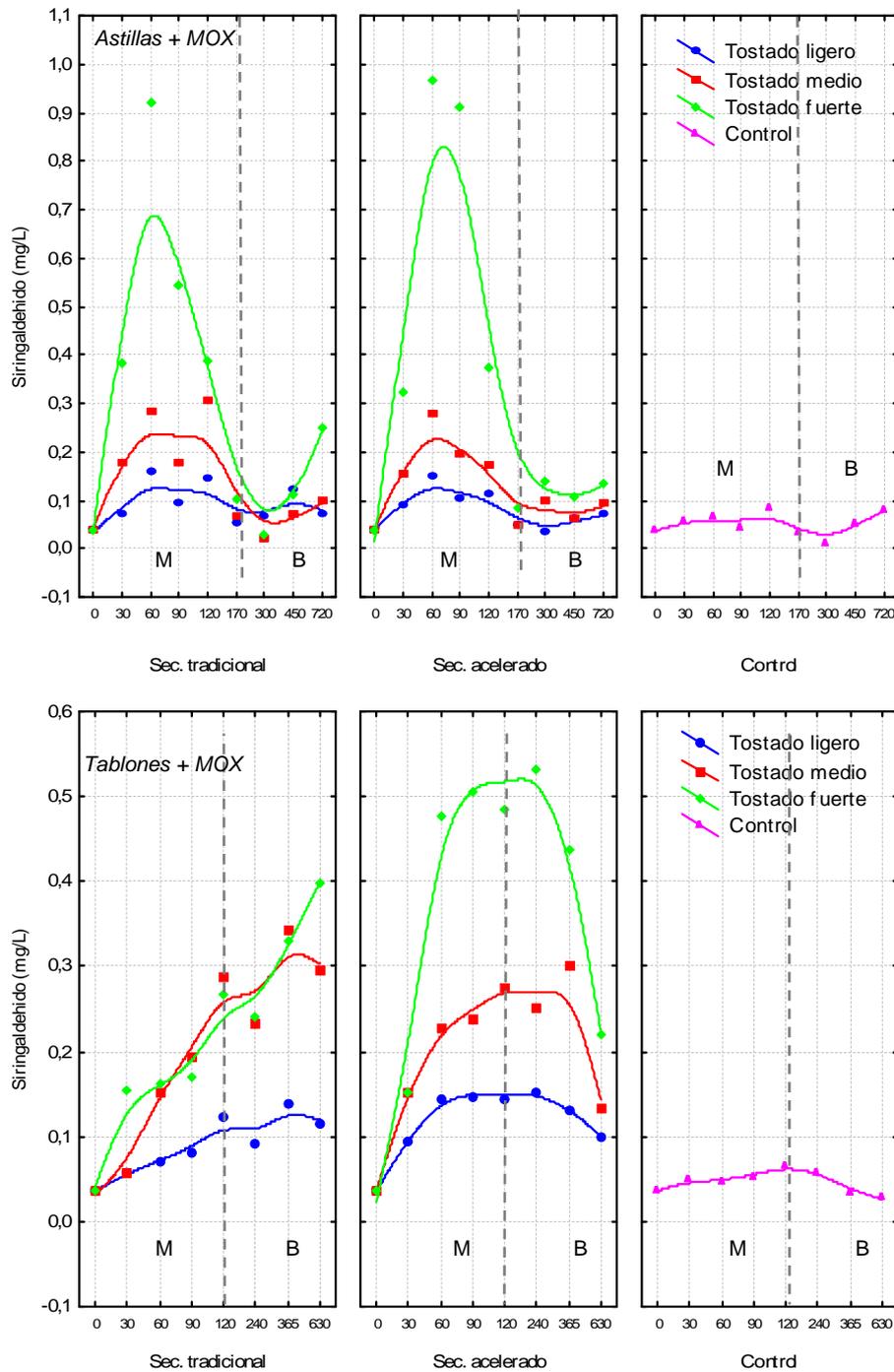


Figura 72- Evolución del siringaldehído (mg/L) durante el envejecimiento en madera (M) y periodo de botella (B) de un vino con astillas (72a) y tablones (72b) de *Quercus pyrenaica* Willd., con secado tradicional y acelerado y 3 tipos de tostado

La acetovainillona contribuye a la percepción del aroma a vainilla y su concentración aumenta a lo largo del envejecimiento. Se han encontrado concentraciones significativamente más elevadas en los vinos envejecidos con tablones y micro-oxigenación que con astillas y MOX (tablas 17 y 18, figuras 73 a y 73 b), tanto durante el periodo de contacto vino-madera como durante su envejecimiento en botella.

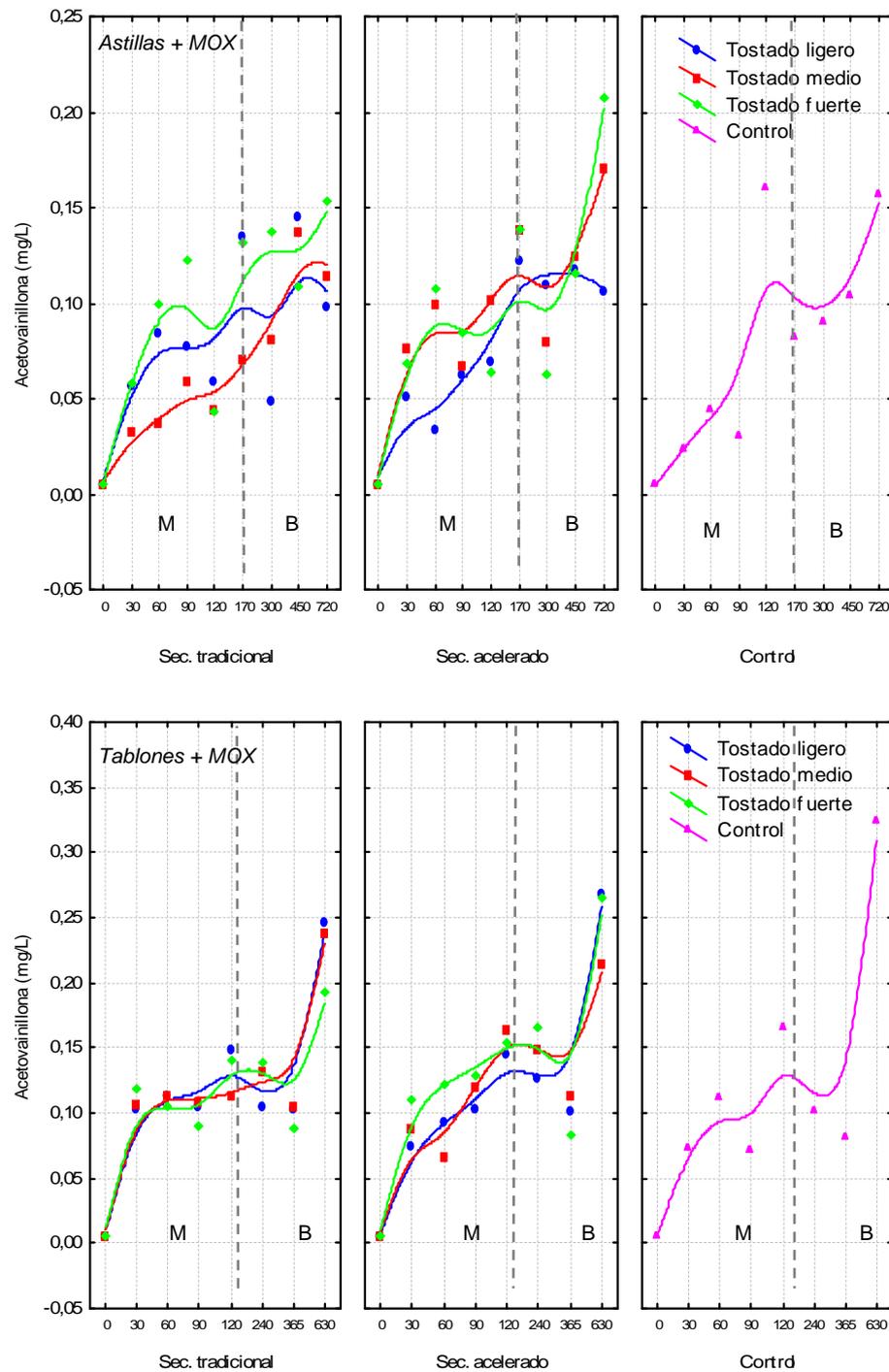


Figura 73- Evolución de acetovanillona (mg/L) durante el envejecimiento en madera (M) y botella (B) de los vinos con astillas (73a) y tablones (73b) de *Quercus pyrenaica* Willd.

No se han obtenido diferencias estadísticamente significativas en la concentración de acetovanillona en los vinos según los distintos tipos de secado y el grado de tostado de la madera. El contenido de acetovanillona en los vinos con madera de secado acelerado y tradicional ha sido muy similar durante todo el estudio (periodo de contacto vino-madera y permanencia en botella) (tablas 17 y 18, figuras 73 a y 73 b).

La concentración de acetovainillona en los vinos en función del grado de tostado de la madera no se ha visto afectada significativamente, mostrando concentraciones medias similares a lo largo de todo el envejecimiento. Durante el periodo en que el vino ha estado en contacto con la madera, las concentraciones han sido ligeramente superiores al utilizar madera con tostado fuerte (tabla 17), siendo más visible este resultado en los vinos tratados con astillas de secado tradicional y en los vinos con tablonos secados de forma acelerada (figuras 73 a y 73 b).

Durante el periodo de botella la concentración de acetovainillona en los vinos estudiados ha mostrado valores medios similares (tabla 18), al igual que durante el envejecimiento en madera. Destacar el incremento tan fuerte que ha sufrido la concentración de acetovainillona en los vinos de tablonos en el último muestreo de botella, el cual ha debido ser posiblemente por un error en el reprocesado de las muestras, ya que este incremento no es lógico.

#### **4.1.5. Compuestos fenólicos no volátiles de bajo peso molecular**

Durante el envejecimiento de los vinos, la presencia de madera de roble influye en las modificaciones de su composición fenólica debido a los procesos oxidativos que tienen lugar.

El tamaño de los productos alternativos a las barricas empleado ha afectado de forma significativa a las diferencias de concentración encontradas en casi todos los compuestos analizados (tablas 19 y 20), durante el contacto vino-madera y el periodo de botella analizado.

El ácido gálico (derivado del ácido benzóico) ha aumentado su concentración a lo largo de todo el envejecimiento y en todos los vinos estudiados (figuras 74 a y 74 b). Este incremento se relaciona con las reacciones de degradación de la lignina y de los elagitaninos de la madera de roble (Cadahía y col., 2008). La concentración media de ácido gálico ha variado en función del tamaño del producto alternativo, el grado de tostado y el tipo de secado de la madera.

Según el tipo de producto alternativo a las barricas empleado, se han observado diferencias significativas en el contenido de ácido gálico, de forma que los vinos con concentraciones medias más altas de ácido gálico han sido los envejecidos con tablonos y micro-oxigenación (tablas 19 y 20). Durante el periodo de contacto del vino con la madera, los vinos tratados con madera de secado tradicional han presentado concentraciones medias de ácido gálico superiores que al emplear madera con secado acelerado (tabla 19, figuras 74 a y 74 b), no siendo significativas las diferencias al igual que ha ocurrido con el grado de tostado de la madera, mostrando todos los vinos estudiados concentraciones muy similares.

Durante el periodo de botella, el tamaño de la madera empleada ha afectado estadísticamente a la concentración de ácido gálico en los vinos, al igual que ha ocurrido durante el envejecimiento con la madera, siendo los vinos embotellados que han sido tratados con tablonos y micro-oxigenación los que mayor contenido en ácido gálico han presentado. Durante este periodo, el grado de tostado y el secado de la madera no han influido estadísticamente en la concentración de ácido gálico, siendo los vinos tratados con madera de secado tradicional los que mayor contenido de ácido gálico han presentado (tabla 20, figuras 74 a y 74 b).

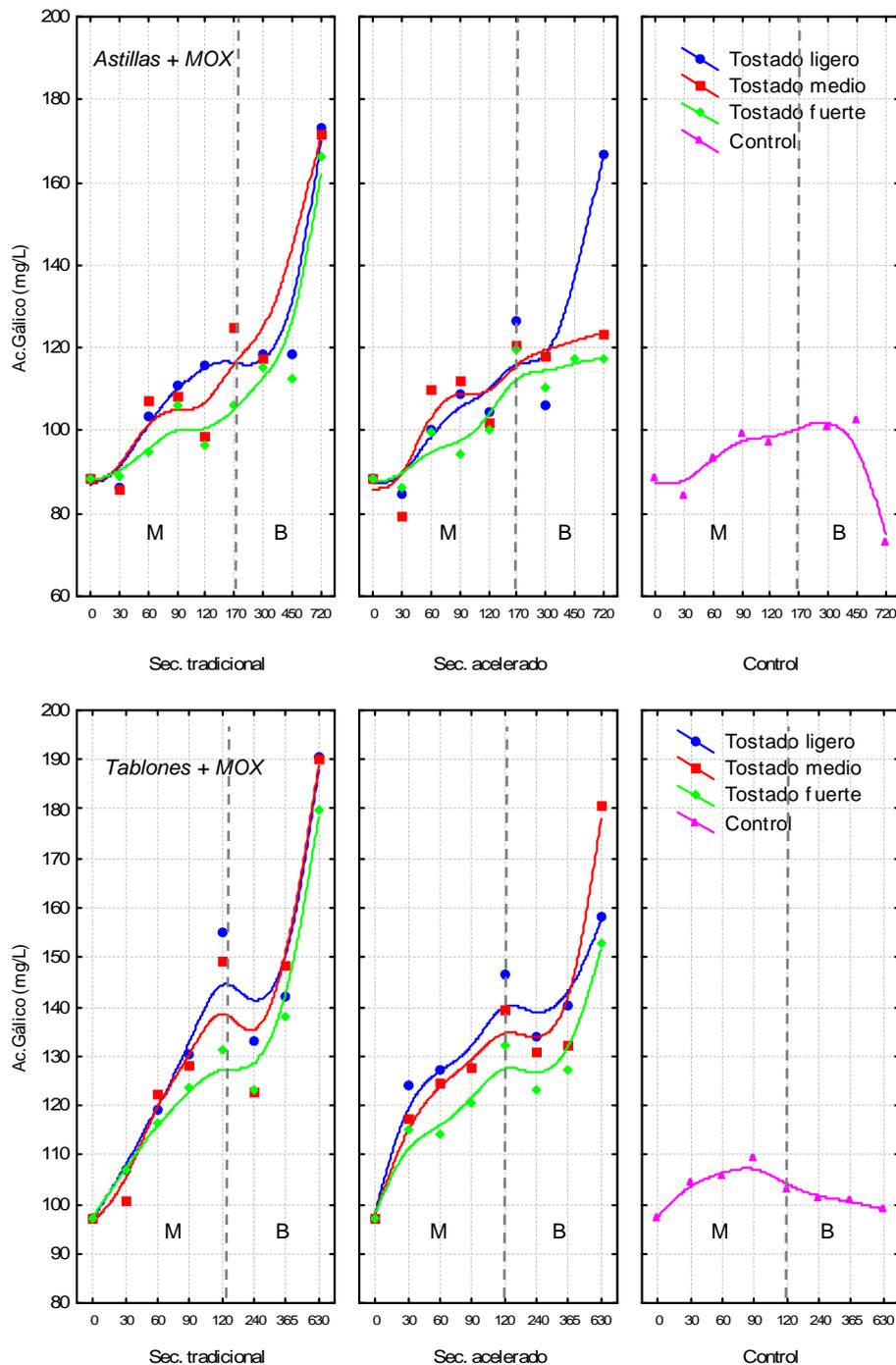


Figura 74- Evolución del ácido gálico (mg/L) durante el envejecimiento en madera (M) y periodo de botella (B) de los vinos con astillas (74a) y tablonos (74b) de *Quercus pyrenaica* Willd. de secado tradicional y acelerado y 3 tipos de tostado

Respecto al grado de tostado de la madera, la concentración de ácido gálico ha disminuido con la intensidad de tostado, mostrando los vinos embotellados tratados con madera de tostado ligero mayor contenido que al emplear madera con tostado medio y fuerte (tabla 19), siendo más evidente este resultado en los vinos embotellados tratados con tablonos y MOX y en los vinos con astillas de secado acelerado (figuras 74 a y 74 b), coincidiendo con lo estudiado por otros autores (Matějčík *et al.*, 2005).

Tabla 19- Contenido promedio de compuestos no volátiles de bajo peso molecular (mg/L) presentes en el vino en función del formato, tostado y secado durante el envejecimiento en madera y resultados de la ANOVA

	Tamaño			Tostado				Secado		
	Astillas	Tablones	<i>p</i> level	Ligero	Medio	Fuerte	<i>p</i> level	Tradic.	Aceler.	<i>p</i> level
Ác. gálico	93,69 a	121,00 b	<b>0,000</b>	107,10 a	110,44 a	108,64 a	0,594	117,58 a	110,11 a	0,230
Ác. siríngico	9,98 b	5,08 a	<b>0,000</b>	7,16 a	7,19 a	7,41 a	0,108	7,78 b	6,70 a	<b>0,003</b>
Ác. <i>p</i> -cumárico	5,85 a	7,41 b	<b>0,000</b>	6,69 a	6,62 a	6,78 a	0,163	6,36 a	7,11 b	<b>0,001</b>
Ác. protocatéquico	5,70 b	5,03 a	<b>0,001</b>	5,38 a	5,16 a	5,41 a	0,636	5,35 a	5,30 a	0,839
Ác. vainillínico	6,43 b	5,29 a	<b>0,046</b>	5,60 a	5,55 a	6,10 b	0,324	5,49 a	6,16 b	<b>0,029</b>
Ác. Trans-caftárico	33,61 a	31,85 a	<b>0,000</b>	32,13 a	33,32 a	32,50 a	0,294	32,73 a	32,53 a	0,804
Ác. Trans-cutárico	10,70 a	11,98 b	<b>0,000</b>	11,10 a	11,36 ab	11,63 b	0,105	11,18 a	11,67 b	<b>0,018</b>
Ác. gentísico	16,36 b	11,97 a	<b>0,000</b>	13,84 a	14,69 a	13,49 a	<b>0,029</b>	14,45 a	13,35 a	0,168
Ác. clorogénico	5,91 b	0,53 a	<b>0,000</b>	3,45 a	3,30 a	2,38 a	0,191	2,81 a	3,10 a	0,420
Ác. caféico	3,67 a	5,67 b	<b>0,000</b>	4,61 a	4,59 a	5,02 a	0,315	4,83 a	4,72 a	0,438
Ác. ferúlico	0,50 a	0,49 a	0,827	0,53 a	0,48 a	0,47 a	0,862	0,43 a	0,56 a	0,283
Ác. sinápico	0,46 a	0,28 a	<b>0,006</b>	0,42 a	0,34 a	0,33 a	0,408	0,33 a	0,39 a	0,264
Ald.protocatéquico	7,72 a	3,34 a	<b>0,000</b>	5,99 a	4,93 a	5,12 a	0,401	5,01 a	5,64 a	0,182
<i>p</i> -hidroxibenzald.	0,29 a	0,26 a	0,510	0,25 a	0,25 a	0,30 a	0,635	0,26 a	0,29 a	0,973
Catequina	43,34 b	38,71 a	<b>0,000</b>	41,83 a	41,01 a	40,88 a	0,715	40,99 a	41,48 a	0,530
Epicatequina	4,38 a	10,49 b	<b>0,000</b>	7,49 a	8,30 a	7,54 a	0,818	6,69 a	8,96 b	<b>0,025</b>

(Para cada factor, letras distintas en filas indican diferencias estadísticamente significativas). En negrita se muestra el *p* level con significación > 95% (*p* <0,05)

Tabla 20- Contenido promedio de compuestos no volátiles de bajo peso molecular (mg/L) presentes en el vino en función del formato, tostado y secado durante el envejecimiento en botella y resultados de la ANOVA

	Tamaño			Tostado				Secado		
	Astillas	Tablones	<i>p</i> level	Ligero	Medio	Fuerte	<i>p</i> level	Tradic.	Aceler.	<i>p</i> level
Ác. gálico	132,72 a	156,18 b	<b>0,003</b>	153,74 a	147,58 a	130,97 b	0,062	148,58 a	138,67 a	0,198
Ác. siríngico	6,29 a	7,39 b	<b>0,010</b>	6,18 a	7,28 a	7,07 a	0,108	7,09 a	6,56 a	0,473
Ác. <i>p</i> -cumárico	6,33 b	3,83 a	<b>0,000</b>	4,17 a	5,30 a	5,81 a	<b>0,009</b>	4,82 a	5,40 a	0,313
Ác. protocatéquico	4,85 a	5,59 b	<b>0,011</b>	5,50 a	4,87 a	5,24 a	0,180	5,65 b	4,77 a	<b>0,012</b>
Ác. vainillínico	6,01 a	6,50 a	0,071	5,93 a	6,06 a	6,71 a	0,139	6,35 a	6,14 a	0,648
Ác. Trans-caftárico	30,85 a	32,86 a	0,103	32,39 a	32,56 a	30,71 a	0,416	31,81 a	31,88 a	0,985
Ác. Trans-cutárico	10,29 a	9,98 a	0,105	10,14 ab	10,57 b	9,77 a	<b>0,030</b>	10,01 a	10,26 a	0,429
Ác. gentísico	11,38 a	12,33 b	<b>0,000</b>	11,24 a	12,15 b	12,15 b	<b>0,000</b>	11,98 b	11,70 a	<b>0,002</b>
Ác. clorogénico	0,31 a	0,44 b	<b>0,001</b>	0,35 a	0,39 a	0,38 a	<b>0,039</b>	0,37 a	0,38 a	0,531
Ác. caféico	8,80 a	9,08 a	0,623	8,83 a	8,36 a	9,52 a	0,539	9,26 a	8,60 a	0,480
Ác. ferúlico	0,52 a	0,31 a	<b>0,000</b>	0,40 a	0,44 a	0,41 a	0,296	0,35 a	0,48 b	0,225
Ác. sinápico	0,33 a	0,26 a	0,277	0,33 a	0,27 a	0,29 a	0,848	0,29 a	0,31 a	0,930
Ald.protocatéquico	0,48 a	0,70 b	<b>0,001</b>	0,53 a	0,60 a	0,65 a	0,158	0,63 a	0,55 a	0,409
<i>p</i> -hidroxibenzald.	0,20 a	0,26 a	0,263	0,25 a	0,27 a	0,18 a	0,442	0,25 a	0,21 a	0,537
Catequina	30,63 a	43,70 b	<b>0,000</b>	39,12 a	38,79 a	33,59 a	0,241	34,71 a	39,62 a	0,103
Epicatequina	23,17 a	27,81 a	<b>0,029</b>	27,43 a	26,86 ab	22,38 b	0,267	22,84 a	28,19 b	<b>0,003</b>

(Para cada factor, letras distintas en filas indican diferencias estadísticamente significativas). En negrita se muestra el *p* level con significación > 95% (*p* < 0,05)

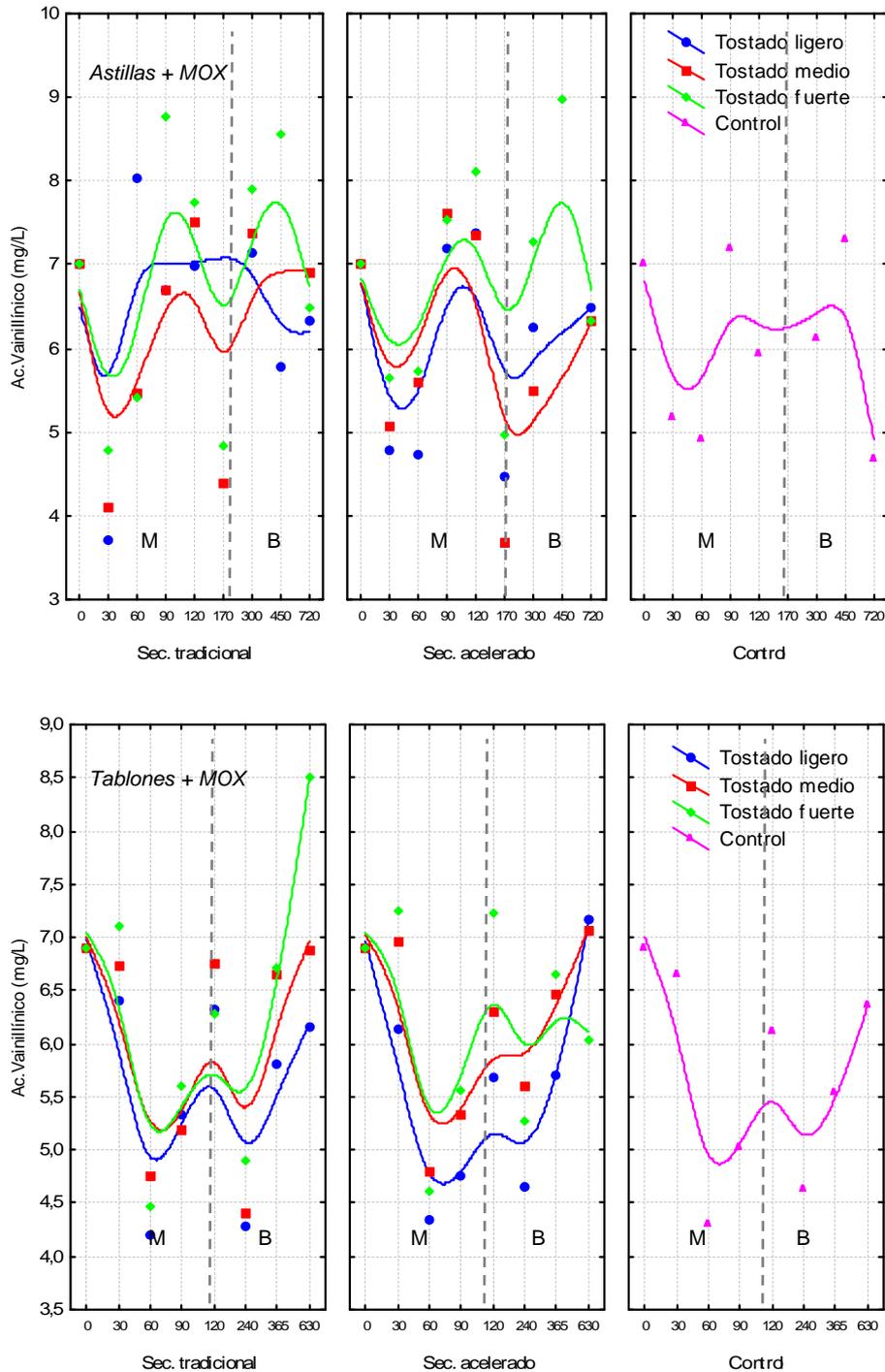


Figura 75- Evolución del ácido vainilínico en los vinos con astillas (75a) y tablones (75b) de *Quercus pyrenaica* Willd. durante el envejecimiento en madera (M) y periodo de botella (B)

Se han encontrado cambios significativos en el contenido de los ácidos hidroxibenzóicos (ácidos protocatéquico y vainilínico) durante el periodo de contacto del vino con la madera, según el tipo de producto alternativo a las barricas empleado (tabla 19), alcanzándose mayores concentraciones al utilizar astillas y micro-oxigenación. Durante este periodo, el grado de tostado de la madera no ha afectado a la concentración media de estos ácidos, mostrando concentraciones medias muy similares. El secado de la madera ha influido estadísticamente en la concentración de ácido protocatéquico de los vinos, siendo superior la concentración en los vinos con madera de secado acelerado (tabla 19).

Las concentraciones de ácido vainillínico en los vinos envejecidos con madera de secado tradicional y acelerado han sido muy similares, no influyendo estadísticamente el grado de secado de la madera (tabla 19, figuras 75 a y 75 b). Gráficamente se pueden observar pequeñas variaciones en la evolución del ácido vainillínico durante todo el envejecimiento (figuras 75 a y 75 b).

Durante el periodo de botella, no se han observado diferencias significativas en la concentración de los ácidos vainillínico y protocatéquico según el tamaño de los productos alternativos, el tipo de secado y el grado de tostado de la madera. Durante este periodo las concentraciones de los ácidos vainillínico y protocatéquico han sido superiores en los vinos tratados con tablones y micro-oxigenación (tabla 20, figuras 75 a y 75 b). Las diferentes intensidades de tostado de la madera empleada no han influido estadísticamente en las concentraciones estos ácidos hidroxibenzóicos de los vinos, mostrando valores medios muy similares (tabla 20), coincidiendo con lo descrito por el grupo de investigación de Matějček en 2005 (Matějček y *col.*, 2005).

Respecto al tipo de secado de la madera, los vinos embotellados envejecidos con madera de secado tradicional han presentado mayor contenido de los ácidos vainillínico y protocatéquico que al emplear madera secada de forma acelerada (tabla 20), en el caso del ácido vainillínico ha sido más evidente este resultado en los vinos tratados con tablones y micro-oxigenación (figuras 75 a y 75 b).

La evolución de la concentración de ácido siríngico en los vinos ha sido diferente en función del tamaño de madera empleado para el envejecimiento, de forma que al emplear astillas y MOX la concentración ha disminuido durante el envejecimiento, mientras que ha aumentado al emplear tablones y micro-oxigenación, este aumento en la concentración de ácido siríngico de los vinos durante todo el periodo de estudio ha podido ser debido a las reacciones de degradación de la lignina y de los elagitaninos de la madera de roble que tienen lugar durante el envejecimiento (figuras 76 a y 76 b) (Cadaña y *col.*, 2008).

Se han encontrado diferencias significativas según el tamaño de la madera empleada durante todo el envejecimiento (tablas 19 y 20). Durante el periodo de contacto del vino con la madera, la concentración de ácido siríngico ha sido superior en los vinos envejecidos con astillas y micro-oxigenación, sin embargo durante el periodo de botella ha ocurrido lo contrario (tablas 19 y 20, figuras 76 a y 76 b).

Los vinos envejecidos con madera de secado tradicional han mostrado mayor contenido de este ácido durante el envejecimiento en madera (tabla 19), siendo significativas las diferencias respecto al tipo de secado de la madera. Durante el periodo de botella, el contenido medio de ácido siríngico también ha sido superior al emplear madera con secado tradicional (tabla 20, figuras 76 a y 76 b).

El grado de tostado de la madera no ha influido estadísticamente en la concentración de ácido siríngico en los vinos estudiados, coincidiendo con lo publicado por otros autores (Matějček y *col.*, 2005). Durante el periodo de permanencia del vino con la madera, el contenido medio de este ácido ha disminuido con la intensidad del tostado de la madera, siendo los vinos tratados

con madera de tostado ligero los que menos ácido síringico han contenido y los vinos con madera de tostado fuerte los que mayor concentración han presentado (tabla 19, figuras 76 a y 76 b).

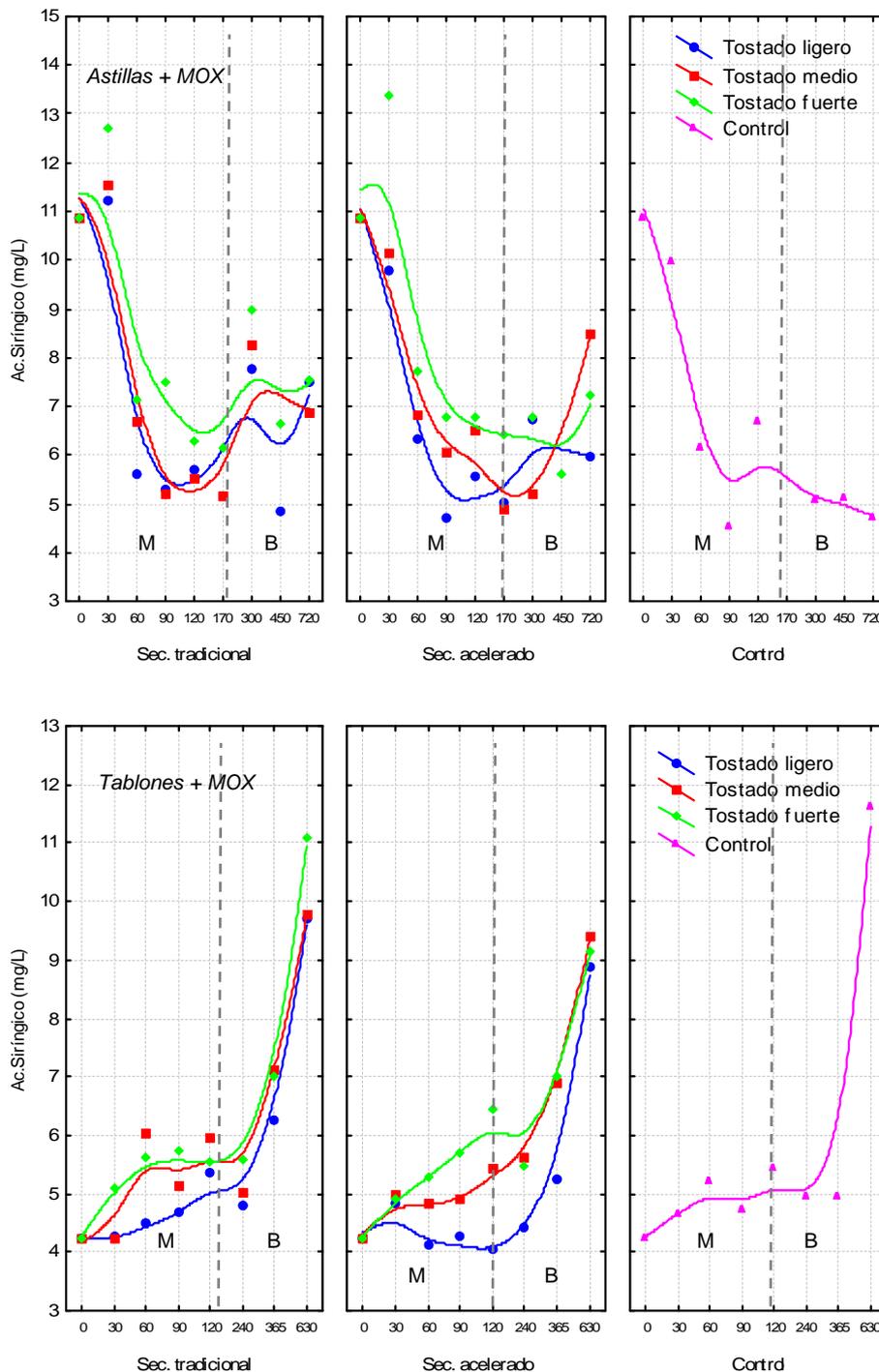


Figura 76- Evolución del ácido síringico de los vinos con astillas (76a) y tablones (76b) de *Quercus pyrenaica* Willd. durante el envejecimiento en madera (M) y periodo de botella (B)

Durante el periodo de botella, no han existido gráficamente claras diferencias en la concentración de ácido síringico en los vinos envejecidos con los tres tipos de tostado de la madera, presentando todos los vinos analizados concentraciones similares, siendo ligeramente superiores al emplear madera de tostado fuerte (tabla 20, figuras 76 a y 76 b). Destacar el

incremento que ha sufrido la concentración de ácido siríngico en todos los vinos analizados durante el último muestreo, el cual no es lógico y probablemente ha sido consecuencia de un error en el reprocesado de las muestras.

El contenido de ácido caféico en el vino se ha visto incrementado o ha experimentado pequeñas variaciones durante todo el estudio o (figuras 77 a y 77 b), debido principalmente a las reacciones de hidrólisis surgidas durante este proceso sobre su éster tartárico (ácido trans-caftárico) dando lugar a su correspondiente forma libre, y a su vez ser regenerado por reacciones de esterificación. Este aumento en el contenido de ácido caféico en los vinos ha coincidido con los resultados descritos por los grupos de investigación de Monagas y Cadahía durante los años 2005 y 2008, tanto durante el periodo de contacto del vino con la madera como en botella (Monagas *y col.*, 2005b; Cadahía *y col.*, 2008).

Se han encontrado diferencias significativas en el contenido de ácido caféico entre los vinos tratados con astillas y micro-oxigenación o tablones y micro-oxigenación durante el periodo de permanencia del vino con la madera (tabla 19), de forma que se han alcanzado concentraciones superiores en los vinos envejecidos con tablones y micro-oxigenación.

En los vinos embotellados, la concentración de ácido caféico también ha sido superior en los vinos tratados con tablones y micro-oxigenación, no siendo significativas estas diferencias según el tamaño de la madera (astillas o tablones) (tabla 20, figuras 77 a y 77 b).

El grado de tostado y el tipo secado de la madera no han afectado significativamente al contenido de este ácido en el vino durante todo el estudio (periodo de contacto vino-madera y periodo de botella), mostrando todos los vinos concentraciones de ácido caféico similares, coincidiendo con los resultados de otros autores (Matějčíček *y col.*, 2005).

Respecto al secado de la madera, la concentración de ácido caféico en el vino durante el periodo de contacto del vino con la madera, así como una vez embotellado ha sido superior al emplear madera de secado tradicional (tablas 19 y 20, figuras 77 a y 77 b). La concentración de ácido caféico en los vinos a lo largo de todo el estudio ha sido similar al tener en cuenta las diferentes intensidades del tostado de la madera, no existiendo diferencias significativas (tablas 19 y 20, figuras 77 a y 77 b).

Respecto a su éster tartárico (figuras 78 a y 78 b), los vinos envejecidos con astillas y MOX durante el periodo de contacto del vino con la madera han sufrido un descenso en la concentración de ácido trans-caftárico debido a las reacciones de hidrólisis. Se han encontrado concentraciones de ácido trans-caftárico estadísticamente más altas en los vinos tratados con astillas y MOX que en los precedentes del tratamiento con tablones y micro-oxigenación durante el periodo de contacto con madera (tabla 19, figuras 78 a y 78 b). Durante este periodo de envejecimiento con la madera, el secado y la intensidad del tostado de la madera no han afectado significativamente a la concentración de ácido trans-caftárico en los vinos, presentando todos los vinos niveles muy similares de este ácido (tabla 19, figuras 78 a y 78 b).

En los meses de botella estudiados no se han encontrado diferencias significativas en ninguno de los factores estudiados (tabla 20). Según el grado de tostado de la madera, los vinos tratados con madera de tostado ligero y medio han presentado mayor concentración de ácido trans-caftárico que al utilizar madera con tostado fuerte, siendo más evidente este resultado

en los vinos tratados con tablonces y micro-oxigenación y en los vinos tratados con astillas de secado acelerado y micro-oxigenación (tabla 20, figuras 78 a y 78 b).

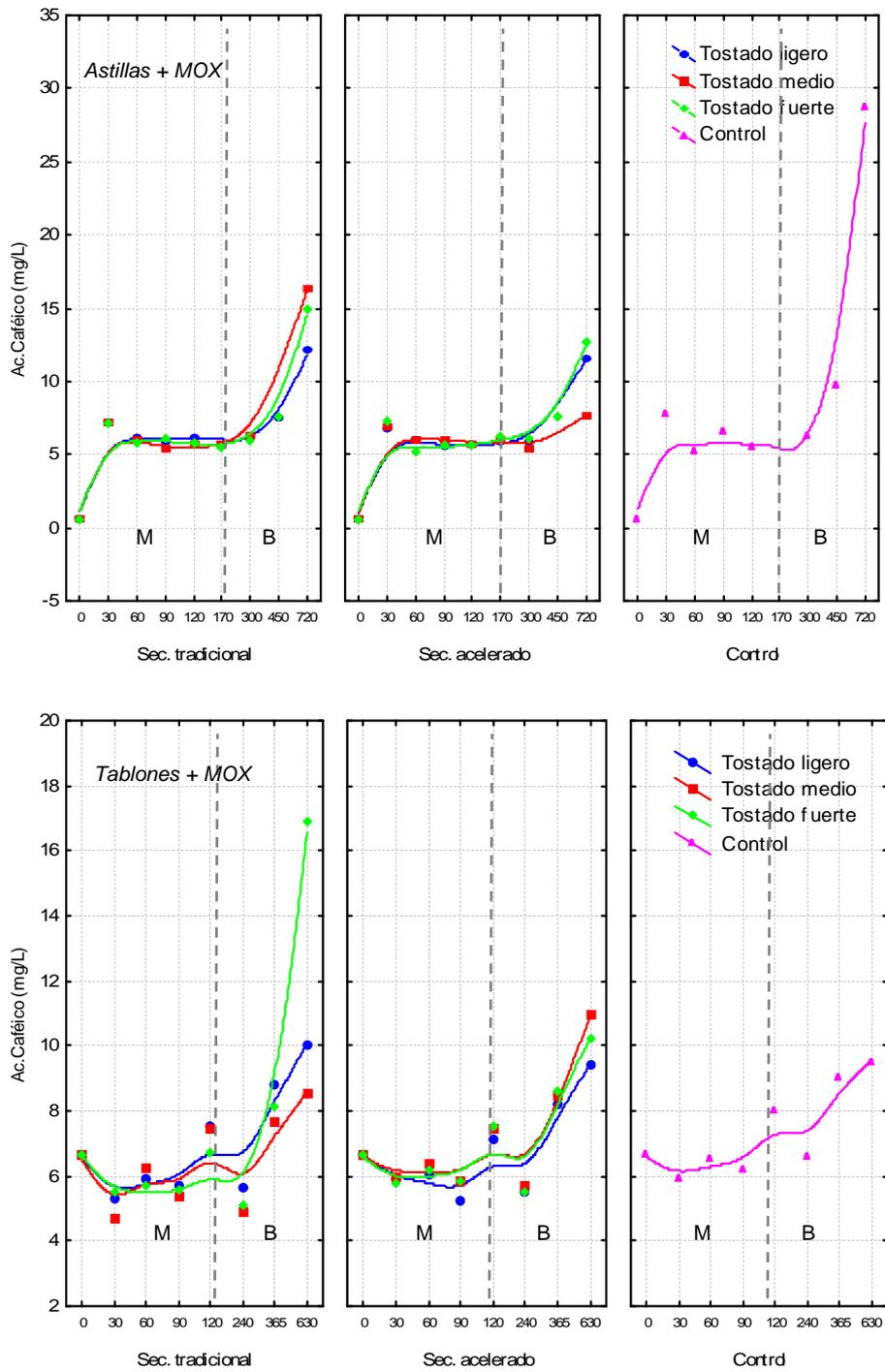


Figura 77- Evolución de ácido caféico en el vino a lo largo del envejecimiento en madera (M) y botella (B) al emplear astillas (77a) y tablonces (77b) de *Quercus pyrenaica* Willd.

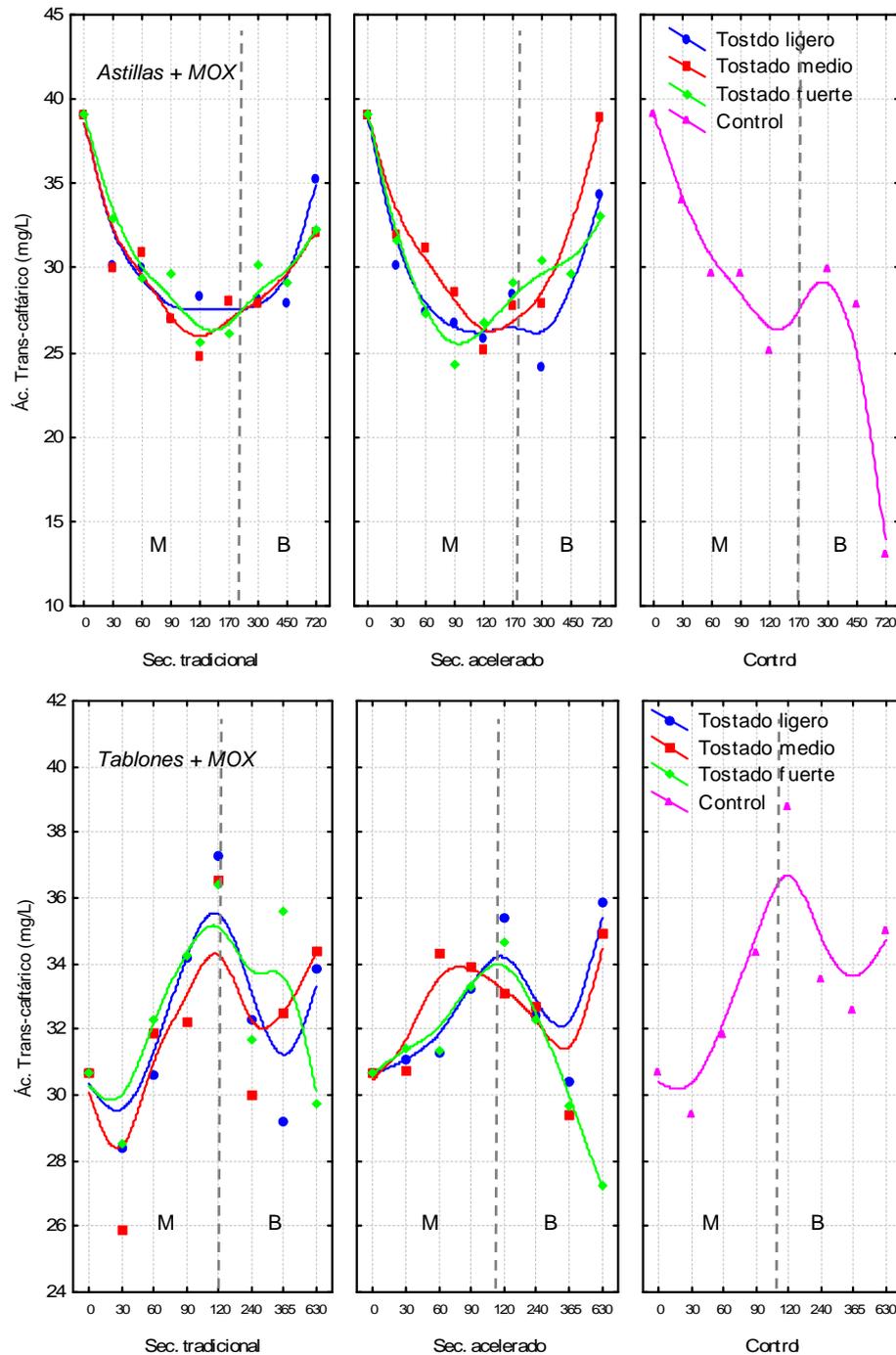


Figura 78- Evolución del ácido trans-caftárico en el vino con astillas (78a) y tablones (78b) de *Quercus pyrenaica* Willd. durante el periodo vino-madera (M) y periodo de botella (B)

Las concentraciones de ácido *p*-cumárico y su éster (ácido trans-cutárico) en los vinos se han visto modificadas ligeramente a lo largo de todo el estudio (figuras 79 a-b y 80 a -b), debido a su implicación en las reacciones de esterificación, de hidrólisis sobre su éster tartárico (ácido trans-cutárico) dando lugar a su correspondiente forma libre, incluso en reacciones de copigmentación con antocianos, lo que podría explicar el descenso que tiene lugar durante su envejecimiento en botella (Zamora, 2003; Monagas *et al.*, 2005b; Cadahía *et al.*, 2008; Alén *et al.*, 2009).

El contenido de estos dos ácidos en los vinos ha sido significativamente más elevado en los vinos tratados con tablonetes y micro-oxigenación y al emplear madera con secado acelerado (durante el tiempo de contacto con madera) (tabla 19, figuras 79 a-b y 80 a-b).

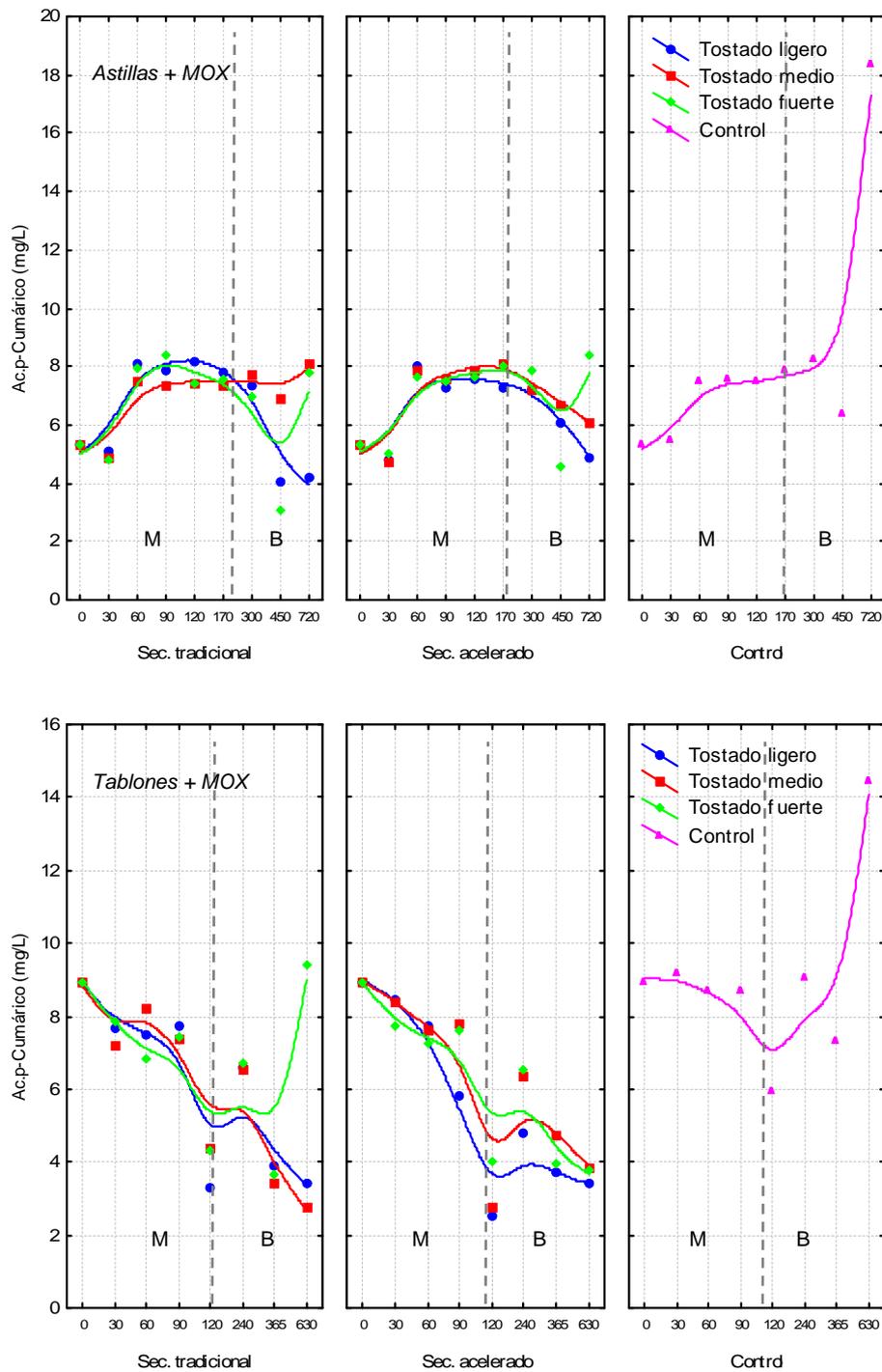


Figura 79- Evolución de ácido p-cumárico en el vino con astillas (79a) y tablonetes (79b) de *Quercus pyrenaica* Willd. durante el envejecimiento en madera (M) y periodo de botella (B)

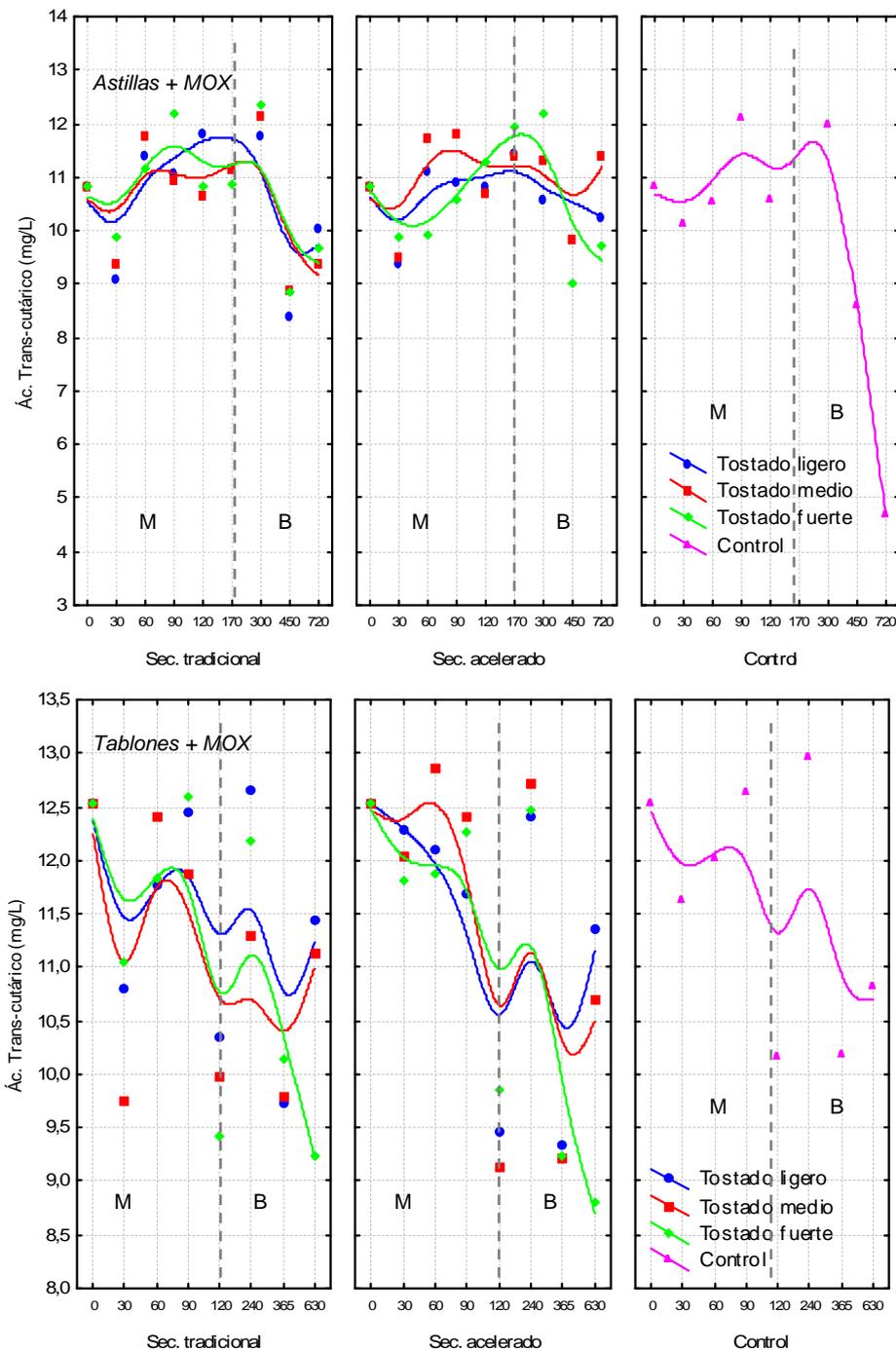


Figura 80- Evolución de ácido trans-cutárico en el vino envejecido con astillas (80a) y tablones (80b) de *Quercus pyrenaica* Willd. durante el envejecimiento en madera (M) y permanencia en botella (B)

Durante la permanencia de los vinos en botella, se han encontrado diferencias estadísticamente significativas en el contenido de ácido *p*-cumárico de los vinos según el grado de tostado de la madera. Cuanto mayor ha sido el nivel de tostado de la madera, mayor concentración de ácido *p*-cumárico se ha observado en los vinos, siendo los vinos embotellados tratados con madera de tostado ligero los que menor contenido han presentado (tabla 20, figuras 79 a y 79 b). Sin embargo, el mayor contenido de ácido trans-cutárico se ha encontrado en los vinos embotellados tratados con madera de tostado medio (tabla 20).

El tipo de secado de la madera no ha afectado significativamente en el contenido de los ácidos *p*-cumárico y *trans*-cutárico de los vinos embotellados, presentando todos los vinos estudiados concentraciones similares, siendo ligeramente superiores en los vinos envejecidos con madera de secado acelerado (tabla 20).

Durante el periodo de botella, se ha observado que el vino control, los vinos tratados con astillas de tostado fuerte, así como los vinos envejecidos con tablones de secado tradicional y de tostado fuerte han presentado un incremento en el contenido de ácido *p*-cumárico, el cual no sólo ha sido originado por la hidrólisis de su respectivo éster tartárico (ácido *trans*-cutárico), sino que también ha podido ser debido a la hidrólisis de los antocianos cumarilglucósidos (Monagas y col., 2005b).

Dentro de los compuestos fenólicos flavonoideos se encuentran los flavanoles (+)-catequina y su isómero (-)-epicatequina, que no son aportados por la madera de roble pero durante el envejecimiento del vino la variación en su concentración está relacionada con las diferentes reacciones que tienen lugar (oxidación, condensación, polimerización, etc.) y por reacciones favorecidas por la micro-oxigenación aportada al vino (Cadahía y col., 2008).

La (+)-catequina y (-)-epicatequina pueden participar en las reacciones de copigmentación de los antocianos que ocurren a lo largo del envejecimiento, pudiendo participar en la estabilización del color de los antocianos (Zamora, 2003).

En las figuras 81 a y 81 b se observa un descenso en la concentración de (+)-catequina en los vinos durante todo el envejecimiento, el cual está asociado a su participación en varias reacciones químicas, coincidiendo con la evolución de los flavanoles de varios vinos tintos durante su permanencia en botella descrito por el grupo de investigación de Monagas durante el año 2005 (Monagas y col., 2005b).

Se han observado diferencias significativas en la concentración de (+)-catequina de los vinos tratados con astillas o tablones y micro-oxigenación (tablas 19 y 20). Durante el periodo en el que el vino ha permanecido con la madera, el contenido de catequina ha sido superior en los vinos envejecidos con astillas y micro-oxigenación que con tablones y micro-oxigenación. Sin embargo, durante el periodo de botella la concentración media de (+)-catequina ha sido superior al emplear tablones y MOX (tabla 20, figuras 81 a y 81 b).

El grado de tostado y el tipo de secado de la madera, no han influido estadísticamente en las concentraciones de (+)-catequina presentes en los vinos durante todo el estudio (periodo de contacto vino-madera y permanencia en botella). Los vinos tratados con madera de secado acelerado han presentado niveles ligeramente superiores de (+)-catequina que al emplear madera con secado tradicional (tablas 19 y 20, figuras 81 a y 81 b).

Según el grado de tostado, se ha observado que al aumentar la temperatura de tostado de la madera el contenido de (+)-catequina en los vinos ha disminuido, siendo los vinos tratados con madera de tostado ligero los que mayor concentración de (+)-catequina han presentado tanto en el periodo de contacto del vino con la madera, como durante la permanencia en botella (tablas 19 y 20, figuras 81 a y 81 b), siendo este resultado gráficamente más evidente durante el periodo de contacto del vino con la madera en los vinos con astillas y micro-oxigenación.

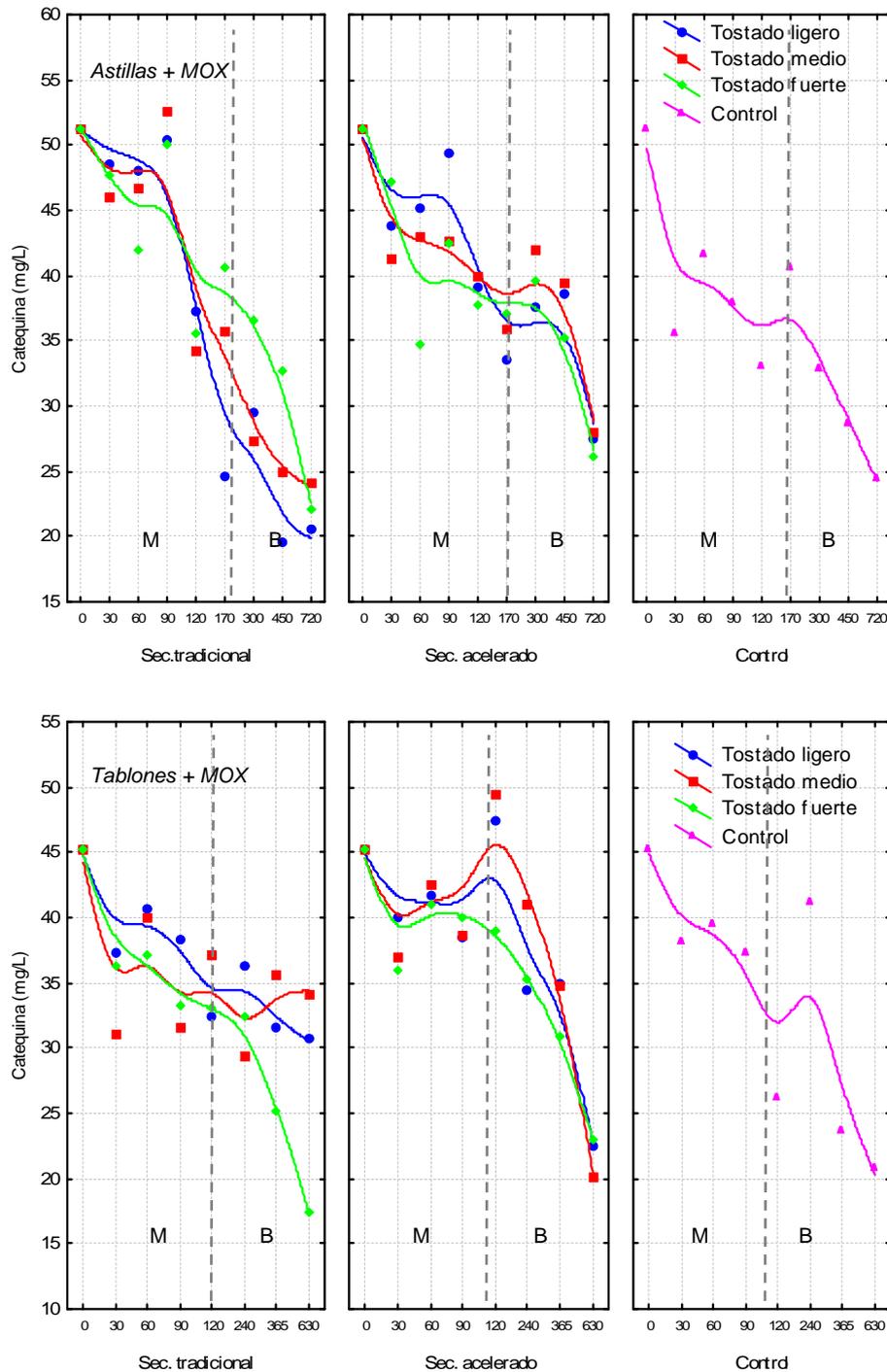


Figura 81- Evolución de (+)- catequina durante el envejecimiento en madera (M) y periodo de botella (B) en vinos con astillas (81a) y tablones (81b) de *Quercus pyrenaica* Willd.

Se han encontrado diferencias significativas en la concentración de (-)-epicatequina en los vinos según el tipo de secado y el tamaño de los productos alternativos durante todo el estudio. Los vinos tratados con tablones y micro-oxigenación han presentado mayor contenido de este flavanol que los vinos de astillas y micro-oxigenación a lo largo del periodo de envejecimiento con la madera y a lo largo del periodo de botella (tablas 19 y 20). Según el secado de la madera, los vinos con madera de secado acelerado han presentado mayor concentración de (-)-epicatequina que al utilizar madera de secado tradicional (tablas 19 y 20).

#### 4.1.6. Compuestos fenólicos antocianos

Como ya se ha mencionado anteriormente, los antocianos son los compuestos responsables directos del color de los vinos, los cuales pueden presentarse en forma libre o combinada. A continuación se muestran los resultados sobre la evolución del contenido de los compuestos antociánicos durante el envejecimiento con los productos alternativos a las barricas y el periodo de botella. Los antocianos han sido estudiados de forma pormenorizada mediante HPLC.

Las tablas 21 y 22 muestran las medias y *p* level de los análisis de varianza (ANOVA) de los compuestos antociánicos, durante el envejecimiento en madera y botella. Los compuestos con un nivel de significación superior al 95% aparecen en negrita.

La concentración de los antocianos identificados mediante HPLC disminuye con el tiempo, este descenso en su concentración es debido a las reacciones en las que están implicados, incluyendo reacciones de degradación (Cano y *col.*, 2006).

Durante el periodo de botella, los antocianos analizados en el vino han presentado diferencias significativas según el tamaño de la madera de los productos alternativos a las barricas, siendo mayor el contenido encontrado en los vinos tratados con astillas que los obtenidos al emplear tablones, como ya se ha comentado en el apartado 4.1.2 (antocianos totales). La menor caída en la concentración de los antocianos del vino control respecto al resto de vinos envejecidos con madera ha sido debida a la menor condensación con taninos (Del Álamo y *col.*, 2004b; Cano y *col.*, 2006, 2007) (figuras 82 a 95).

Los antocianos no acetilados en los vinos han presentado un progresivo descenso a lo largo del envejecimiento (periodo de contacto del vino con la madera y periodo de botella), lo cual es debido a las numerosas reacciones químicas que hacen disminuir los antocianos monoméricos y a la formación de pigmentos poliméricos y oligoméricos más estables (Monagas y *col.*, 2006) (figuras 82 a 88).

La concentración de delfinidín 3 *o*-glucósido y petunidín 3 *o*-glucósido en los vinos no se ha visto afectada significativamente durante el envejecimiento con la madera por ninguno de los factores estudiados (tamaño de la madera, grado de tostado y tipo de secado de la madera). Durante este periodo, la concentración en los vinos tratados con tablones y micro-oxigenación ha disminuido al aumentar el grado de tostado de los tablones, de forma que los vinos envejecidos con madera secada de forma tradicional y de tostado ligero han presentado mayor contenido de delfinidín 3 *o*-glucósido y petunidín 3 *o*-glucósido que al usar madera con tostado medio y fuerte (tabla 21, figuras 82 a-b y 83 a- b).

La concentración de delfinidín 3 *o*-glucósido y petunidín 3 *o*-glucósido en los vinos embotellados ha sido ligeramente superior al emplear madera secada de forma acelerada, con un nivel de significación superior a 99,9% (tabla 22, figuras 82 a-b y 83 a-b). Respecto al tostado de la madera, se ha observado durante este periodo que los vinos envejecidos con madera de tostado medio han contenido mas delfinidín 3 *o*-glucósido y petunidín 3 *o*-glucósido que al utilizar madera de tostado ligero y fuerte (tabla 22, figuras 82 a y 83 a), siendo gráficamente más visible este resultado en los vinos envejecidos con astillas.

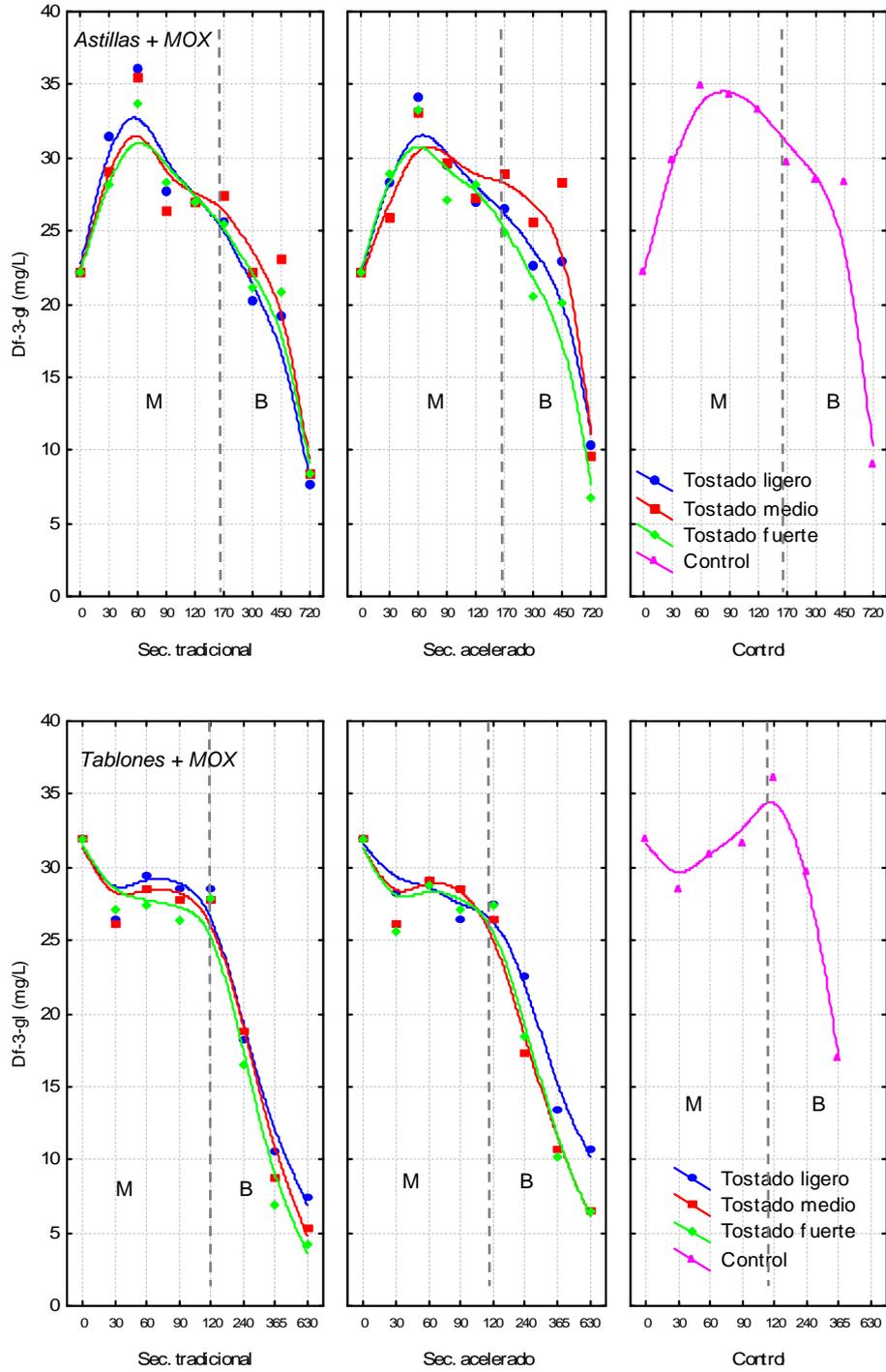


Figura 82- Evolución del Delfinidín 3 o-glucósido en los vinos con astillas (82a) y tablones (82b) de *Quercus pyrenaica* Willd. durante el envejecimiento en madera (M) y periodo de botella (B)

Tabla 21- Contenido medio de los compuestos antocianicos (mg/L) presentes en el vino cuantificados mediante HPLC en función del formato, tostado y secado durante el envejecimiento en madera y resultados de la ANOVA

	Tamaño			Tostado				Secado		
	Astillas	Tablones	p level	Ligero	Medio	Fuerte	p level	Tradic.	Aceler.	p level
Df- 3-gl.	27,82 a	28,41 a	0,309	28,41 a	28,10 a	27,75 a	0,657	28,16 a	28,01 a	0,815
Ci- 3-gl.	6,20 b	6,07 a	<b>0,022</b>	6,15 a	6,14 a	6,13 a	0,944	6,12 a	6,16 a	0,412
Pt- 3-gl.	25,00 a	25,62 a	0,278	25,63 a	25,27 a	24,96 a	0,619	25,28 a	25,29 a	0,955
Pe-3-gl.	9,73 a	9,42 a	0,073	9,60 a	9,66 a	9,51 a	0,749	9,61 a	9,56 a	0,837
Mv- 3-gl.	71,92 a	72,67 a	0,699	73,32 a	72,45 a	71,01 a	0,591	72,12 a	72,40 a	0,836
Vitisin A	6,13 b	5,82 a	<b>0,002</b>	6,03 a	5,93 a	6,02 a	0,675	5,95 a	6,03 a	0,429
Mv-3-gl-etil-epica.	5,27 b	5,09 a	<b>0,001</b>	5,18 a	5,21 a	5,17 a	0,832	5,19 a	5,18 a	0,917
Derivados acetilados										
Mv-3-gl-Ac.	6,46 b	6,13 a	<b>0,000</b>	6,33 a	6,37 a	6,23 a	0,197	6,33 a	6,29 a	0,484
Pe-3-gl-Ac.	5,35 b	4,62 a	<b>0,000</b>	5,00 a	5,05 a	5,01 a	0,972	4,92 a	5,12 a	0,212
Derivados cumarilados										
Df-3-gl-Cm.	6,13 a	6,11 a	0,726	6,15 a	6,13 a	6,08 a	0,595	6,13 a	6,11 a	0,772
Ci-3-gl-Cm.	4,61 b	4,53 a	<b>0,000</b>	4,58 a	4,58 a	4,56 a	0,669	4,58 a	4,57 a	0,410
Pt-3-gl-Cm.	5,60 a	5,57 a	0,442	5,62 a	5,60 a	5,55 a	0,393	5,59 a	5,59 a	0,995
Mv-3-gl-Cm. Cis	4,72 b	4,69 a	<b>0,018</b>	4,71 a	4,71 a	4,70 a	0,628	4,70 a	4,71 a	0,819
Mv- 3-gl-Cm. Trans	8,82 a	9,29 b	<b>0,020</b>	9,22 a	9,04 a	8,84 a	0,285	9,03 a	9,04 a	0,923

(Para cada factor, letras distintas en filas indican diferencias estadísticamente significativas). En negrita se muestra el p level con significación > 95% (p <0,05)

Tabla 22- Contenido medio de los compuestos antociánicos (mg/L) presentes en el vino cuantificados mediante HPLC en función del formato, tostado y secado durante el periodo de botella y resultados de la ANOVA

	Tamaño			Tostado				Secado		
	Astillas	Tablones	<i>p</i> level	Ligero	Medio	Fuerte	<i>p</i> level	Tradic.	Aceler.	<i>p</i> level
Df- 3-gl.	18,51 b	11,99 a	<b>0,000</b>	15,65 a	16,38 a	13,69 a	0,209	13,98 a	16,54 a	<b>0,031</b>
Ci- 3-gl.	3,31 b	0,68 a	<b>0,000</b>	1,98 a	2,11 a	1,83 a	0,757	1,86 a	2,09 a	0,320
Pt- 3-gl.	13,51 b	7,02 a	<b>0,000</b>	10,77 a	10,92 a	9,02 a	0,166	9,34 a	11,17 a	<b>0,017</b>
Pe-3-gl.	5,73 b	1,42 a	<b>0,000</b>	3,78 a	3,73 a	3,13 a	0,478	3,35 a	3,76 a	0,166
Mv- 3-gl.	36,27 b	23,42 a	<b>0,000</b>	32,77 b	32,48 b	24,23 a	<b>0,004</b>	27,68 a	32,01 a	<b>0,028</b>
Vitisin A	4,36 b	1,05 a	<b>0,000</b>	2,70 a	2,73 a	2,61 a	0,851	2,64 a	2,72 a	0,442
Mv-3-gl-etil-epica.	3,20 b	1,17 a	<b>0,000</b>	2,13 a	2,32 a	2,06 a	0,731	2,09 a	2,25 b	0,415
Derivados acetilados										
Mv-3-gl-Ac.	3,62 b	1,38 a	<b>0,000</b>	2,54 a	2,61 a	2,32 a	0,771	2,36 a	2,62 a	0,326
Pe-3-gl-Ac.	4,39 b	0,28 a	<b>0,000</b>	2,46 b	2,34 b	2,11 a	<b>0,009</b>	2,32 a	2,29 a	<b>0,024</b>
Derivados cumarilados										
Df-3-gl-Cm.	3,99 b	1,36 a	<b>0,000</b>	2,68 a	2,88 a	2,42 a	0,634	2,48 a	2,85 a	0,264
Ci-3-gl-Cm.	1,94 b	0,83 a	<b>0,009</b>	1,33 a	1,50 a	1,31 a	0,848	1,30 a	1,46 a	0,556
Pt-3-gl-Cm.	3,30 b	1,24 a	<b>0,000</b>	2,25 a	2,39 a	2,13 a	0,782	2,12 a	2,40 a	0,321
Mv-3-gl-Cm. Cis	2,96 b	0,98 a	<b>0,000</b>	1,91 a	2,09 a	1,88 a	0,772	1,85 a	2,07 a	0,356
Mv- 3-gl-Cm. Trans	4,59 b	0,74 a	<b>0,000</b>	2,69 a	2,87 a	2,38 a	0,422	2,40 a	2,90 a	0,053

(Para cada factor, letras distintas en filas indican diferencias estadísticamente significativas). En negrita se muestra el *p* level con significación > 95% (*p* <0,05)

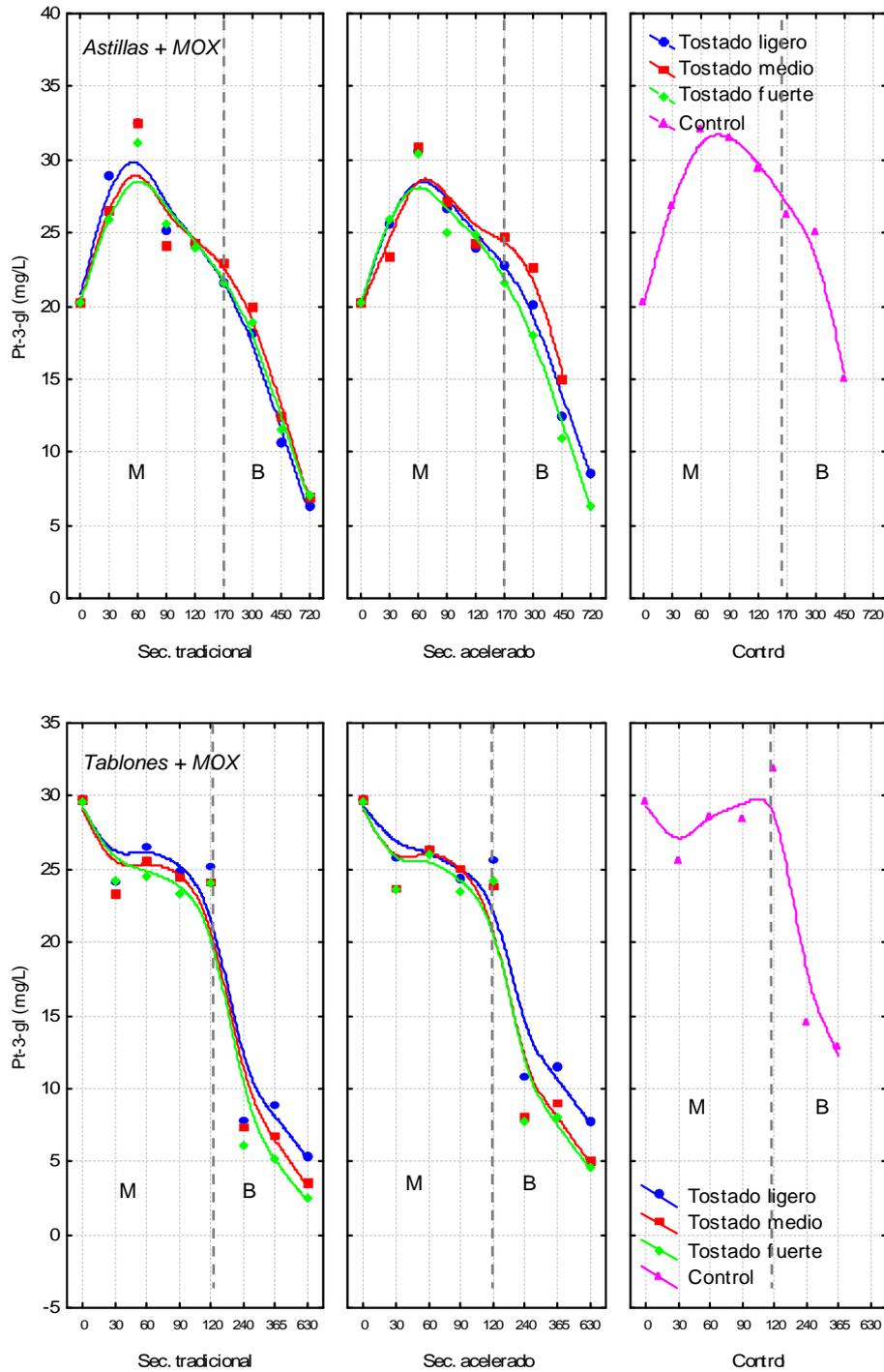


Figura 83- Concentración de Petunidín 3 o-glucósido (Pt-3-gl) durante el envejecimiento en madera (M) y periodo de botella (B) de los vinos con astillas (83a) y tablones (83b) de *Quercus pyrenaica* Willd.

La concentración de cianidín 3 o-glucósido (Ci-3-gl), vitisín A y malvidín 3 o-glucósido etil epicatequina (Mv-3-gl-etil-epica) en los vinos ha presentado diferencias estadísticamente significativas según el tamaño de la madera empleada para envejecer. Los vinos con astillas y micro-oxigenación han presentado mayor contenido de estos antocianos que al utilizar tablones y MOX durante el envejecimiento en madera y permanencia en botella (tablas 21 y 22, figuras 84 a-b, 85 a-b y 86 a-b).

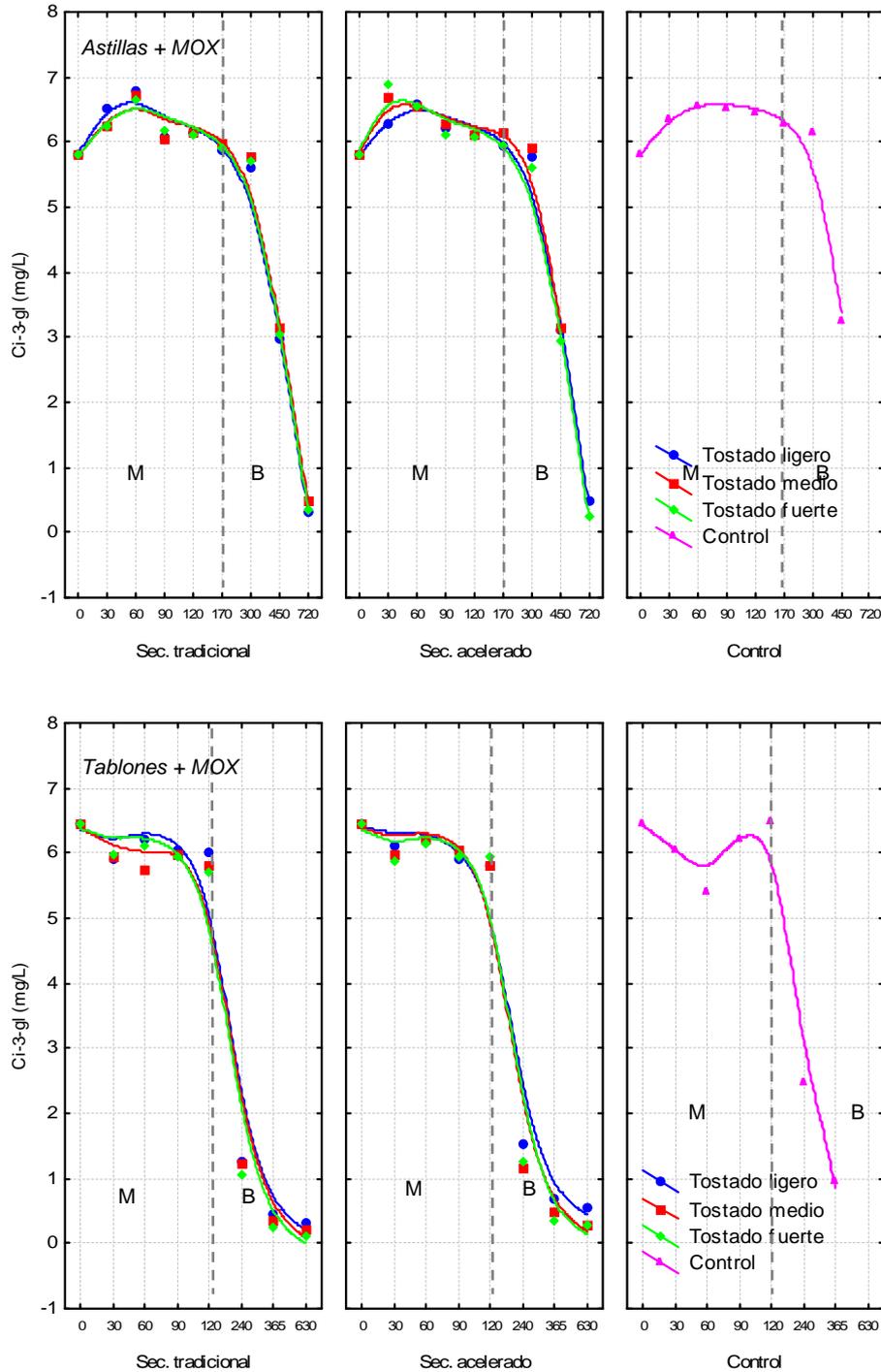


Figura 84- Cambios en el contenido de Cianidín 3 o-Glucósido (Ci-3-g) en vinos con astillas (84a) y tablones (84b) de *Quercus pyrenaica* Willd. durante el periodo vino-madera (M) y periodo de botella (B)

Se ha observado un descenso progresivo en la concentración de vitisín A en todos los vinos durante todo el estudio, siendo más pronunciado cuando los vinos fueron embotellados, coincidiendo este resultado otros autores (Monagas y *col.*, 2005a; Cano y *col.*, 2007).

El tipo de secado y el grado de tostado de la madera no han afectado estadísticamente a sus concentraciones en los vinos (tablas 21 y 22, figuras 84 a-b, 85 a-b, 86 a-b), se ha observado que los vinos tratados con madera de secado acelerado han presentado concentraciones

ligeramente superiores de cianidín 3 *o*-glucósido y vitisin A durante todo el envejecimiento (tablas 21 y 22).

Respecto a la intensidad de tostado de la madera, durante el periodo de contacto vino-madera el descenso de cianidín 3 *o*-glucósido y vitisin A en los vinos con madera de tostado ligero ha sido ligeramente inferior que al emplear madera con tostado medio y fuerte (tabla 21).

La mayor concentración de malvidín 3 *o*-glucósido etil epicatequina ha sido presentada por los vinos envejecidos con madera de tostado medio, siendo este resultado más visible en los vinos envejecidos con astillas y micro-oxigenación (tabla 21, figuras 86 a y 86 b).

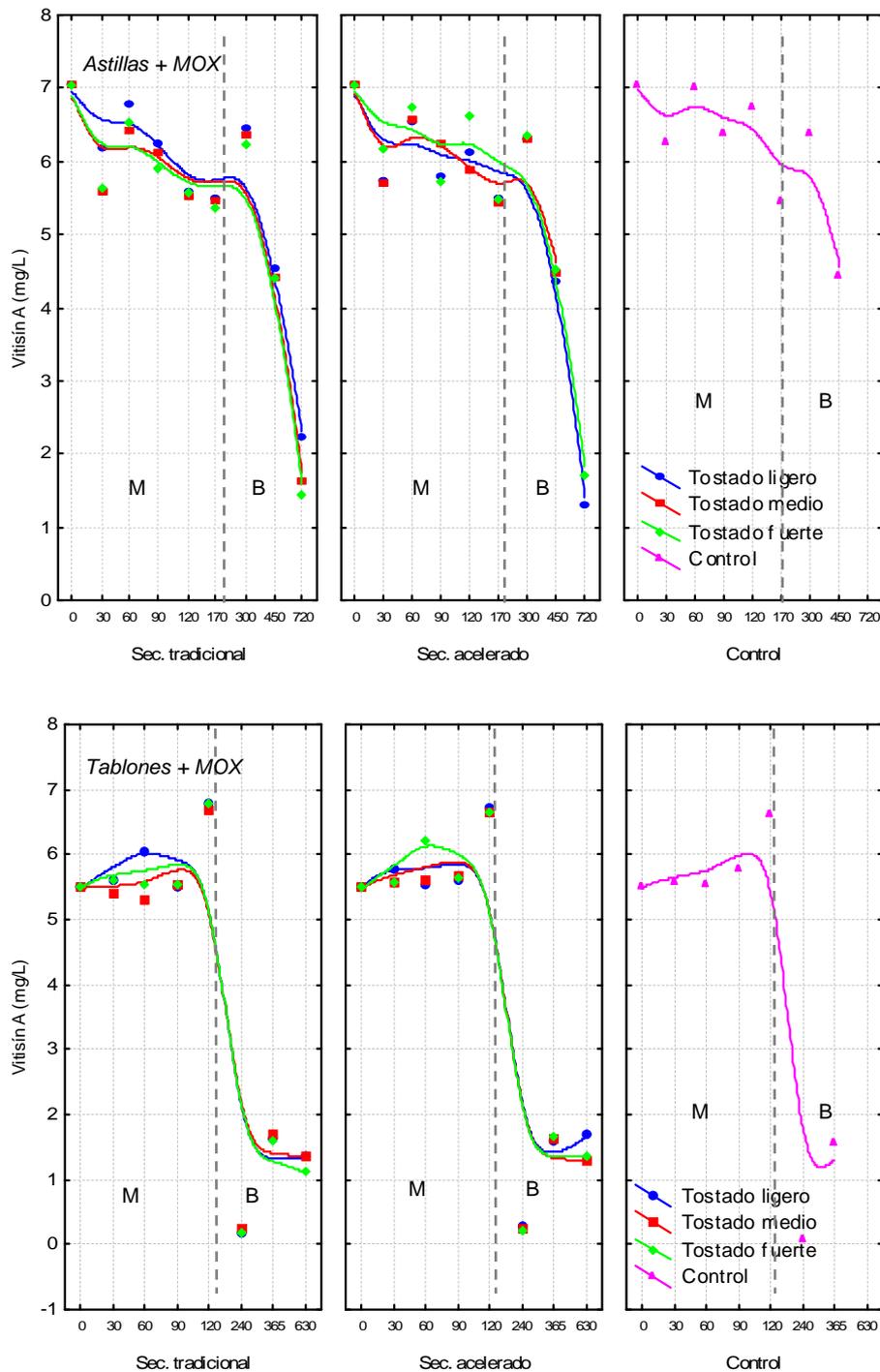


Figura 85- Contenido de Vitisin A (mg/L) durante el envejecimiento en madera (M) y permanencia en botella (B) en vinos con astillas (85a) y tablones (85b) de *Quercus pyrenaica* Willd., con 2 tipos de secado y 3 grados de tostado

Los vinos embotellados tratados con madera de tostado medio han presentado mayor contenido de cianidín 3 *o*-glucósido, vitisin A y malvidín 3 *o*-glucósido etil epicatequina, mostrando los niveles más bajos al emplear el tostado fuerte (tabla 22).

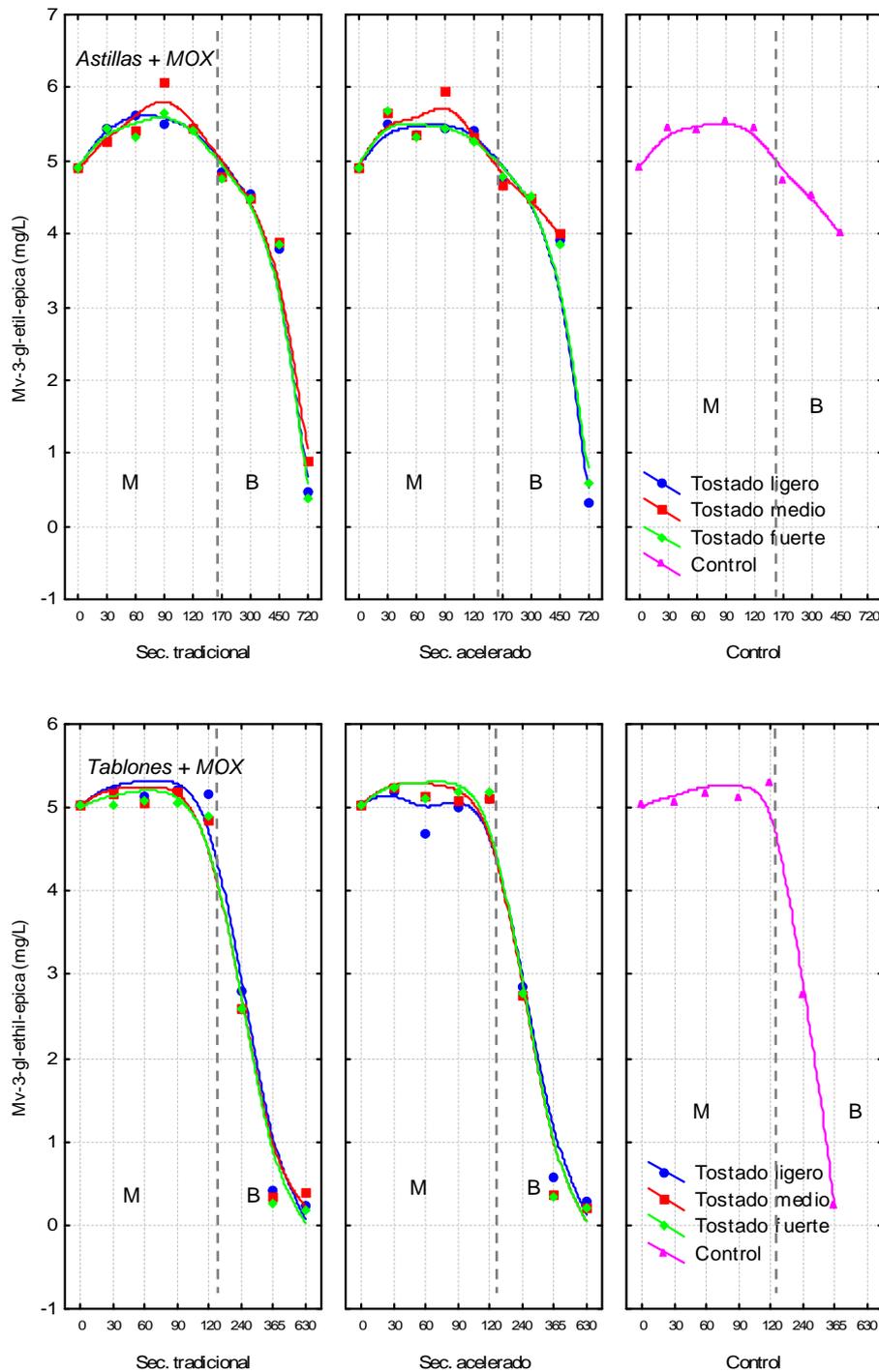


Figura 86- Evolución de Malvidín 3 *o*-glucósido etil epicatequina (Mv 3-Gl-etil-epica) en un vino con astillas (86a) y tablones (86b) de *Quercus pyrenaica* Willd. durante el envejecimiento en madera (M) y periodo de botella (B)

Las figuras 87 a-b y 88 a-b muestran la evolución descendente de peonidín 3 *o*-glucósido (Pe-3-gl) y malvidín 3 *o*-glucósido (Mv-3-gl) en los vinos a lo largo de todo el envejecimiento.

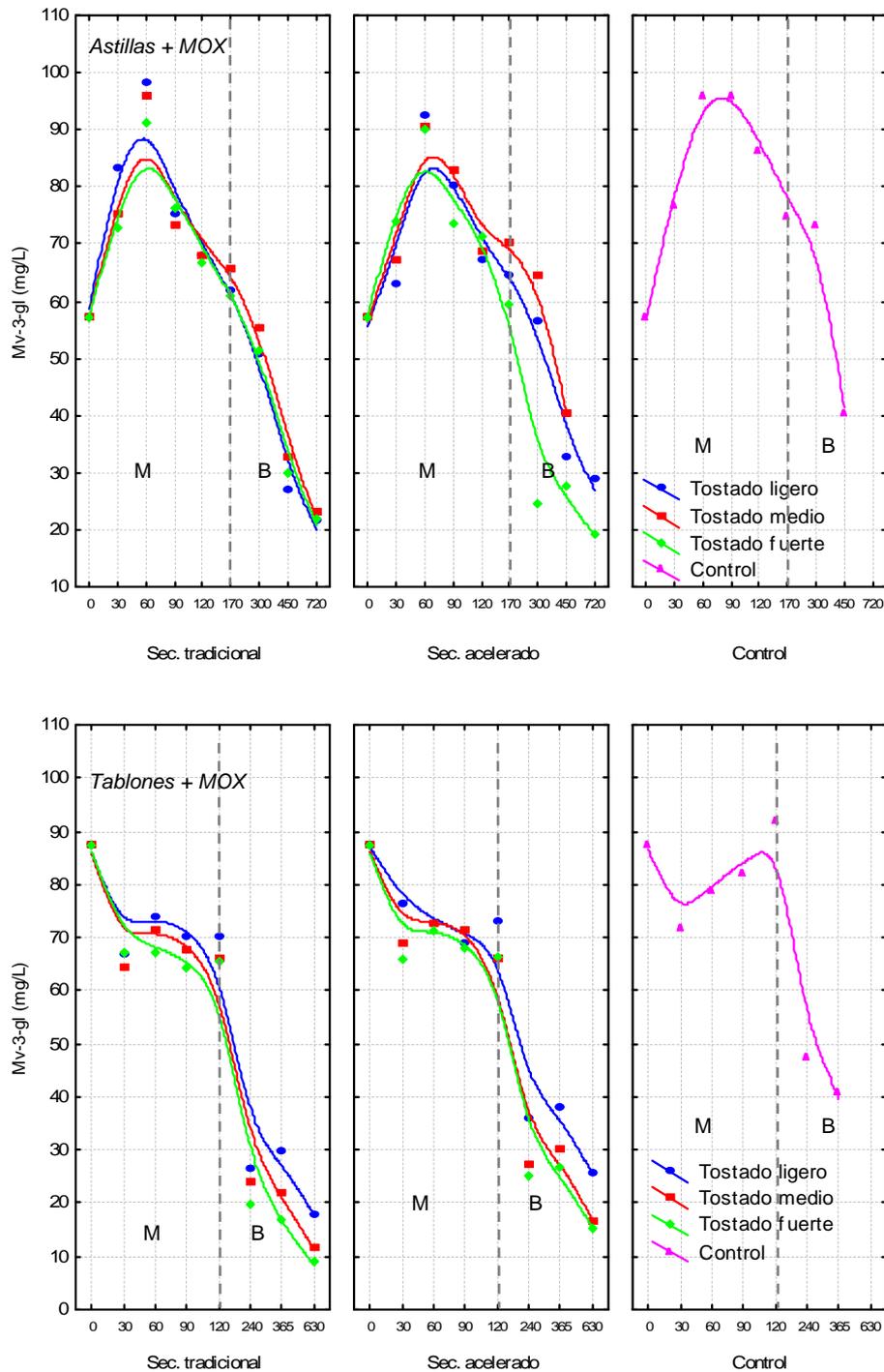


Figura 87- Cambios en la concentración de Malvidín 3 *o*-glucósido (Mv-3-gl) en vinos con astillas (87a) y tablones (87b) de *Quercus pyrenaica* Willd. durante el periodo vino-madera (M) y permanencia en botella (B)

Durante el periodo de contacto del vino con la madera (tabla 21, figuras 87 a-b y 88 a-b), no se han encontrado diferencias en su concentración en los diferentes vinos según los 3 factores estudiados (tamaño, grado de tostado y tipo de secado de la madera). La concentración de malvidín 3 *o*-glucósido en los vinos envejecidos con madera de tostado ligero ha sido superior que al emplear tostado medio o fuerte, disminuyendo su contenido al aumentar el grado de

tostado de la madera (tabla 21, figuras 87 a y 87 b). El mismo comportamiento se ha observado en el contenido de peonidín 3 o-glucósido de los vinos tratados con tablonos y micro-oxigenación (figura 88 b).

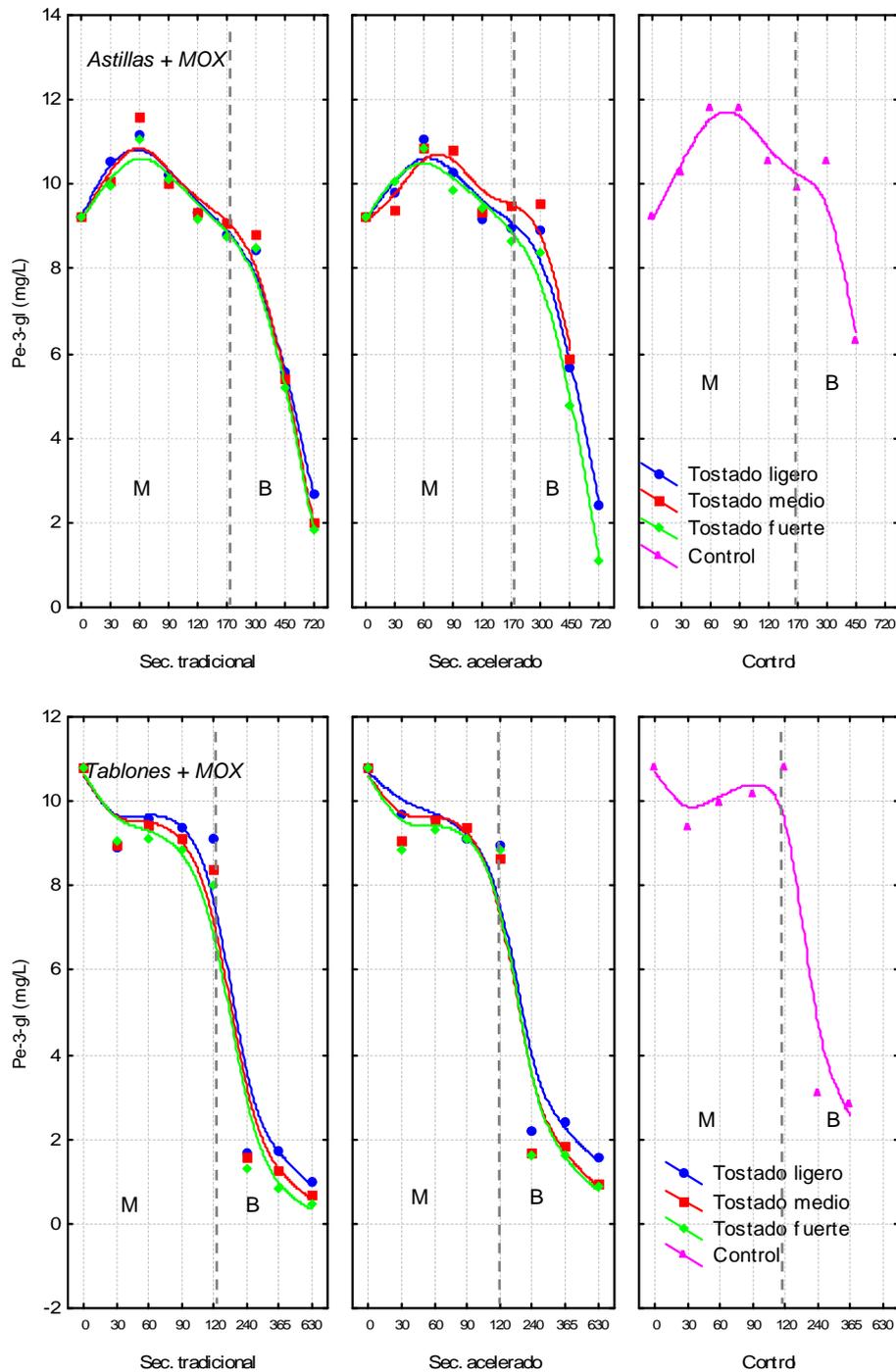


Figura 88- Contenido de Peonidín 3 o-glucósido (Pe-3-gl) en vinos tratados con productos alternativos, astillas (88a) y tablonos (88b) de *Quercus pyrenaica* Willd. durante el envejecimiento en madera (M) y periodo de botella (B)

Las tablas 21 y 22 y las figuras 89 a-b y 90 a-b muestran el descenso del contenido de los antocianos acetilados, el cual es debido a su combinación con taninos (Del Álamo y col., 2004b).

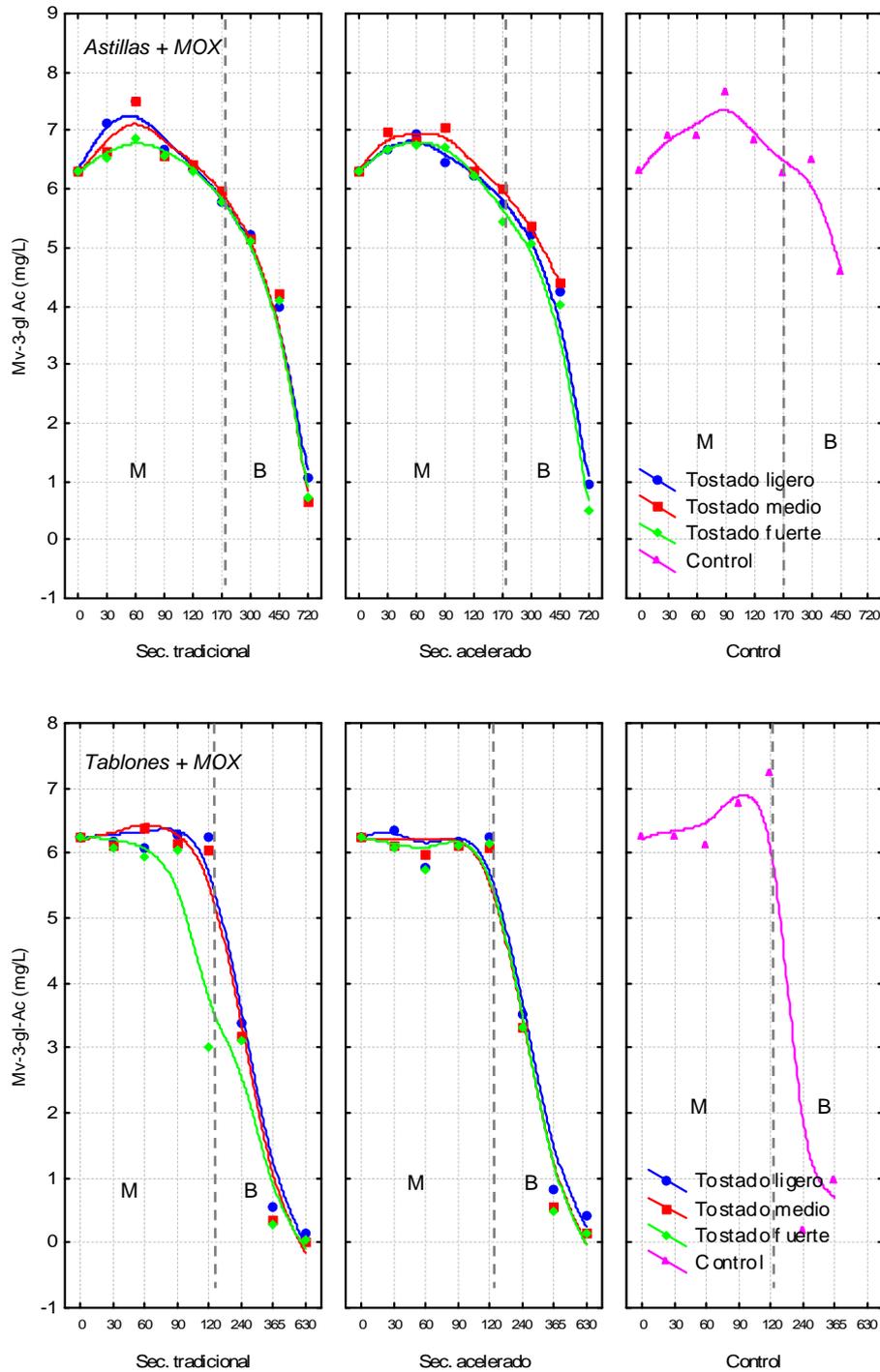


Figura 89- Cambios en el contenido de Malvidín 3 o-acetilglucósido (Mv-3-gl-Ac) en vinos tintos tratados con astillas (89a) y tablones (89b) de *Quercus pyrenaica* Willd. durante el envejecimiento en madera (M) y periodo de botella (B)

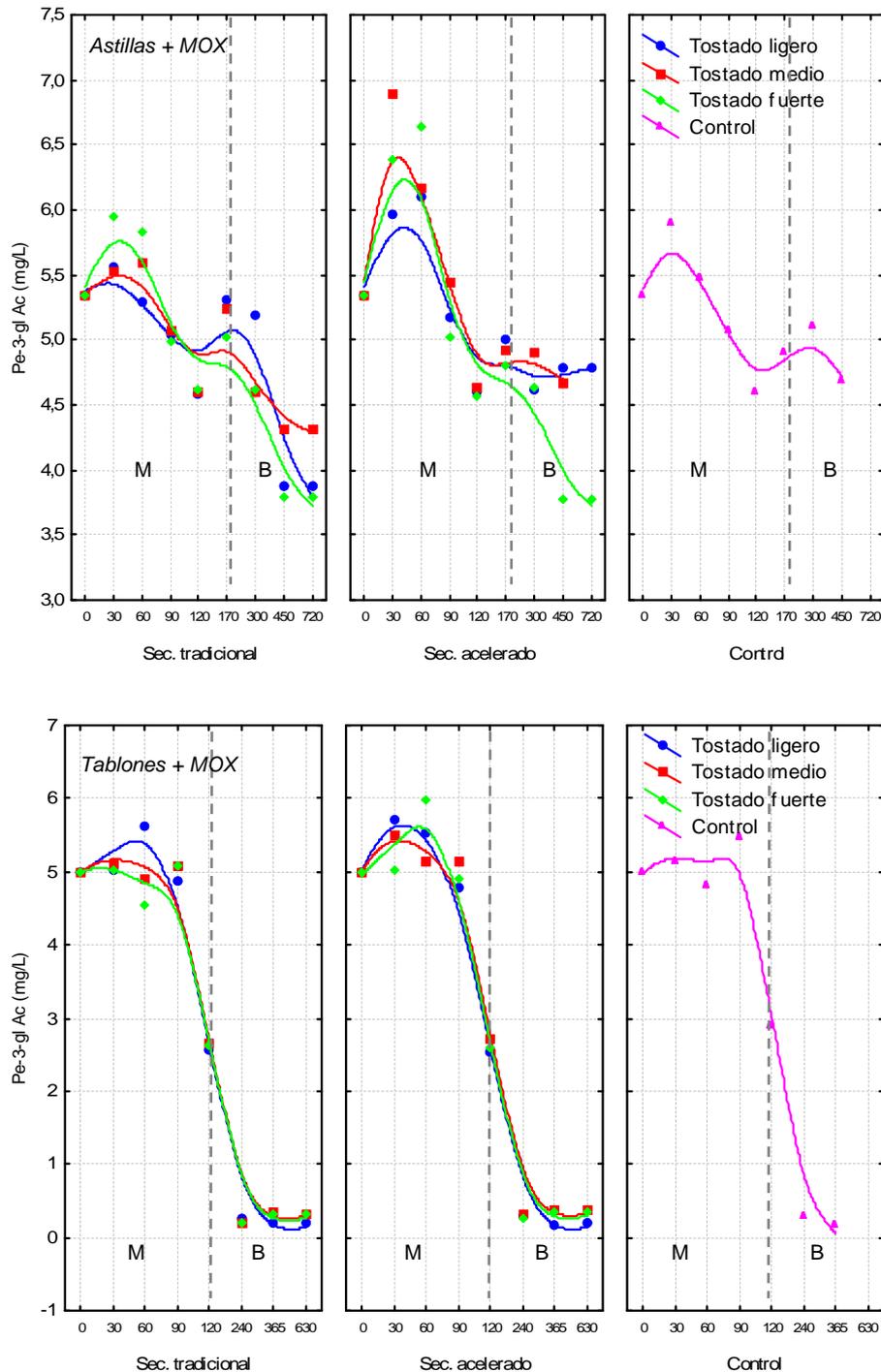


Figura 90- Concentración de Peonidín 3 o-acetilglucósido (Pe-3-gl-Ac) durante el envejecimiento en madera (M) y permanencia en botella (B) en los vinos tratados con astillas (90a) y tablones (90b) de *Quercus pyrenaica* Willd.

Durante todo el envejecimiento, el tamaño de los productos alternativos a las barricas (astillas y tablones) ha influido en el contenido de malvidín 3 o-acetilglucósido (Mv-3-gl-Ac) y peonidín 3 o-acetilglucósido (Pe-3-gl-Ac) de los vinos estudiados, siendo los vinos con astillas y MOX los que presentaron durante los dos periodos de estudio (madera y botella) mayor contenido de Mv-3-gl-Ac y Pe-3-gl-Ac que los vinos con tablones y micro-oxigenación, con un nivel de significación del 100% (tablas 21 y 22, figuras 89 a-b y 90 a-b).

Durante el envejecimiento en madera, los mayores niveles medios de las formas acetiladas de malvidín 3 *o*-glucósido y peonidín 3 *o*-glucósido se han encontrado en los vinos tratados con madera de tostado medio (tabla 21), este resultado es más evidente gráficamente en los vinos tratados con astillas de secado acelerado y en los vinos con tablones de secado tradicional (malvidín 3 *o*-glucósido) (figuras 89 a-b y 90 a-b).

El grado de tostado y el tipo de secado de la madera han influido estadísticamente en la concentración de peonidín 3 *o*-acetilglucósido de los vinos durante el periodo de botella (tabla 22). Los vinos tratados con madera secada de forma tradicional han presentado mayor contenido de peonidín 3 *o*-acetilglucósido que al emplear madera de secado acelerado.

Respecto al grado de tostado de la madera, al aumentar la temperatura en el proceso de tostado de la madera las combinaciones entre el Pe-3-gl-Ac y los taninos del vino durante el periodo de botella han sido mayores, siendo más evidente este resultado en los vinos tratados con astillas (tabla 22, figuras 90 a y 90 b).

Respecto a los derivados cumarilados de los antocianos (figuras 91 a 95), sus concentraciones en el vino durante el envejecimiento (madera y botella) han sido más o menos constantes durante los primeros 4 o 5 meses (periodo de contacto vino-madera). A continuación sufrieron un descenso continuo hasta el final del envejecimiento (periodo de botella). Este resultado ha coincidido con lo expuesto por el grupo de Monagas en el año 2005, donde el descenso sufrido por los derivados cumarilados durante el envejecimiento en botella ha sido por las hidrólisis que sufrían durante éste periodo, lo cual supuso un aumento del ácido cumárico (Monagas y *col.*, 2005a). Las concentraciones presentadas por los antocianos cumarilados han sido similares en función del grado de tostado y el tipo de secado de la madera, tanto durante el envejecimiento del vino con la madera como en el periodo de botella (tablas 21 y 22).

Los vinos embotellados tratados con madera secada de forma acelerada han presentado un nivel de antocianos cumarilados ligeramente superior que al emplear madera con secado tradicional (tabla 22).

El tamaño de los productos alternativos a las barricas (astillas y tablones) ha influido significativamente en la concentración de los antocianos cumarilados en los vinos, especialmente durante el periodo de botella, de forma que sus concentraciones en los vinos tratados con astillas y micro-oxigenación han sido superiores que al emplear tablones y MOX (tabla 22, figuras 91 a 95).

Al tener en cuenta el grado de tostado de la madera, durante el periodo de contacto vino-madera (tabla 21) la concentración de los antocianos cumarilados en los vinos estudiados ha sido muy similar, aunque ha destacado el contenido de delphinidín 3 *o*-cumarilglucósido, petunidín 3 *o*-cumarilglucósido y malvidín 3 *o*-cumarilglucósido isómero trans ya que ha disminuido en los vinos al aumentar el grado de tostado de la madera, alcanzándose concentraciones ligeramente superiores con la madera de tostado ligero (figuras 91 a-b, 93 a-b y 95 a-b). Durante el periodo de botella, todos los antocianos cumarilados estudiados han presentado concentraciones ligeramente superiores en los vinos envejecidos con madera de tostado medio (tabla 22), resultado más visible en los vinos tratados con astillas (figuras 91 a 95).

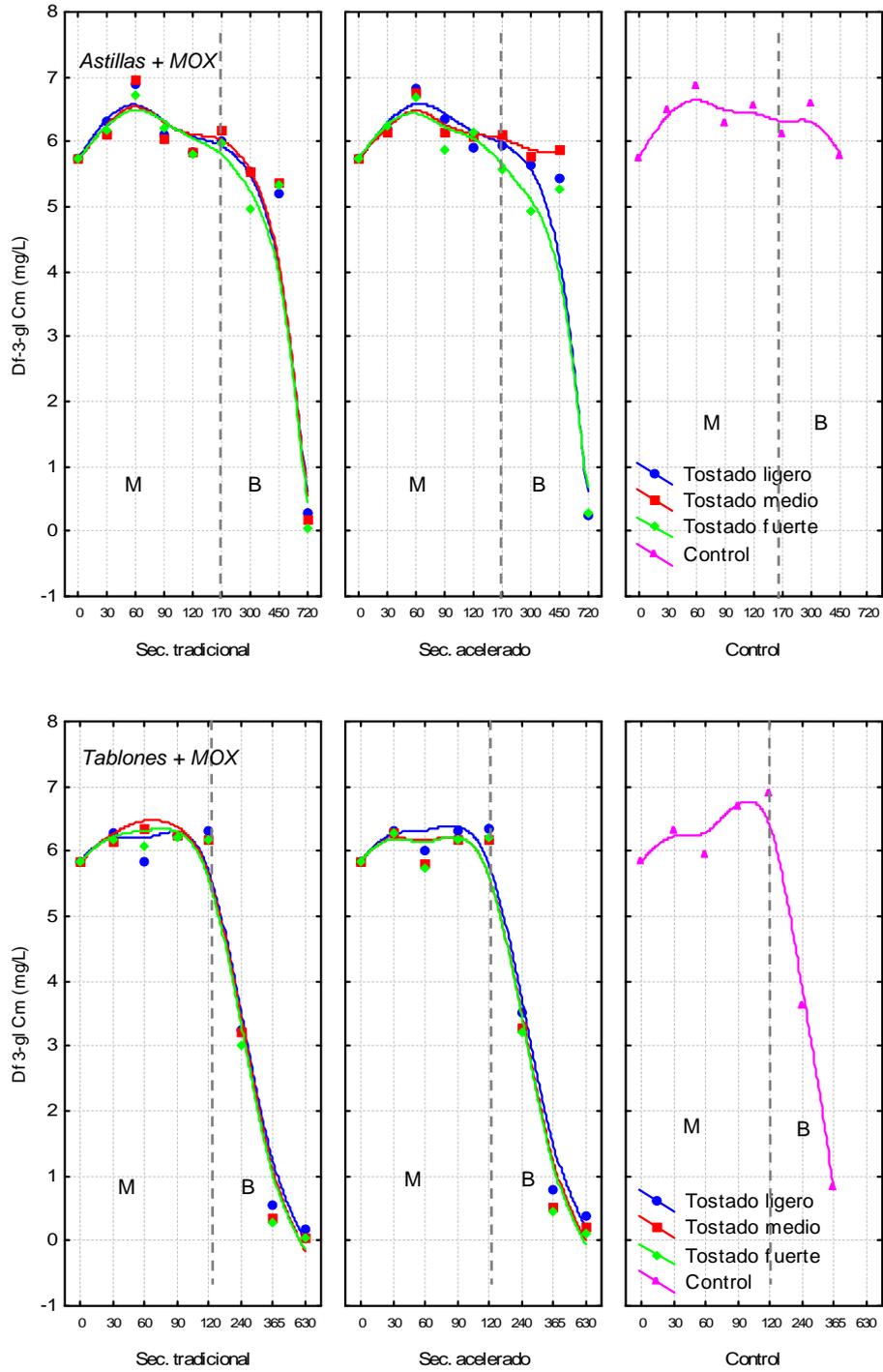


Figura 91- Evolución de Delfinidín 3 o-cumarilglucósido (Df-3-gl-Cm) en los vinos tratados con astillas (91a) y tablones (91b) de *Quercus pyrenaica* Willd. durante el envejecimiento en madera (M) y periodo de botella (B)

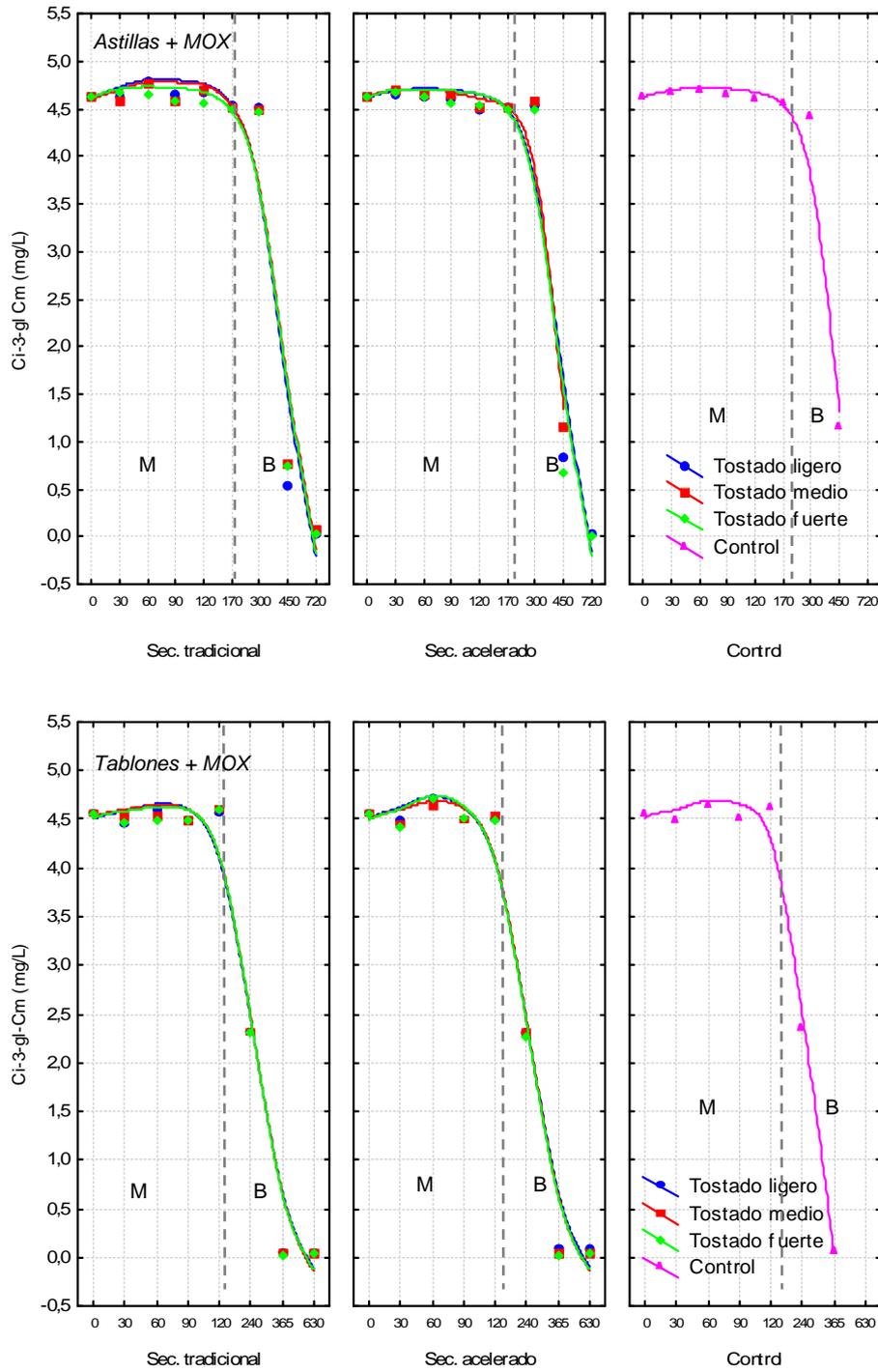


Figura 92- Evolución del Cianidín 3 o-cumarilglucósido(Ci-3-gl-Cm) durante el envejecimiento en madera (M) y periodo de botella (B) en vinos con astillas (92a) y tablones (92b) de *Quercus pyrenaica* Willd.

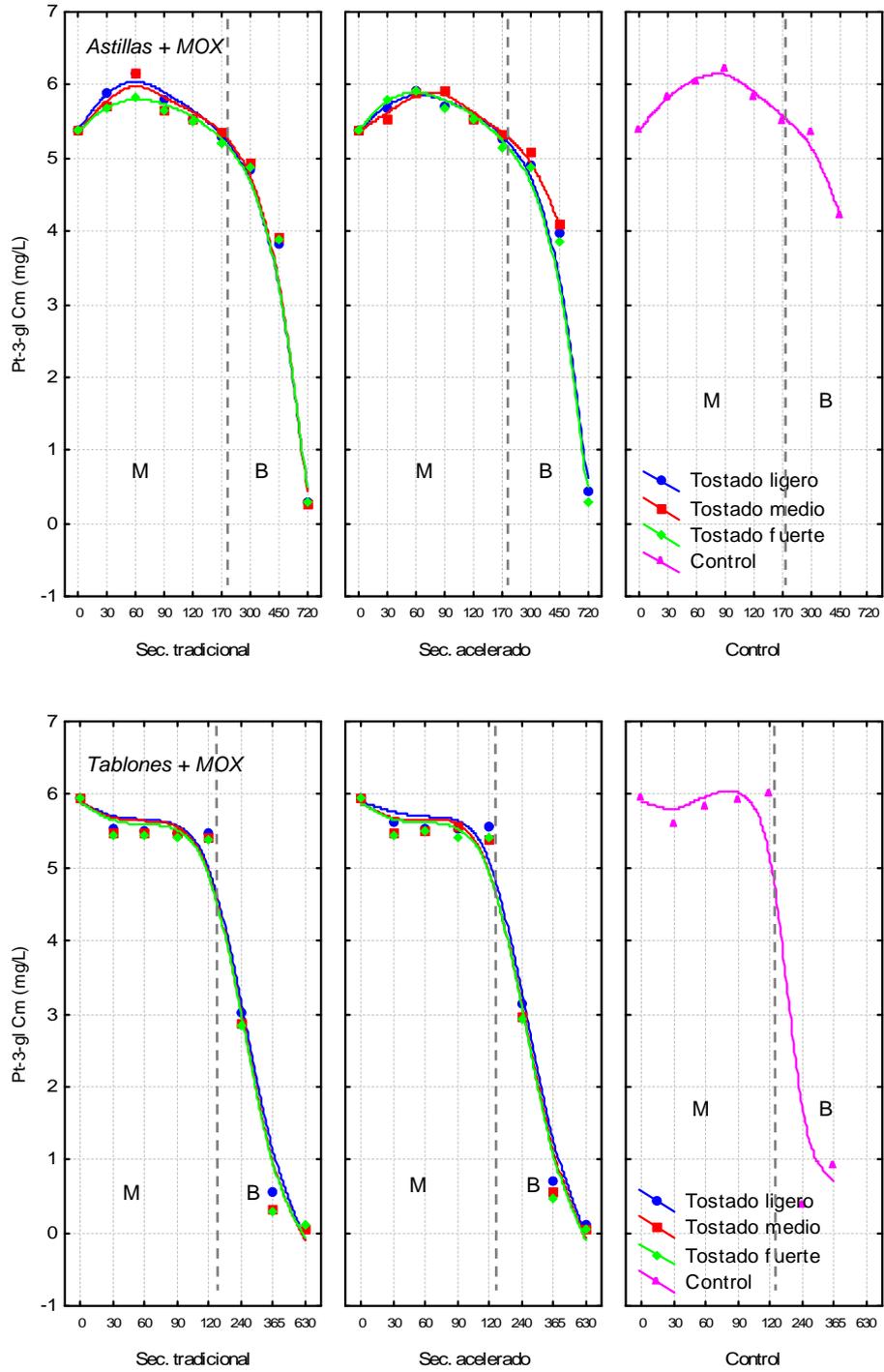


Figura 93- Evolución del contenido de Petunidín 3 o-cumarilglucósido (Pt-3-gl-Cm) en vinos con astillas (93a) y tablones (93b) de *Quercus pyrenaica* Willd. durante el periodo de permanencia del vino con la madera (M) y periodo de botella (B)

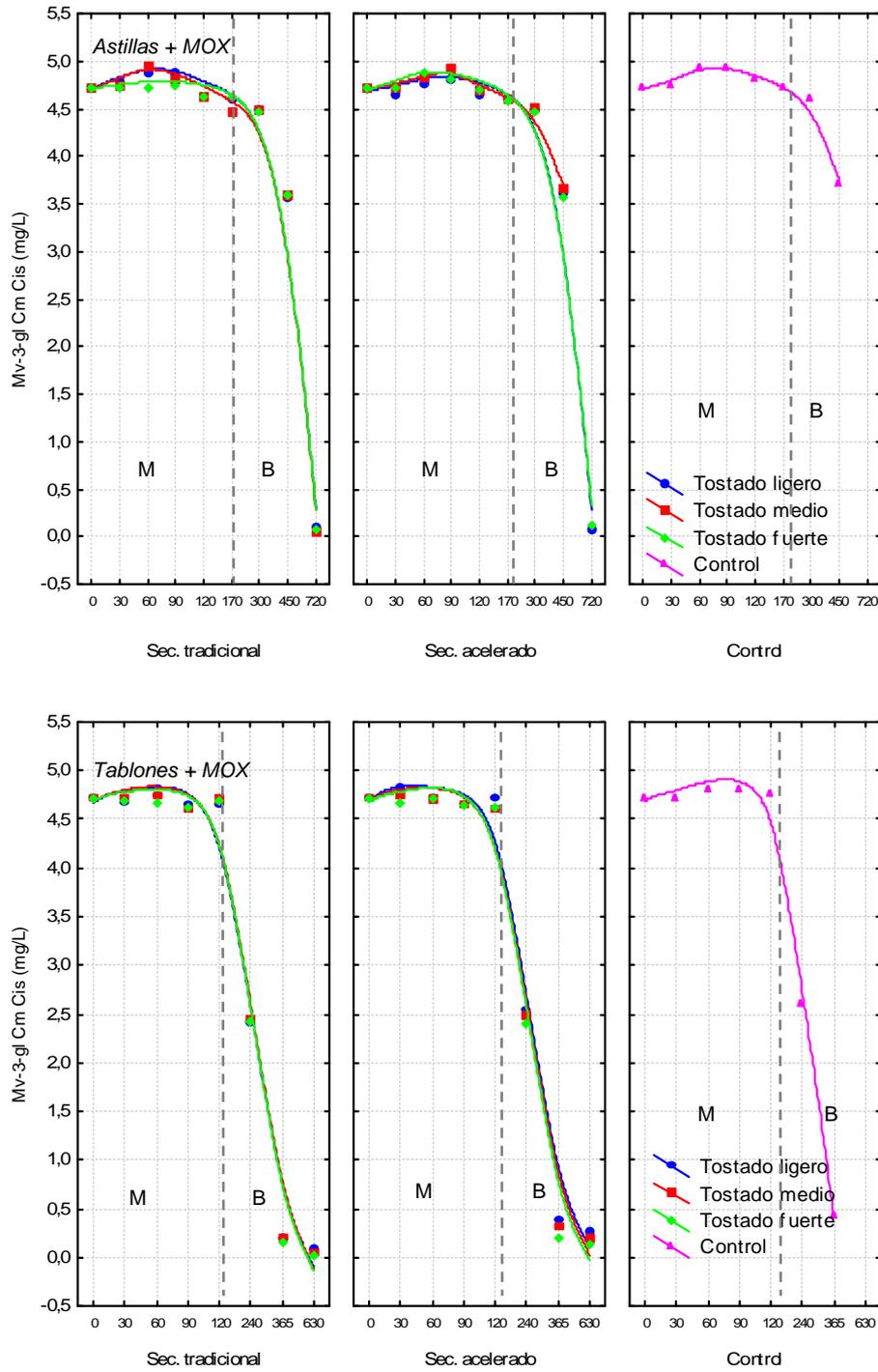


Figura 94- Contenido de Malvidín 3 o-cumarilglucósidoisómero Cis (Mv-3-gl-Cm Cis) en vinos con astillas (94a) y tablones (94b) de *Quercus pyrenaica* Willd. durante el envejecimiento en madera (M) y periodo de botella (B)

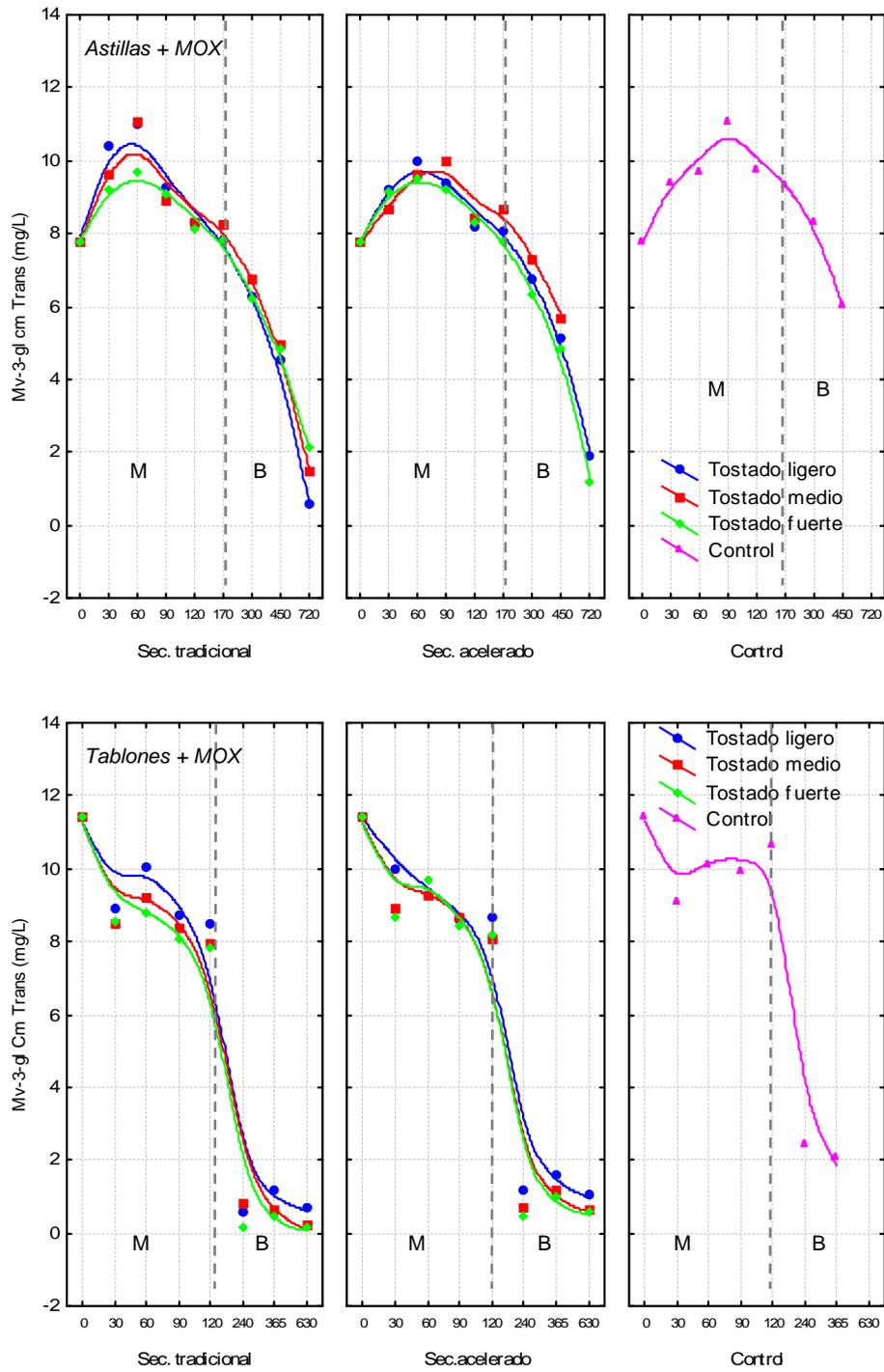


Figura 95- Evolución de Malvidín 3 o-cumarilglucósido isómero Trans (Mv-3-gl-Cm Trans) en vinos tratados con astillas (95a) y tablones (95b) de *Quercus pyrenaica* Willd. durante el envejecimiento en madera (M) y periodo de botella (B)

#### 4.1.7. Análisis sensorial del vino

Se ha realizado la caracterización sensorial del vino tinto D.O. Ribera del Duero envejecido con productos alternativos a las barricas (astillas y tablonos) de roble español (*Quercus pyrenaica* Willd.) y micro-oxigenación. Los vinos han permanecido hasta casi seis meses con la madera, realizándose el análisis sensorial al inicio, mitad y final del experimento.

Los datos graficados del análisis sensorial llevado a cabo han sido los resultados promedios de los atributos valorados en los vinos por los catadores, los cuales se han dividido en parámetros de la fase visual, olfativa y gustativa.

##### 4.1.7.1. Análisis sensorial de los vinos tintos envejecidos con astillas de roble *Quercus pyrenaica* Willd.

El análisis organoléptico de los vinos tintos envejecidos con astillas de madera de rebollo se ha realizado por un grupo de expertos catadores de Castilla y León como se describe en el apartado de materiales y métodos. La madera empleada ha sido sometida a un secado tradicional y acelerado, y ha sufrido una intensidad de tostado ligero, medio y fuerte. Estos vinos han permanecido 169 días con la madera y con pequeñas dosis de oxígeno (MOX), realizándose el análisis sensorial tras 56 y 113 días de envejecimiento con las astillas de roble *Quercus pyrenaica* Willd., y tras 15 días de estancia en botella (tabla 4).

##### Análisis sensorial de los vinos con astillas tras 56 días de envejecimiento

Los vinos estudiados con casi dos meses de envejecimiento no han presentado diferencias significativas en los atributos de la fase visual según la intensidad de tostado de las astillas, no afectando este factor a las características cromáticas de los vinos.

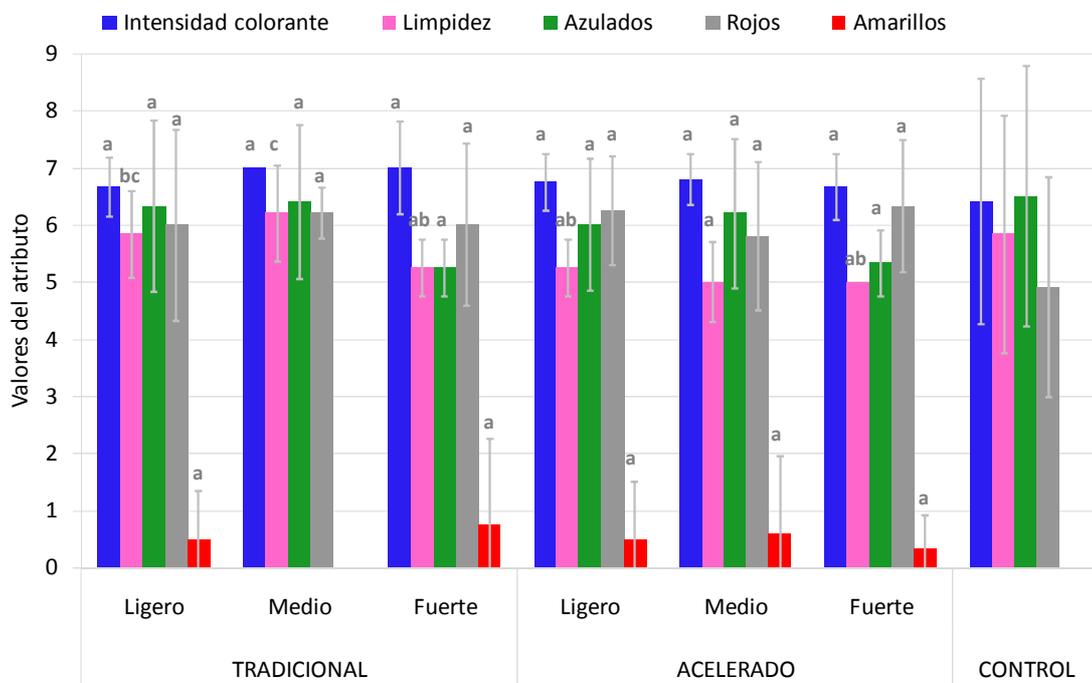


Figura 96- Características organolépticas (Fase visual) del vino tinto envejecido durante 56 días con astillas de *Quercus pyrenaica* Willd.

Los vinos envejecidos con astillas de secado tradicional han mostrado mayor limpidez que los vinos tratados con astillas secadas de forma acelerada. En general, los vinos estudiados se han caracterizado por presentar gran intensidad colorante y limpidez y tonalidades azuladas y rojas (figura 96).

En la fase olfativa, las mayores diferencias han sido encontradas en los atributos relacionados con el envejecimiento en madera. Se ha observado que el grado de tostado de la madera ha influido en las características organolépticas relacionadas con el envejecimiento de los vinos, siendo significativas las diferencias para el atributo de café, aumentando su concentración en los vinos con la intensidad de tostado de las astillas. Los vinos tratados con astillas de madera de rebollo de tostado fuerte y medio han presentado mayores notas de maderizado, tostado, especiados, ahumados y café (figuras 98 y 99).

Los vinos con astillas de rebollo (*Quercus pyrenaica* Willd.) de secado tradicional y acelerado y micro-oxigenación han mostrado mayores notas de ahumados y café al incrementar la intensidad del tostado (figura 99).

En general, todos los vinos estudiados han tenido gran intensidad aromática, presentando los vinos tratados con astillas de secado tradicional mayor intensidad aromática que al emplear madera de secado acelerado, siendo significativas estas diferencias en los vinos tratados con madera de secado tradicional con tostado medio y fuerte, y en los vinos con astillas de secado acelerado y tostado ligero (figura 97). Destacar las leves notas de reducción presentadas en los vinos con astillas de *Quercus pyrenaica* Willd. de secado tradicional con tostado fuerte, siendo significativas estas diferencias con respecto a los vinos con astillas de secado acelerado y tradicional de tostado medio (figura 97). El vino control ha destacado por presentar notas afrutadas, con ligeras notas herbáceas (figuras 97 a 99).

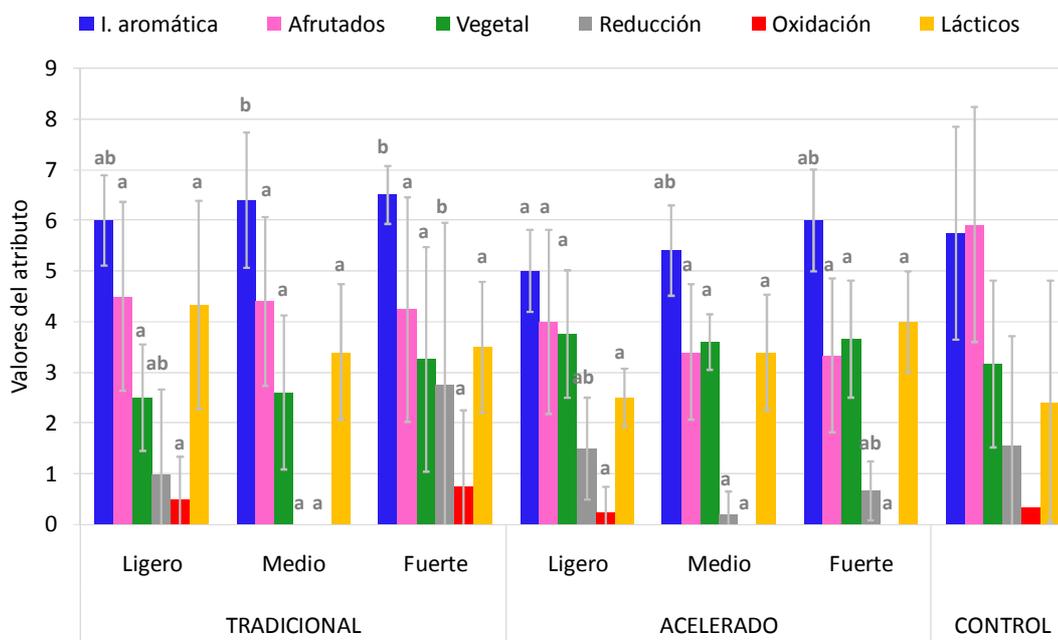


Figura 97- Características organolépticas (Fase olfativa I) del vino tinto envejecido durante 56 días con astillas de *Quercus pyrenaica* Willd.

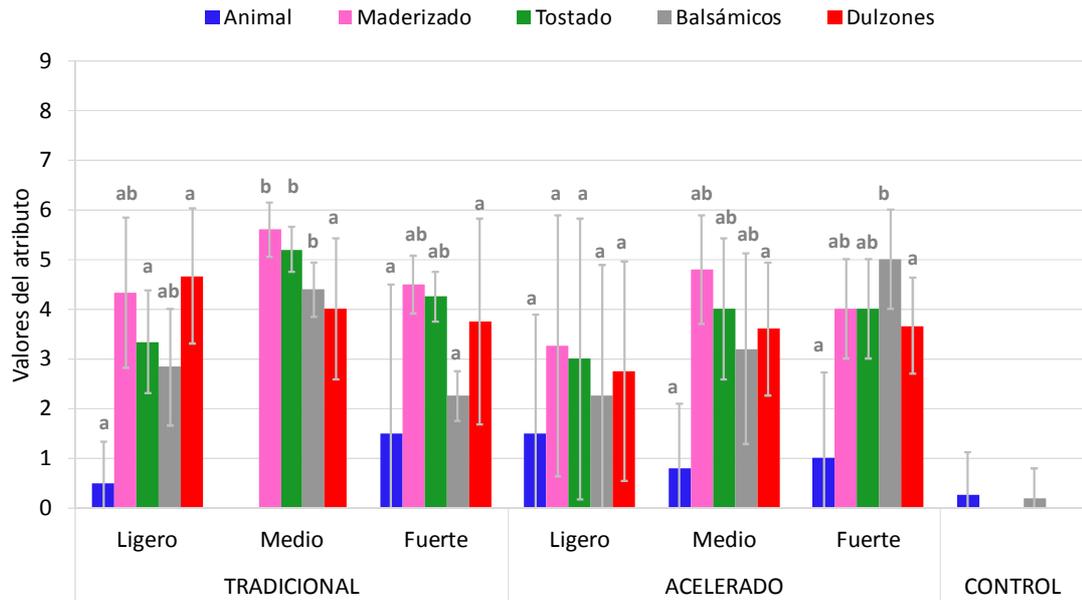


Figura 98- Características organolépticas (Fase olfativa II) del vino tinto envejecido durante 56 días con astillas de *Quercus pyrenaica* Willd.

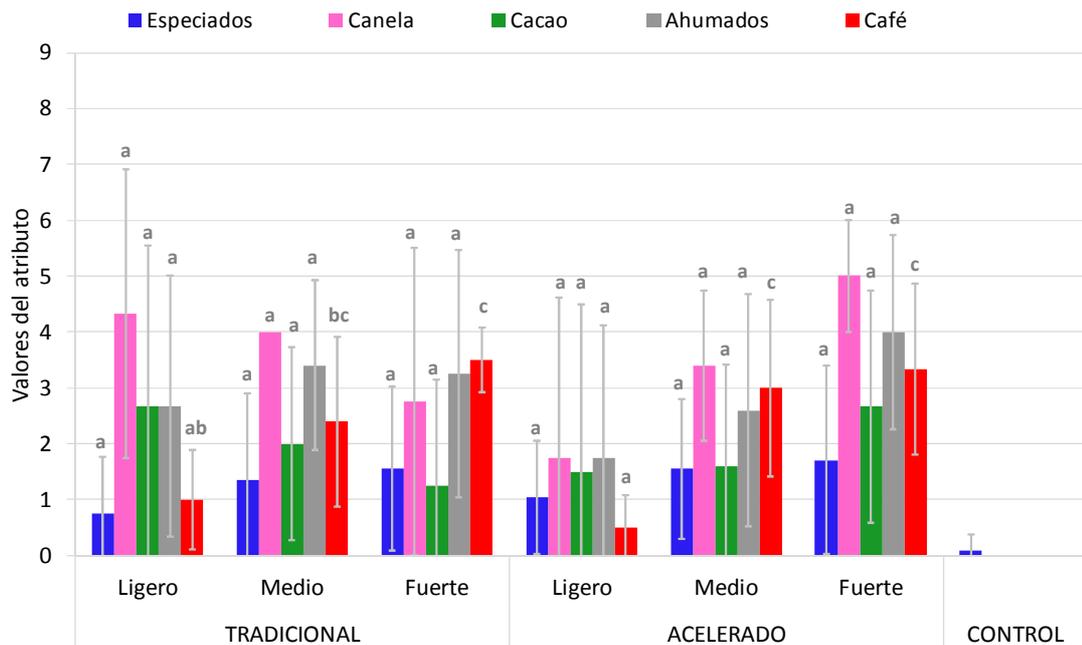


Figura 99- Características organolépticas (Fase olfativa III) del vino tinto envejecido durante 56 días con astillas de *Quercus pyrenaica* Willd.

Respecto a la fase gustativa, se han encontrado diferencias significativas en los atributos de volumen/grasa, intensidad tánica, tanino verde, armonía, persistencia, valoración final y complejidad de los vinos debido al tipo de secado y tostado realizado a las astillas. Se ha observado que, los vinos tratados con astillas de secado acelerado con tostado ligero han presentado menor volumen/grasa, armonía, persistencia y valoración final que al emplear astillas de secado tradicional independientemente del grado de tostado. También los vinos tratados con astillas de secado acelerado de tostado medio y fuerte han sido

significativamente diferentes, mostrando además menor acidez, intensidad tánica, y mayor tanino secante (figuras 100 y 101).

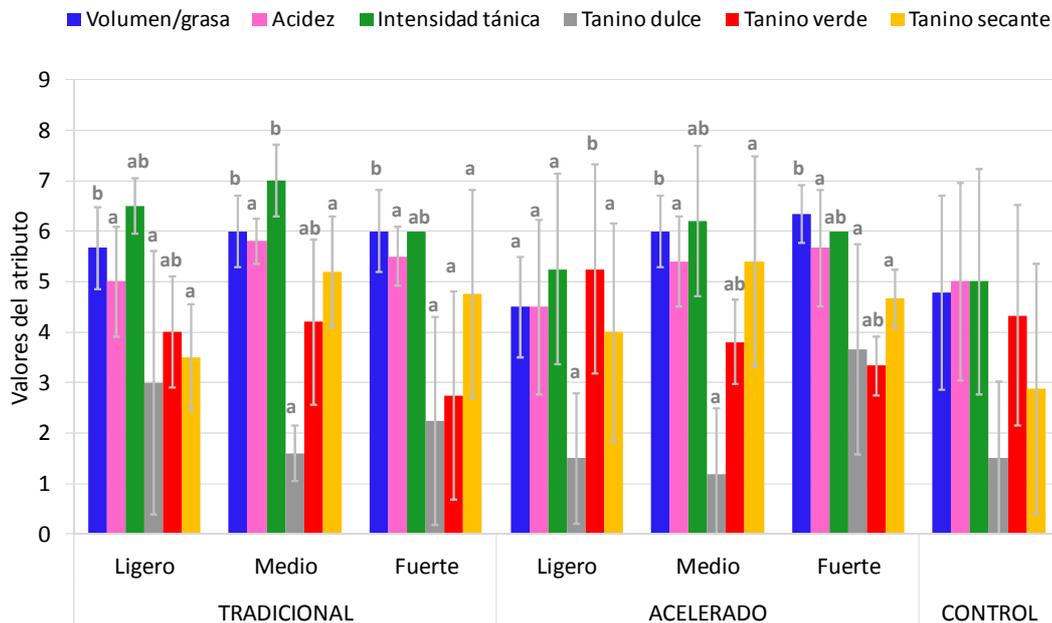


Figura 100- Características organolépticas (Fase gustativa I) del vino tinto envejecido durante 56 días con astillas de *Quercus pyrenaica* Willd.

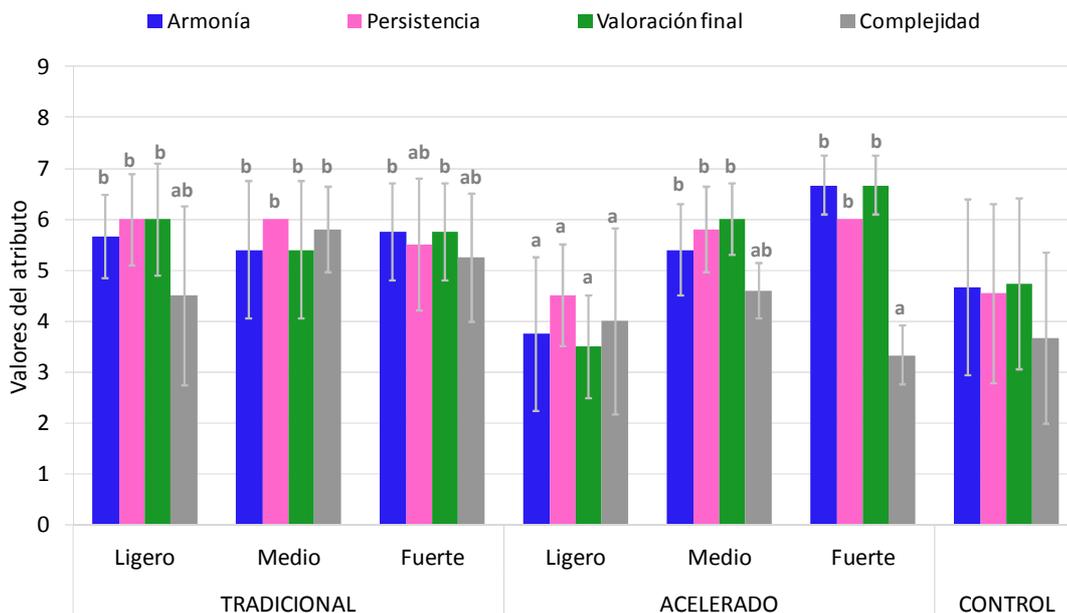


Figura 101 - Características organolépticas (Fase gustativa II) del vino tinto envejecido durante 56 días con astillas de *Quercus pyrenaica* Willd.

### Análisis sensorial de los vinos tras 113 días de envejecimiento

El efecto de los procesos de curado y de tostado de la madera no ha afectado a las características cromáticas de los vinos envejecidos durante casi cuatro meses con astillas de roble español y micro-oxigenación (figura 102). Los vinos estudiados han mostrado tonalidades azuladas y rojas, con gran intensidad colorante.

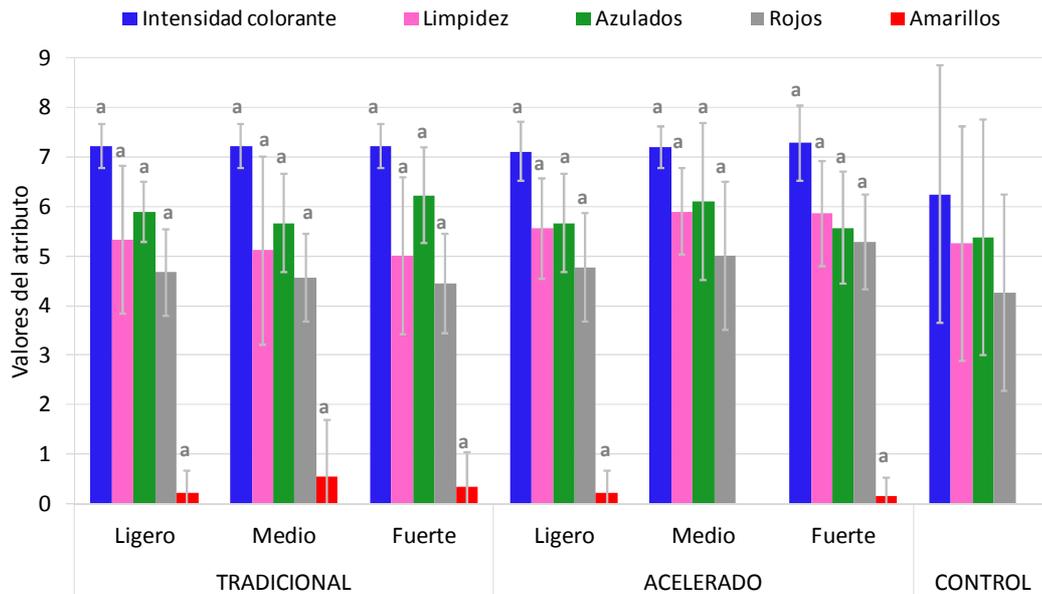


Figura 102- Características organolépticas (Fase visual) del vino tinto envejecido durante 113 días con astillas de *Quercus pyrenaica* Willd.

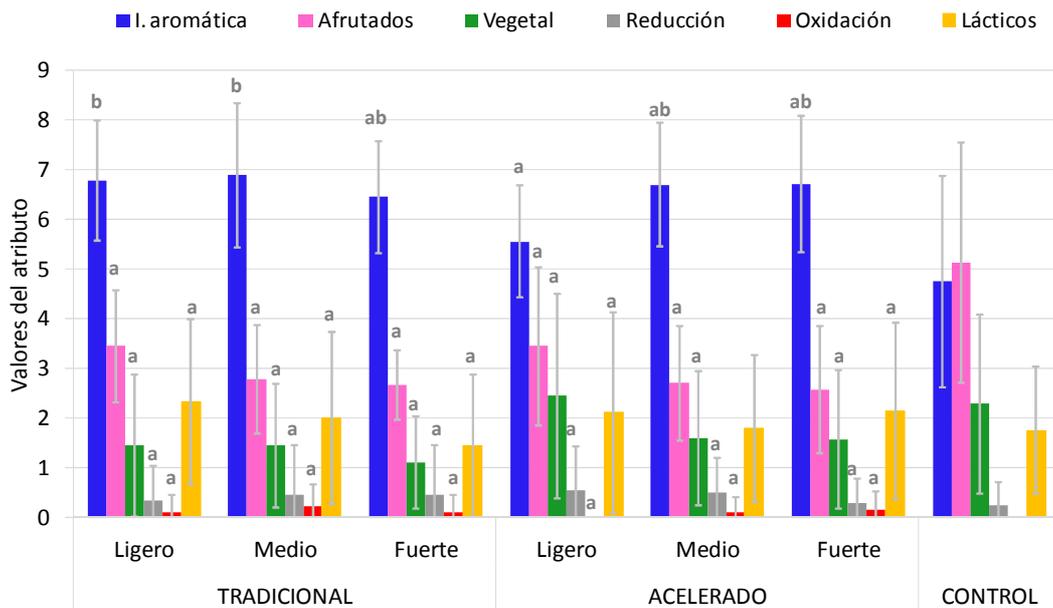


Figura 103- Características organolépticas (Fase olfativa I) del vino tinto envejecido durante 113 días con astillas de *Quercus pyrenaica* Willd.

De manera general, en la fase olfativa los vinos con astillas de secado tradicional y MOX han mostrado notas ligeramente superiores de canela y cacao que los vinos con astillas de secado acelerado y micro-oxigenación, no siendo significativas las diferencias (figuras 103 a 105). En función del secado de la madera, se ha observado que los vinos con astillas de secado tradicional con tostado ligero han presentado significativamente mayor intensidad aromática que al emplear astillas de secado acelerado con tostado ligero para el envejecimiento de los vinos (figura 103).

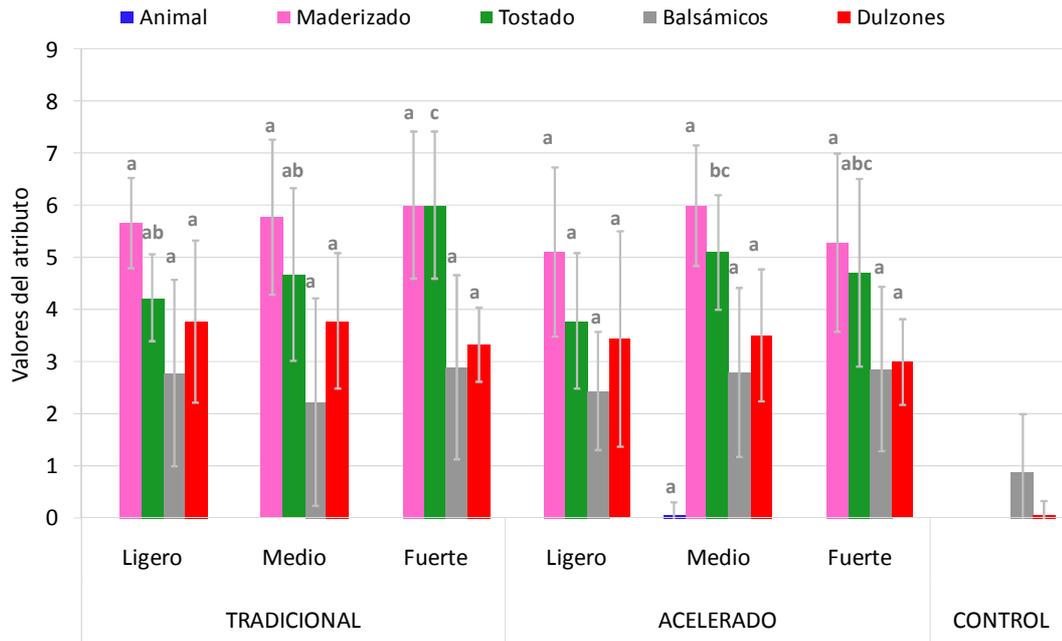


Figura 104- Características organolépticas (Fase olfativa II) del vino tinto envejecido durante 113 días con astillas de *Quercus pyrenaica* Willd

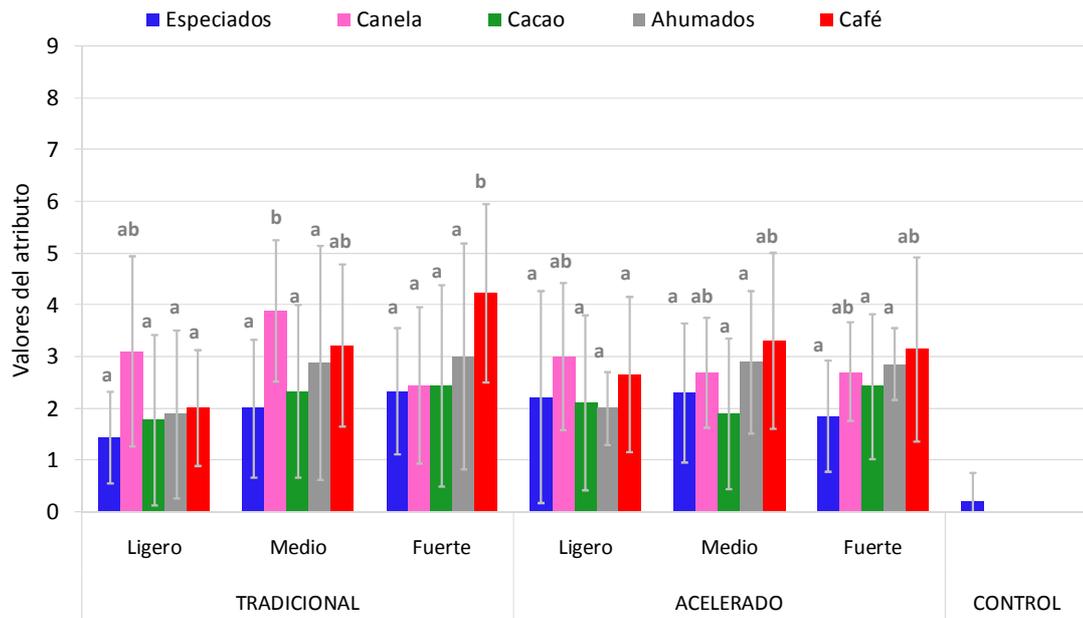


Figura 105- Características organolépticas (Fase olfativa III) del vino tinto envejecido durante 113 días con astillas de *Quercus pyrenaica* Willd

Se ha observado que, el grado de tostado de la madera ha afectado a las características organolépticas relacionadas con el envejecimiento de los vinos, siendo significativas las diferencias en los atributos de café y tostado, aumentando con el nivel de tostado de la madera, y siendo más destacable al emplear madera secada de forma tradicional. Los vinos con astillas de roble español (*Quercus pyrenaica* Willd.) de secado tradicional y MOX han mostrado mayores notas de tostado, maderizado, especiados, cacao, ahumados y café al aumentar la intensidad del tostado de la madera (figuras 104 y 105).

El tipo de secado y el grado de tostado de las astillas no han afectado significativamente a los atributos evaluados de la fase gustativa, presentando en general características semejantes (figuras 106 y 107). Según el grado de tostado de la madera, los vinos tratados con astillas de rebollo con secado tradicional y tostado medio y fuerte han presentado mayor intensidad tánica, tanino verde y tanino secante que al emplear madera de secado tradicional y tostado ligero, siendo significativas las diferencias para la intensidad tánica (figura 106).

Respecto al tostado de la madera, se ha observado un aumento del tanino secante y persistencia en los vinos con astillas de secado tradicional con la intensidad del tostado de la madera, no siendo significativas estas diferencias. Los vinos tratados con astillas de secado tradicional con tostado ligero han presentado significativamente mayor complejidad aromática que al envejecer los vinos con astillas de secado acelerado con tostado ligero (figura 107).

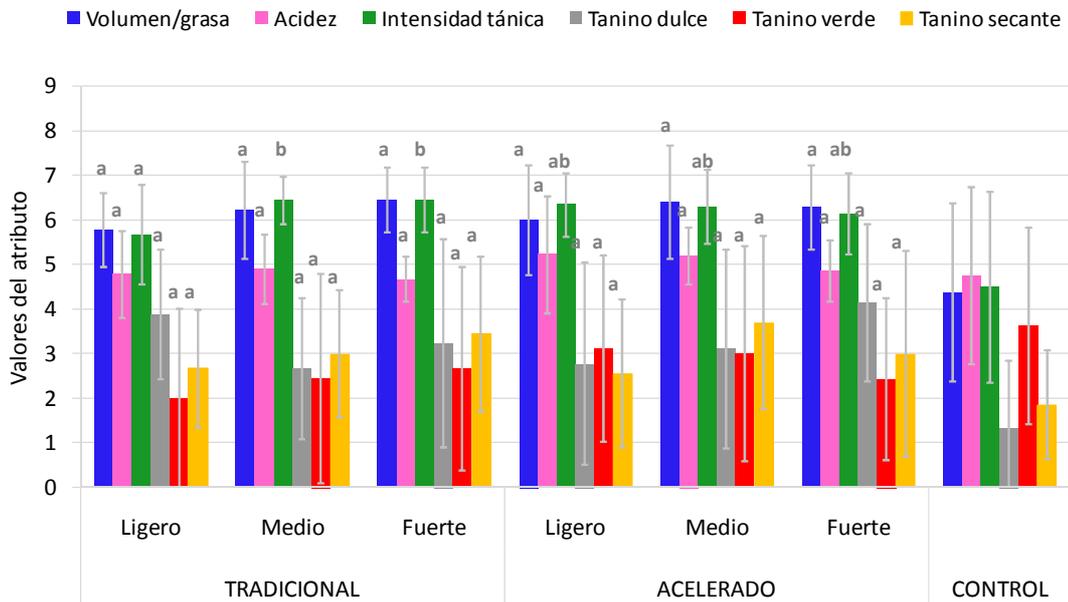


Figura 106- Características organolépticas (Fase gustativa I) del vino tinto envejecido durante 113 días con astillas de *Quercus pyrenaica* Willd

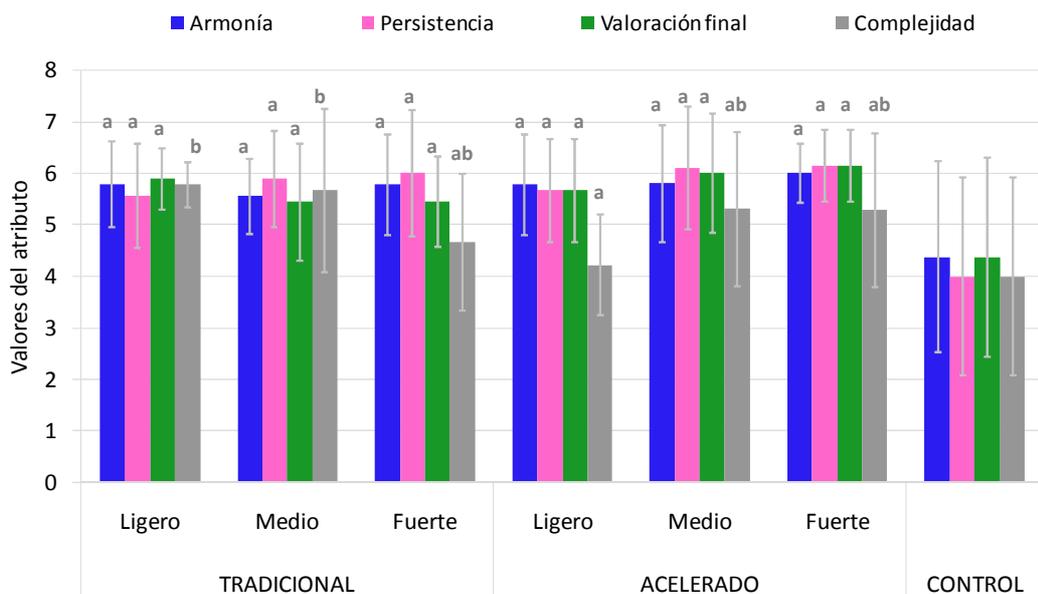


Figura 107- Características organolépticas (Fase gustativa II) del vino tinto envejecido durante 113 días con astillas de *Quercus pyrenaica* Willd

### Análisis sensorial de los vinos tras 6 meses de envejecimiento y 15 días de botella

Los vinos envejecidos durante seis meses con astillas de roble español y micro-oxigenación, y con quince días de botella no han presentado diferencias significativas en los atributos de la fase visual, a excepción de la intensidad colorante. Siendo los vinos tratados con astillas de secado tradicional con tostado medio los que menor intensidad colorante han presentado tras 15 días desde su embotellado, frente a los vinos con astillas de secado acelerado con tostado fuerte cuya intensidad colorante ha sido superior al resto, siendo significativas estas diferencias (figura 108).

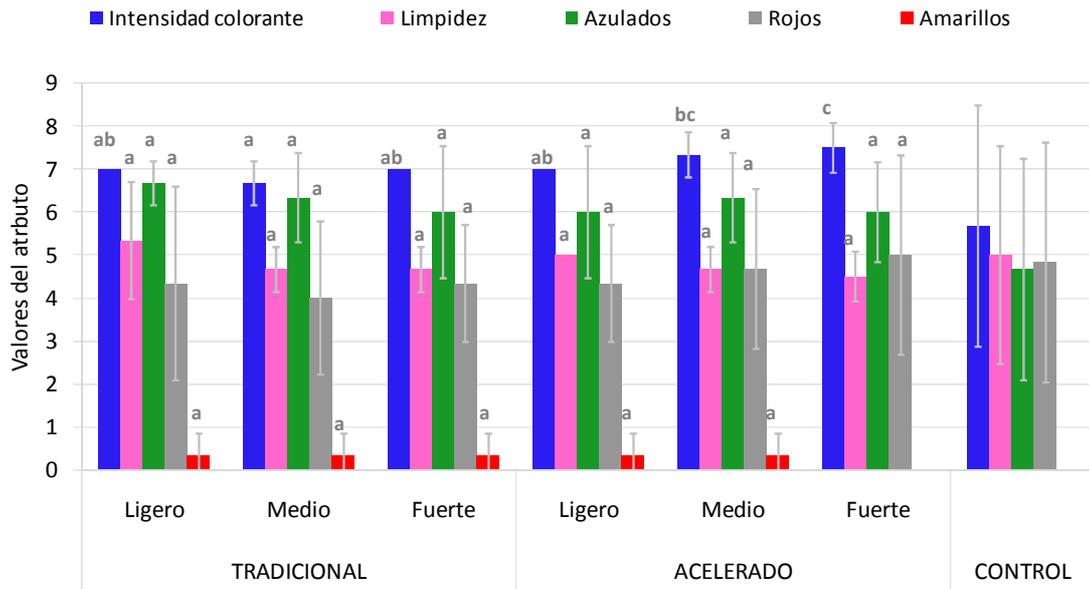


Figura 108- Características organolépticas (Fase visual) del vino tinto envejecido durante 15 días en botella tras permanecer seis meses con astillas de *Quercus pyrenaica* Willd

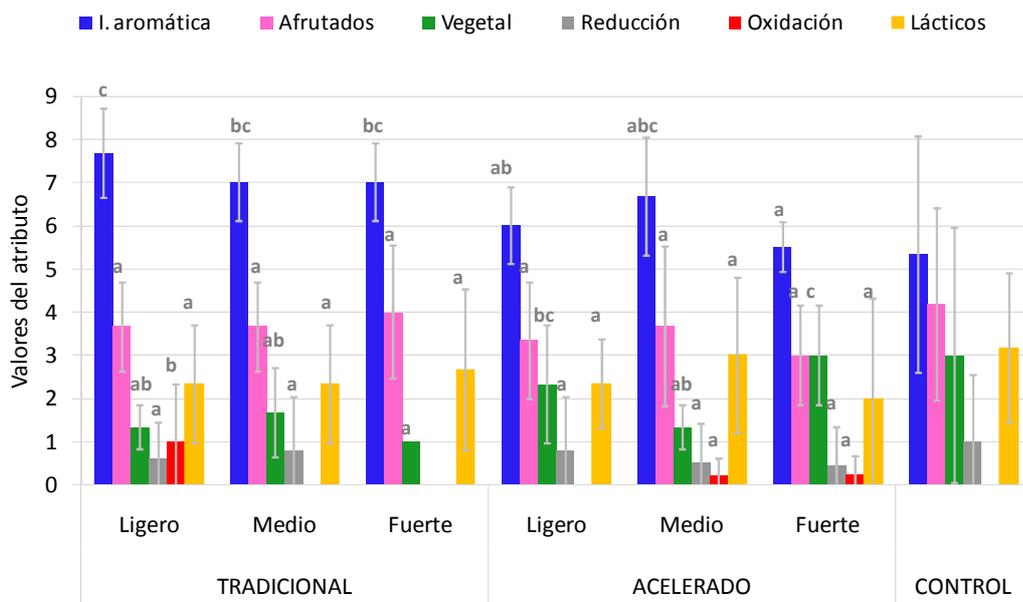


Figura 109- Características organolépticas (Fase olfativa I) del vino tinto envejecido durante 15 días en botella tras permanecer seis meses con astillas de *Quercus pyrenaica* Willd

Respecto a la fase olfativa, los vinos embotellados que previamente han sido envejecidos con astillas de *Quercus pyrenaica* Willd. de secado tradicional han presentado mayor intensidad aromática, balsámicos, cacao, canela y café que los vinos con madera de secado acelerado, siendo significativas estas diferencias para la intensidad aromática. Cabe destacar la intensidad aromática de los vinos embotellados que fueron envejecidos con astillas de secado tradicional con tostado ligero, frente a los vinos de astillas de secado acelerado con tostado ligero y fuerte (figuras 109 a 111).

Los vinos envejecidos con astillas de secado tradicional y tostado ligero han mostrado mayor nivel de oxidación que el resto de vinos, siendo significativas las diferencias (figura 109).

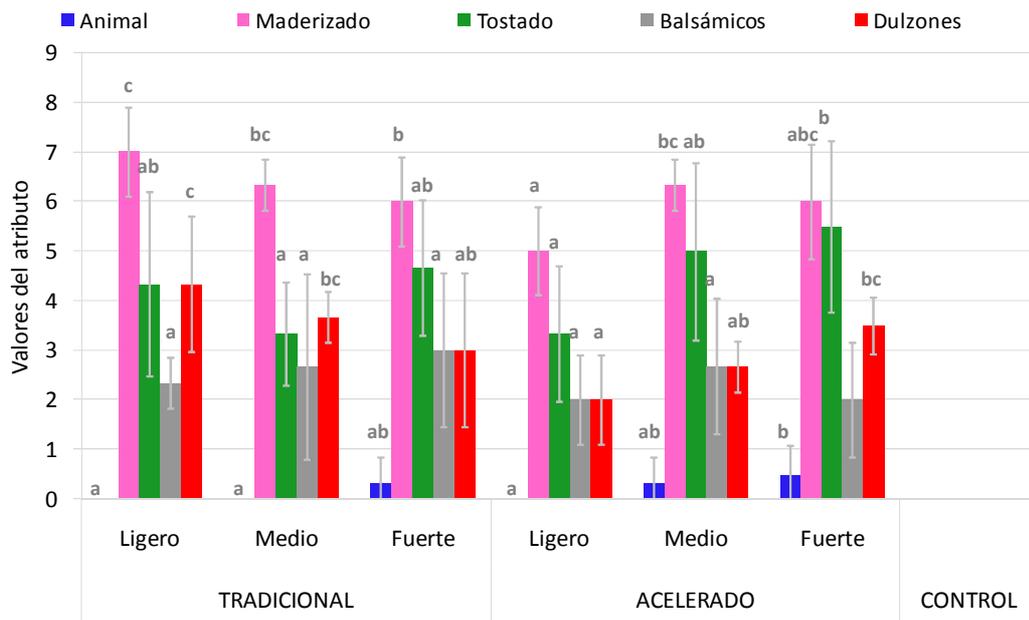


Figura 110- Características organolépticas (Fase olfativa II) del vino tinto envejecido durante 15 días en botella tras permanecer seis meses con astillas de *Quercus pyrenaica* Willd

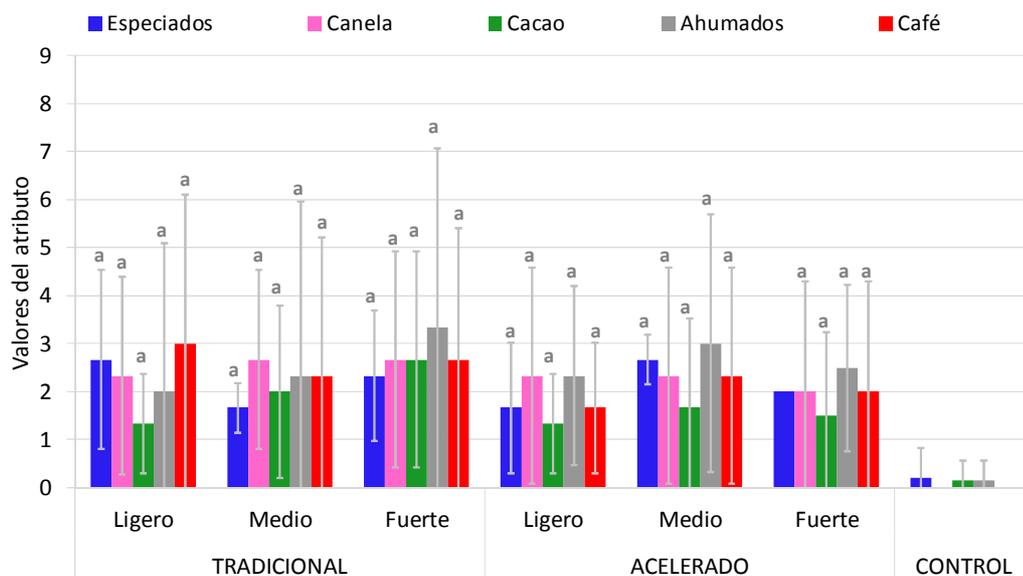


Figura 111- Características organolépticas (Fase olfativa III) del vino tinto envejecido durante 15 días en botella tras permanecer seis meses con astillas de *Quercus pyrenaica* Willd

El grado de tostado de las astillas ha afectado a las características finales de los vinos. La mayor intensidad de tostado de las astillas ha aportado mayores atributos de balsámicos, cacao y ahumados a los vinos tratados con madera de secado tradicional, y mayores notas de tostado, vegetal y animal a los vinos con astillas de secado acelerado, siendo significativas las diferencias encontradas para los atributos vegetal y animal (figuras 110 y 111).

Los vinos con astillas de secado tradicional y tostado fuerte han mostrado menor tanino secante, y mayor armonía y valoración final que al usar astillas de secado tradicional y tostado ligero y medio, no siendo significativas estas diferencias. En la fase gustativa, no se han encontrado diferencias significativas en las características de los vinos según el secado y el tostado de las astillas. Los vinos embotellados con astillas de secado acelerado han mostrado mayor acidez y menor tanino dulce, obviando el grado de tostado (figuras 112 y 113).

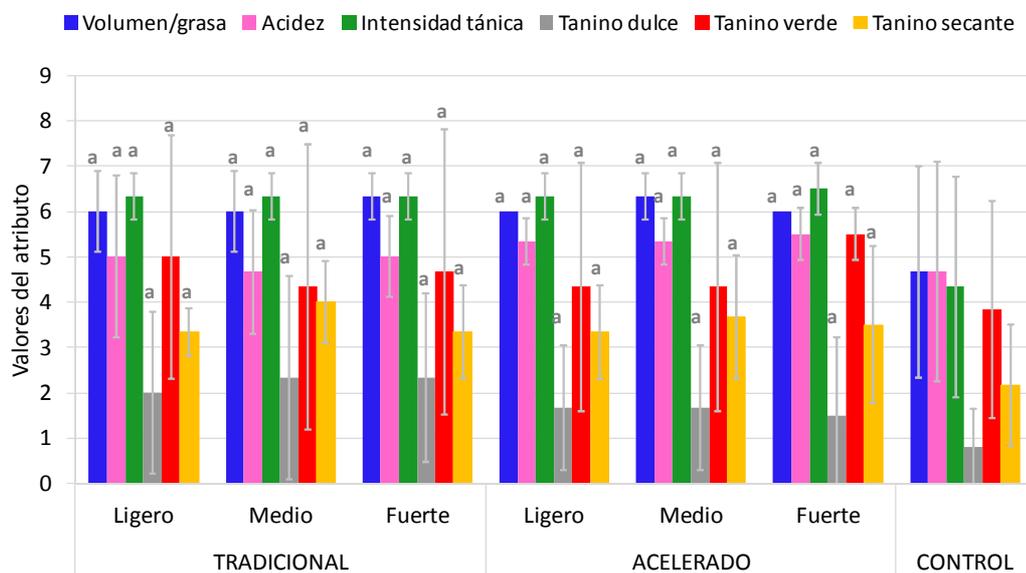


Figura 112- Características organolépticas (Fase gustativa II) del vino tinto envejecido durante 15 días en botella tras permanecer seis meses con astillas de *Quercus pyrenaica* Willd

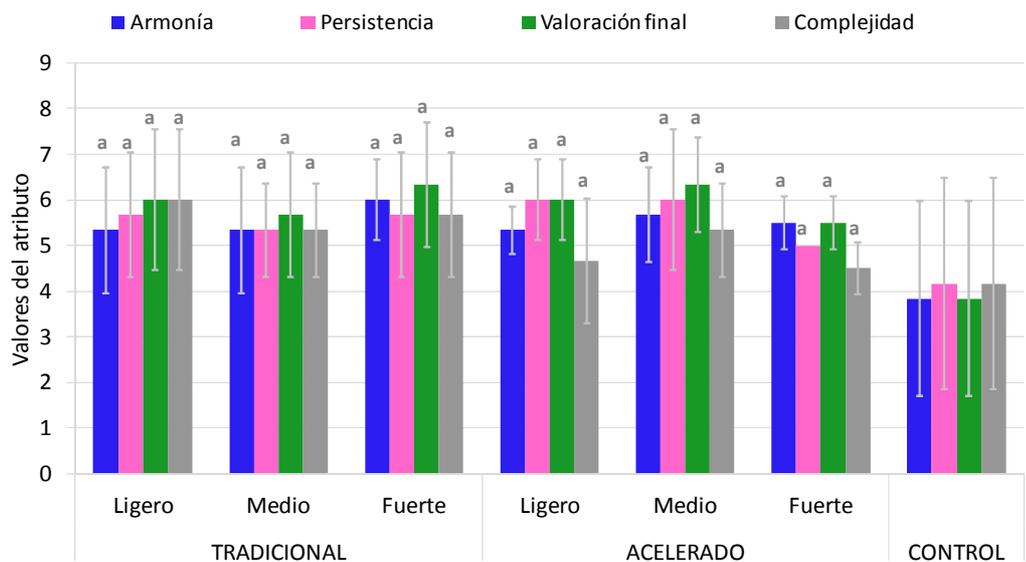


Figura 113- Características organolépticas (Fase gustativa II) del vino tinto envejecido durante 15 días en botella tras permanecer seis meses con astillas de *Quercus pyrenaica* Willd

#### 4.1.7.2. Análisis sensorial de los vinos tintos envejecidos con tablonces de roble *Quercus pyrenaica* Willd.

Los vinos envejecidos con tablonces de roble español y micro-oxigenación han estado 125 días en contacto con la madera. Se ha realizado el análisis sensorial tras 62 y 120 días de envejecimiento con los tablonces de *Quercus pyrenaica* Willd (tabla 7).

##### Análisis sensorial de los vinos tras 2 meses de envejecimiento

Como se observa en la figura 114, no se han detectado diferencias en los descriptores de la fase visual entre los vinos envejecidos con tablonces de roble español con dos tipos de secado y tres intensidades de tostado de la madera, manteniendo estos vinos sus características cromáticas independientemente del tipo de secado y el nivel de tostado de la madera.

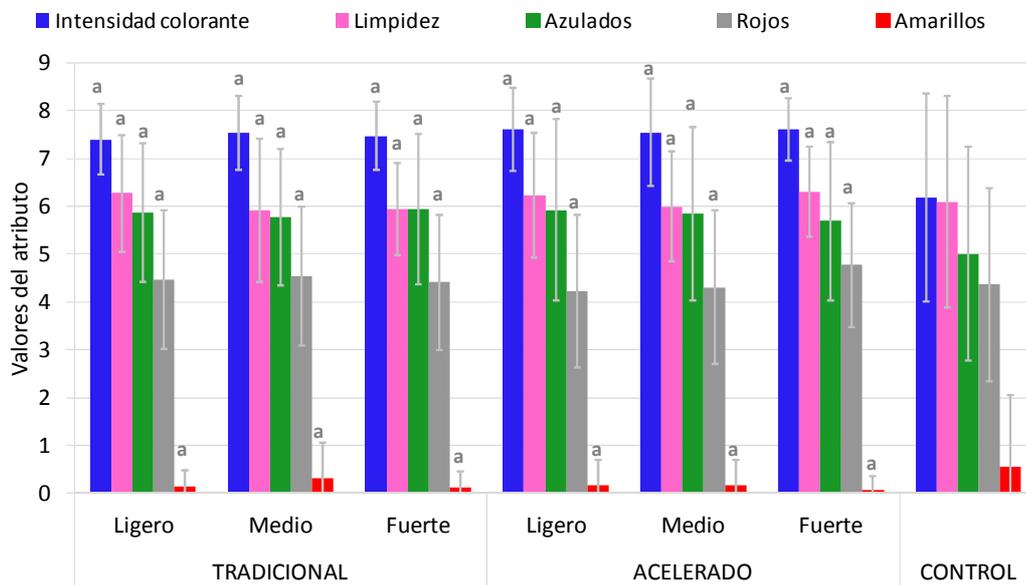


Figura 114- Características organolépticas (Fase visual) del vino tinto envejecido durante dos meses con tablonces de *Quercus pyrenaica* Willd

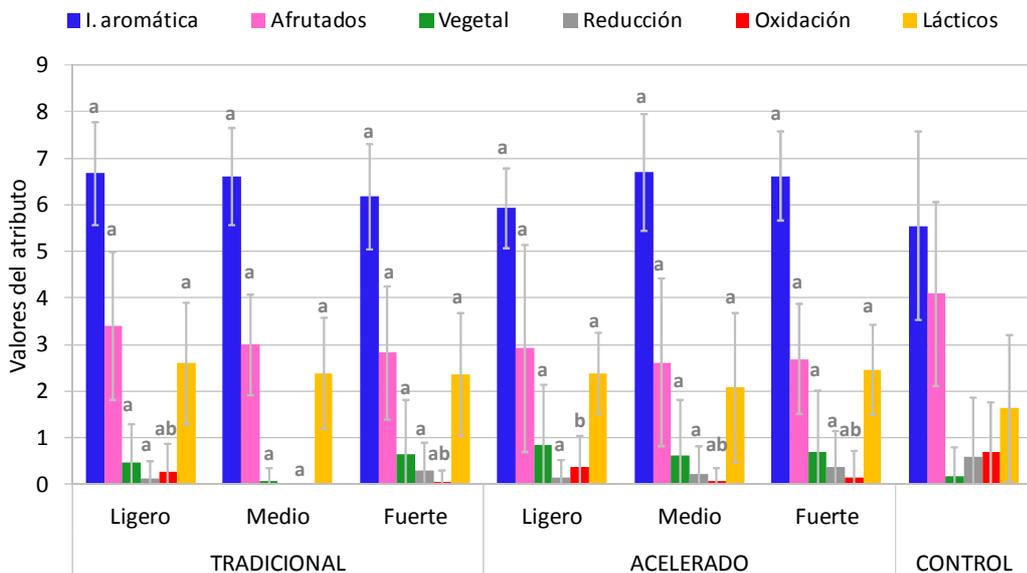


Figura 115- Características organolépticas (Fase olfativa I) del vino tinto envejecido durante dos meses con tablonces de *Quercus pyrenaica* Willd

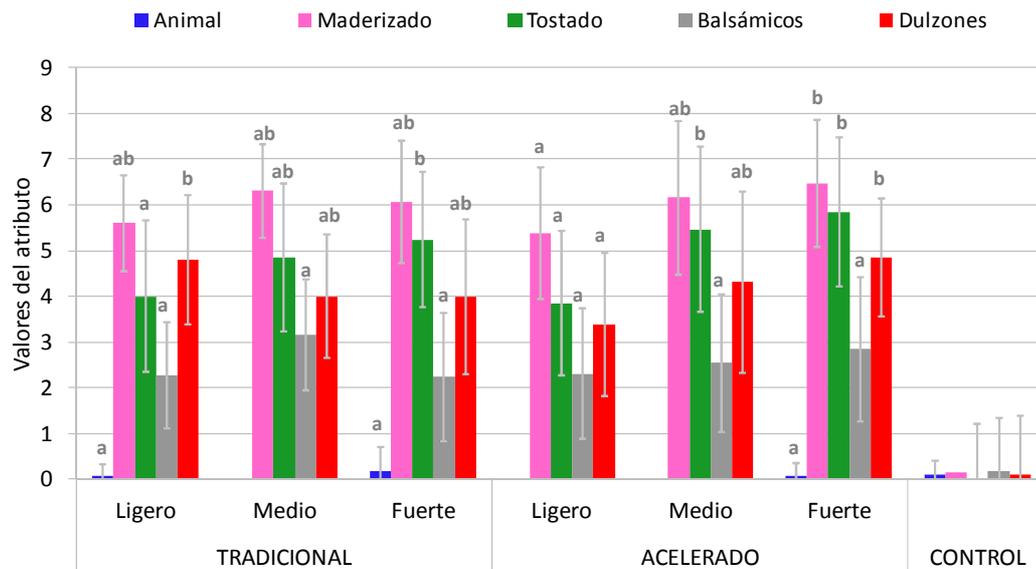


Figura 116- Características organolépticas (Fase olfativa II) del vino tinto envejecido durante dos meses con tabloncillos de *Quercus pyrenaica* Willd

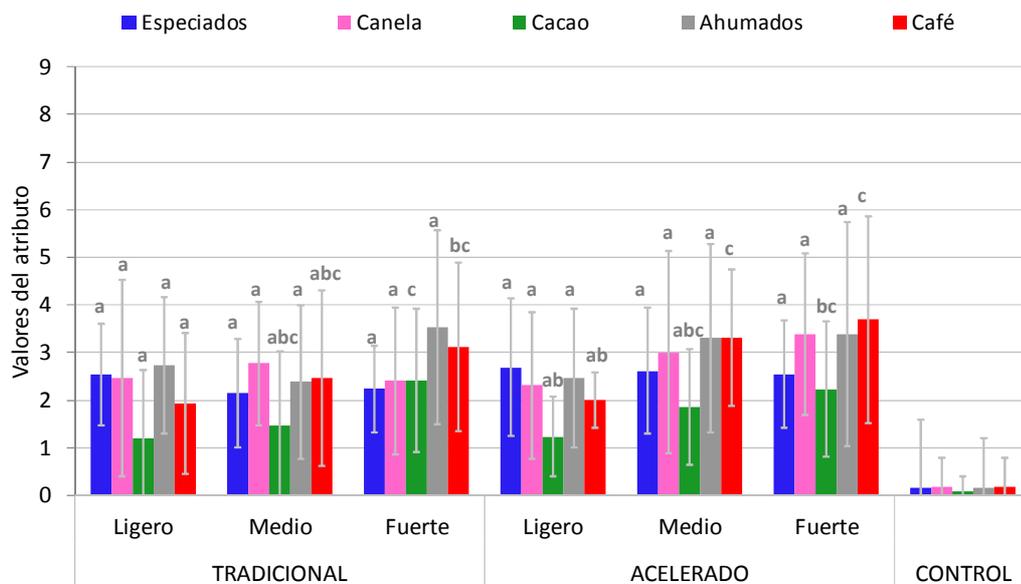


Figura 117- Características organolépticas (Fase olfativa III) del vino tinto envejecido durante dos meses con tabloncillos de *Quercus pyrenaica* Willd

Respecto a la fase olfativa, en general los vinos envejecidos con tabloncillos y micro-oxigenación sometidos a un secado acelerado han presentado mayores notas de café, canela, vegetal, oxidación y especiados, independientemente del tipo de tostado de la madera, no siendo significativas estas diferencias. Se han observado pequeñas diferencias en algunos parámetros de la fase olfativa, los cuales han aumentado con la intensidad de tostado de la madera, como las notas de tostado, cacao, ahumados y café en los vinos con tabloncillos de secado acelerado y tradicional, siendo significativas estas diferencias para los atributos de cacao y café (figuras 115 a 117).

En la fase gustativa, se han encontrado diferencias poco importantes entre los vinos envejecidos con tabloncillos de roble español y micro-oxigenación en función del tipo de secado y el tostado de la madera tras dos meses de envejecimiento. Únicamente destacar que los

vinos con madera de tostado ligero han presentado menor acidez, intensidad tánica, tanino verde y complejidad aromática que al emplear tablones de tostado medio y fuerte en el envejecimiento de los vinos, independientemente del tipo de secado de la madera, siendo significativas estas diferencias para la complejidad aromática de los vinos con tablones de secado acelerado. En general, los vinos con tablones de secado tradicional han presentado mayor persistencia que al emplear tablones de secado acelerado, no siendo significativas estas diferencias (figuras 118 y 119).

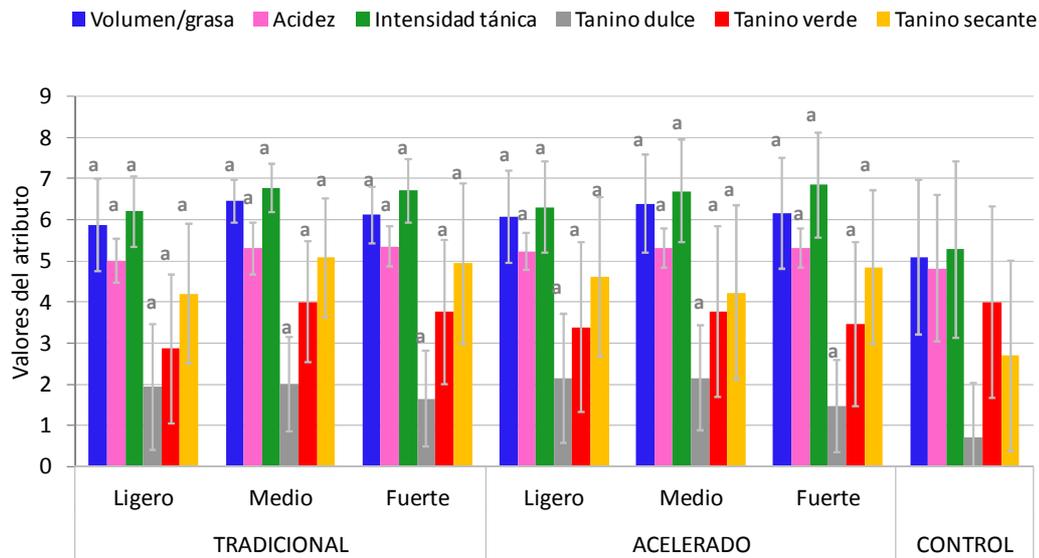


Figura 118- Características organolépticas (Fase gustativa I) del vino tinto envejecido durante dos meses con tablones de *Quercus pyrenaica* Willd

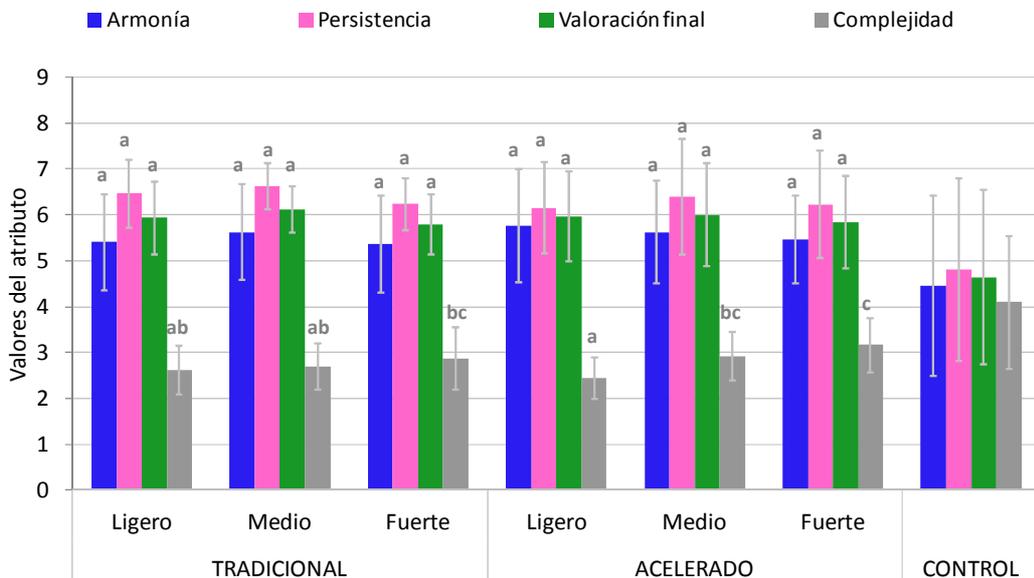


Figura 119- Características organolépticas (Fase gustativa II) del vino tinto envejecido durante dos meses con tablones de *Quercus pyrenaica* Willd

### Análisis sensorial de los vinos tras 4 meses de envejecimiento

Tras cuatro meses de envejecimiento con tablonos y micro-oxigenación, los vinos estudiados no han presentado diferencias apreciables en los parámetros de la fase visual según el tipo de tostado de la madera, no afectando por tanto a las características cromáticas de los vinos. Sin embargo, los vinos envejecidos con tablonos de secado tradicional y micro-oxigenación han presentado mayor limpidez que los vinos con madera de secado acelerado, afectando significativamente el tipo de secado de la madera a la limpidez de los vinos estudiados (figura 120).

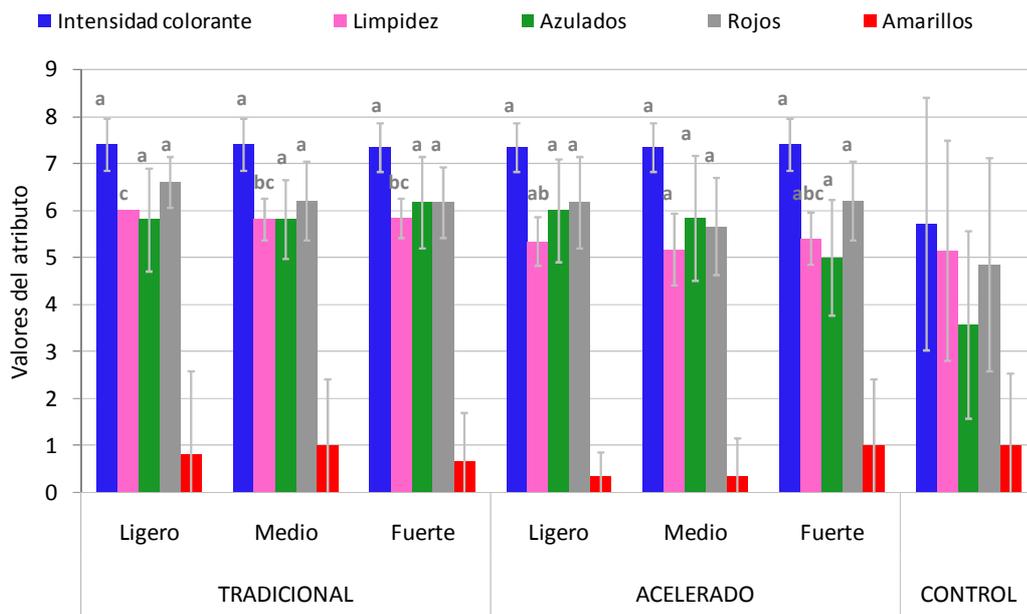


Figura 120- Características organolépticas (Fase visual) del vino tinto envejecido durante cuatro meses con tablonos de *Quercus pyrenaica* Willd

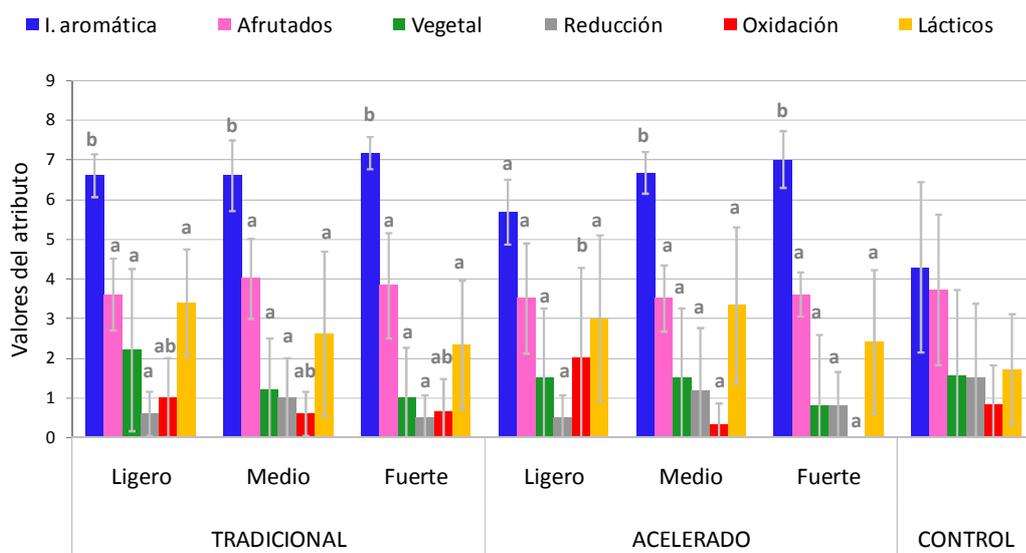


Figura 121- Características organolépticas (Fase olfativa I) del vino tinto envejecido durante cuatro meses con tablonos de *Quercus pyrenaica* Willd

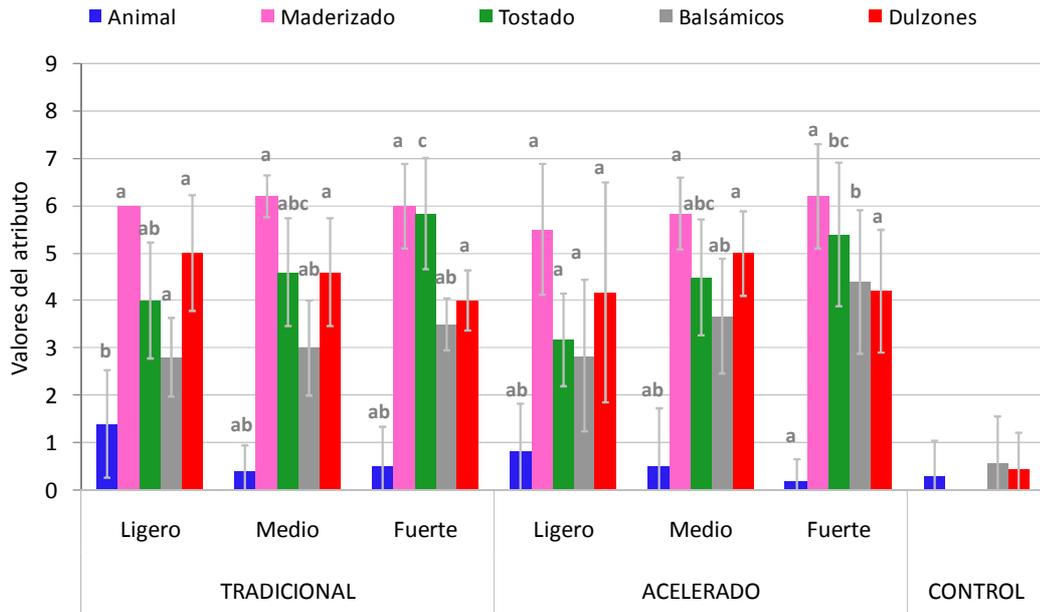


Figura 122- Características organolépticas (Fase olfativa II) del vino tinto envejecido durante cuatro meses con tabloncillos de *Quercus pyrenaica* Willd

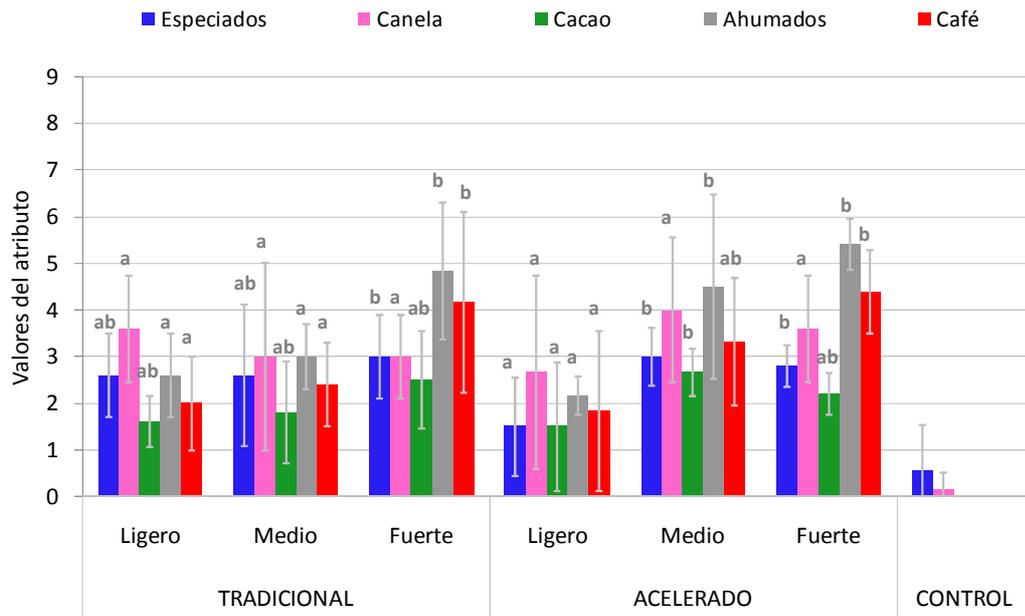


Figura 123- Características organolépticas (Fase olfativa III) del vino tinto envejecido durante cuatro meses con tabloncillos de *Quercus pyrenaica* Willd

En la fase olfativa, se han observado mayores diferencias en los vinos estudiados en función del grado de tostado que según el tipo de secado de la madera. Aumentando la intensidad aromática y las notas de maderizado, tostado, ahumados y café en los vinos al aumentar la intensidad de tostado de la madera, siendo significativas las diferencias para la intensidad aromática, y los atributos de tostado, ahumados y café. El tipo de secado de la madera no ha afectado significativamente a las características organolépticas estudiadas de la fase olfativa de los vinos. En general, se han encontrado resultados similares en los atributos de la fase olfativa estudiados en los vinos envejecidos con tabloncillos de *Quercus pyrenaica* Willd. y MOX (figuras 121 a 123).

Respecto a la fase gustativa, no se han encontrado diferencias significativas según el tipo de secado e intensidad de tostado de la madera. En general, los vinos con secado acelerado han sido más tánicos y astringentes, al presentar un contenido ligeramente superior de intensidad tánica y tanino secante que los vinos envejecidos con tabloncillos de *Quercus pyrenaica* Willd. de secado tradicional y micro-oxigenación, no siendo significativas las diferencias (figura 124).

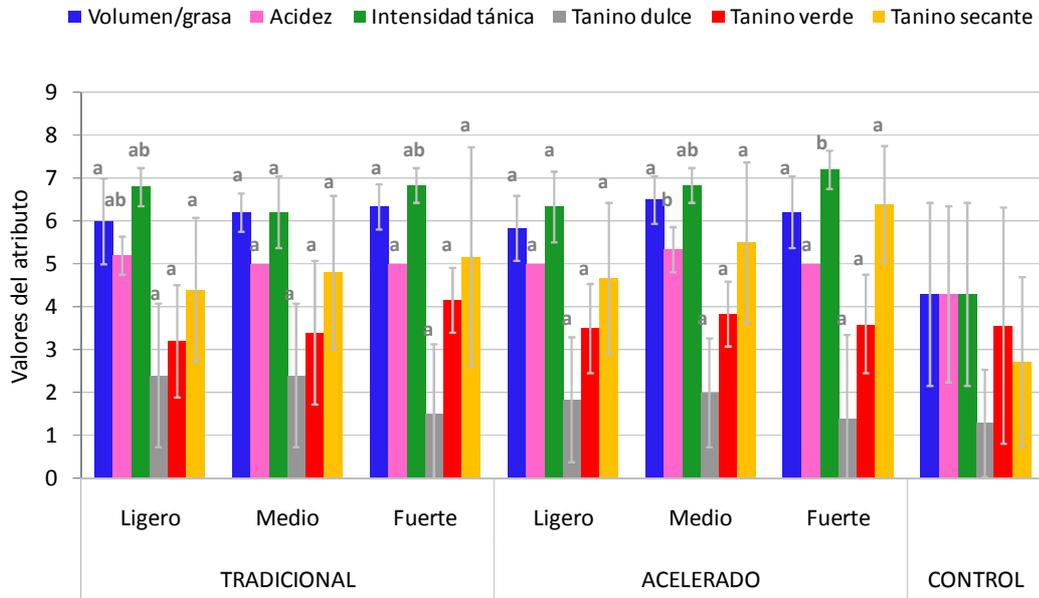


Figura 124- Características organolépticas (Fase gustativa I) del vino tinto envejecido durante cuatro meses con tabloncillos de *Quercus pyrenaica* Willd

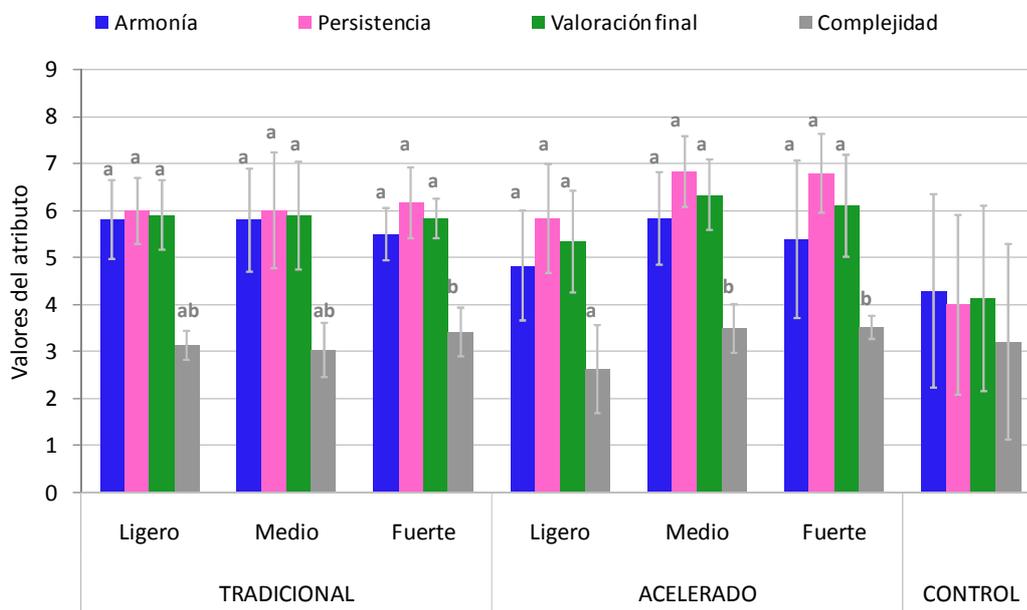


Figura 125- Características organolépticas (Fase gustativa II) del vino tinto envejecido durante cuatro meses con tabloncillos de *Quercus pyrenaica* Willd

Según el grado de tostado de la madera, se ha observado que el tanino secante y la persistencia en los vinos han aumentado con el nivel de tostado de los tabloncillos de roble español, especialmente en los vinos con tabloncillos de secado tradicional, no siendo significativas estas diferencias (figuras 124 y 125).

## 4.2. Análisis discriminante

Por último, con el fin de diferenciar los vinos envejecidos con astillas y tablonos de *Quercus pyrenaica* Willd. y micro-oxigenación, se ha realizado un análisis discriminante con los parámetros analizados en el vino que presentaron diferencias estadísticamente significativas según el tipo de secado o el grado de tostado de la madera empleada ( $p$  level < 0,05).

Se han estudiado las familias de compuestos fenólicos, el color, la edad química, los parámetros de copigmentación, y los compuestos antocianicos, volátiles procedentes de la madera y de bajo peso molecular durante los cuatro meses de envejecimiento y posteriormente durante su permanencia en botella. Se pretende así conocer la capacidad de clasificación de las variables analizadas en los vinos tratados con astillas y tablonos de *Quercus pyrenaica* Willd. teniendo en cuenta el grado de tostado de la madera (ligero, medio y fuerte) y el tipo de secado de la madera (acelerado y tradicional).

Las tablas 23-26 muestran los coeficientes estándar de las funciones discriminantes 1, 2 y 3 del análisis canónico discriminante de los vinos envejecidos con astillas y tablonos de roble español (*Quercus pyrenaica* Willd.) durante el envejecimiento en madera y botella.

Las figuras 126 a 133 representan gráficamente el resultado del análisis discriminante de las muestras de vino estudiadas según las variables analizadas estadísticamente significativas durante los periodos de contacto del vino con la madera y de botella.

Tras 169 días de envejecimiento, la clasificación matriz del análisis canónico discriminante según las variables del color, las familias de compuestos fenólicos y los parámetros básicos ha sido superior al 66% en los vinos tratados con astillas de roble español de secado tradicional y acelerado y micro-oxigenación, y mayor del 60% en los vinos envejecidos con tablonos de roble español y micro-oxigenación. Se han clasificado correctamente un 83,33 y un 75 % de los vinos envejecidos con astillas de roble español de tostado ligero con secado tradicional y acelerado respectivamente. El 66,6 y 83,3% de los vinos tratados con astillas de secado acelerado de tostado medio y fuerte respectivamente, y más del 66% de los vinos tratados con astillas de roble español de secado tradicional con tostado ligero y medio y micro-oxigenación se han clasificado correctamente.

Un 70% de los vinos con tablonos de secado tradicional con tostado ligero y medio, y el 60% de los vinos envejecidos con tablonos de secado tradicional de tostado fuerte han sido clasificados convenientemente. Se han clasificado correctamente el 70% (vinos con tablonos de tostado ligero y fuerte) y 80% (vinos con tablonos de tostado medio) de los vinos al utilizar tablonos de roble español de secado acelerado y micro-oxigenación para el envejecimiento de los vinos.

La clasificación matriz del análisis discriminante de los compuestos de bajo peso molecular, antocianos y volátiles procedentes de la madera de las muestras de vino tratadas con astillas y tablonos de roble español de secado acelerado y tradicional, y distintas intensidades de tostado + MOX ha sido superior al 80%. Los vinos con astillas de secado acelerado con tostado medio, y las muestras de vino con tablonos de secado tradicional de tostado medio, y acelerado de tostado ligero y medio han presentado una clasificación matriz del 100%.

Tabla 23- Resultados del análisis discriminante de los parámetros básicos, color y familias de compuestos fenólicos de los vinos envejecidos con astillas y tablonos de roble español durante su envejecimiento en madera

	Astillas			Tablonos		
	F1	F2	F3	F1	F2	F3
Polifenoles totales	-0,3253	0,3961	0,4727	-0,8837	1,0581	-0,1107
Catequinas	-0,6462	0,4813	0,5628	-0,2339	-1,8907	0,7466
Antocianos totales	0,9663	-2,2639	0,9249	-2,5873	0,2112	0,9784
Taninos	0,3545	-0,1179	0,3209	-0,1447	-0,4298	0,1850
A420	-1,8066	0,5148	-0,8613	-0,4685	-1,8946	2,9967
A620	0,9805	0,5315	0,3434	1,2992	-0,2179	-0,0101
$\alpha$	-4,2771	0,2182	-2,1468	2,1297	0,7516	0,6738
i	-1,9683	0,1917	-2,4620	-0,8347	-1,1795	5,2351
ii	1,9595	-0,9843	1,2852	-1,8121	-1,4605	-2,0216
C	-3,5785	0,3703	-0,4279	-2,6898	11,2071	2,9237
TA	4,2290	-0,8513	-0,5871	5,0392	-4,9516	-5,4841
COP	-4,6671	1,4074	-2,4261	1,2304	-12,4555	-0,0172
AL	-9,5175	1,0620	-1,5476	-7,9022	0,6517	11,1472
HCl	0,8960	0,5964	0,3857	-2,3480	-2,7916	0,2628
IIIn	1,0114	0,7806	0,1365	-1,1336	-1,1760	3,0250
Grado alcohólico	-0,4819	-1,0999	-0,2301	-0,6880	-0,0104	0,6263
Acidez total	-0,5177	-0,5172	-0,0595	-1,0078	0,6907	-0,1208
Acidez volátil	-0,0743	0,0680	0,7205	-0,2400	0,1778	0,2309
Az. Reductores	-0,6355	-1,1724	-0,0604	-0,0023	0,1639	-1,0960
SO <sub>2</sub> total	1,2591	-0,6080	0,1556	0,0143	0,1311	-0,0910
Málico	0,3197	-0,2896	-0,5312	0,1031	0,1836	0,2733
Potasio	-0,3133	0,4778	-0,3059	-0,0224	0,2571	0,0259
Glicerol	0,1246	-0,0805	0,0377	-0,2822	0,0372	1,5136
Tartárico	-0,4037	1,1727	0,2380	0,5064	-1,1981	-0,5708
Eigenval	2,0140	1,8364	1,0214	2,0739	1,5070	0,9811
Cum. Prop	0,3265	0,6242	0,7898	0,3781	0,6529	0,8318

Tabla 24- Resultados del análisis discriminante de los compuestos fenólicos de bajo peso molecular, antocianos y Volátiles procedentes de la madera de los vinos envejecidos con astillas y tablones de roble español durante su envejecimiento en madera

	Astillas			Tablones		
	F1	F2	F3	F1	F2	F3
Ácido gálico	2,0883	-0,6634	1,7878	-2,4308	0,1533	0,0637
Aldehído protocatéuico	1,8912	-0,8603	-0,7237	1,0014	-0,4339	-1,0923
Catequina	0,4387	0,1324	0,6244	0,7320	-0,2407	-0,4671
Epicatequina	-1,0209	0,7866	1,3469	-1,4012	-0,5557	-0,0571
Ácido <i>p</i> -cumárico	0,7139	0,5861	-1,8002	0,2931	0,5759	-0,9668
Ácido protocatéuico	0,1499	0,3365	0,5084	0,7085	0,5344	0,4636
Ácido vainillínico	-0,2146	-0,2026	0,4469	-0,8698	-0,4738	1,5443
Ácido trans-caftárico	-1,1432	0,0206	-1,4900	2,0915	-0,1577	-0,9613
Ácido gentísico	1,2415	2,2373	-0,7019	0,4544	-0,5022	0,0914
Ácido trans-cutárico	-1,8528	0,2428	-1,2504	0,3336	-0,0302	0,3140
Ácido clorogénico	4,0823	-4,0258	6,8658	0,0653	0,0048	-0,3402
Ácido caféico	1,8083	-3,3763	3,1999	-0,7937	-0,5532	0,8869
Ácido sinápico	-0,1535	0,0167	-0,3658	-2,0772	0,1509	0,0523
Cianidín 3 glucósido	0,6084	-0,3174	0,1350	1,1691	-0,1761	0,1628
Vitisín A	-0,6636	0,9201	0,3882	-1,1157	-1,4849	-0,5668
Mv 3 Gl etil epic.	0,5186	-0,4882	0,2494	0,4004	0,0927	0,1134
Pe 3 Gl acetilado	0,1077	0,9423	2,0786	1,4102	0,2279	-0,5168
Mv 3 Gl acetilado	0,6751	0,0496	-0,1644	0,3186	0,1451	-0,1531
Ci 3 Gl cumarilado	0,1751	-0,4214	0,0060	0,3932	0,5337	0,5779
Mv 3 Gl cumarilado C	-0,4763	-0,7569	-1,4817	0,5054	0,1738	0,1570
Mv 3 Gl cumarilado T	-0,1845	-0,0624	-0,1739	-3,3133	0,2795	0,0504
Furfural	-0,0673	0,5779	-0,1584	-0,4871	0,2079	1,4414
5MF	-0,8870	1,3585	-0,7821	0,8555	-0,4811	-0,2348
Guayacol	0,2170	-0,0649	-0,8556	-1,8557	-0,2041	-0,1174
Trans W-lactona	-1,6333	0,4071	0,5855	1,7593	-3,5789	2,1437
Cis W-lactona	1,7656	-1,5319	0,6854	-2,9634	4,6560	-1,2802
Eugenol	0,0856	0,6405	0,3650	0,4839	0,3545	-0,4913
4 etil fenol	0,1207	0,0676	0,1735	0,1484	-0,0405	-0,3840
Isoeugenol	0,1232	0,9644	0,7572	0,8561	0,2491	0,0281
5HMF	1,0134	-0,4928	-0,0093	2,5544	-0,1379	-0,0411
Vainillina	-1,0754	-0,4367	0,7821	-1,8473	-0,4245	-0,3151
Acetovainillona	0,6484	-0,4764	-0,3492	2,1651	0,7683	-0,3987
Siringaldehído	-0,6592	-0,2487	-0,0731	-1,1473	-0,1185	0,3096
Eigenval	3,9112	3,0385	2,4508	8,6076	3,7007	3,3311
Cum. Prop	0,2983	0,5301	0,7171	0,4192	0,5994	0,7616

Durante el periodo de permanencia del vino con la madera, la evolución de los vinos envejecidos con astillas y tablones de *Quercus pyrenaica* Willd. ha sido muy similar, siendo difícil su diferenciación según el tipo de secado y la intensidad de tostado de la madera, especialmente al tener en cuenta los parámetros básicos, las familias de compuestos fenólicos

y el color de los vinos (figuras 126 a 129). Durante este periodo de contacto del vino con la madera se ha observado cierta distancia entre las muestras de cada grupo (figuras 126 a 129).

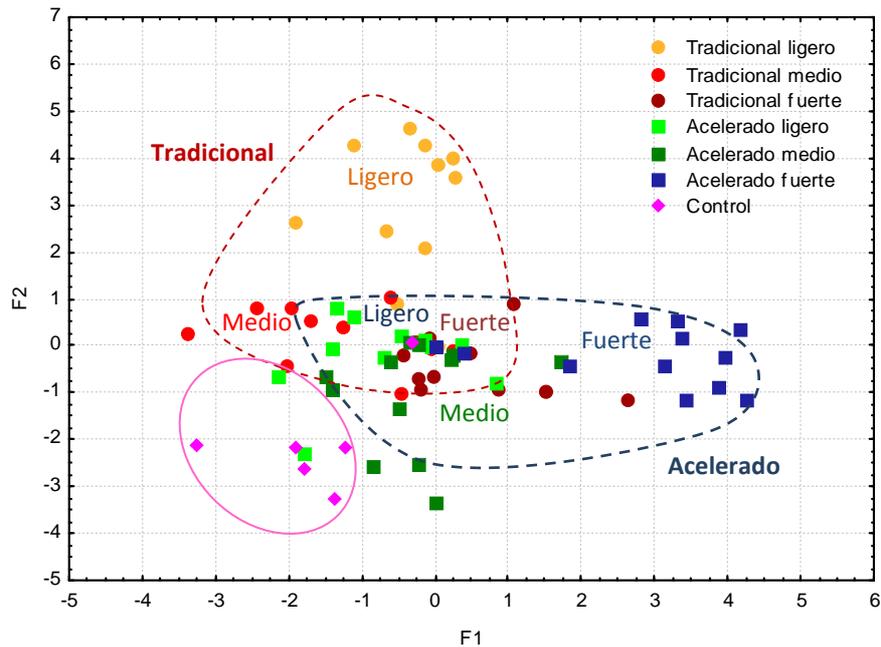


Figura 81- Representación del análisis discriminante de los parámetros básicos, color y familias de compuestos fenólicos de los vinos envejecidos durante 169 días con astillas de roble español de secado tradicional y acelerado, y tostado ligero, medio y fuerte

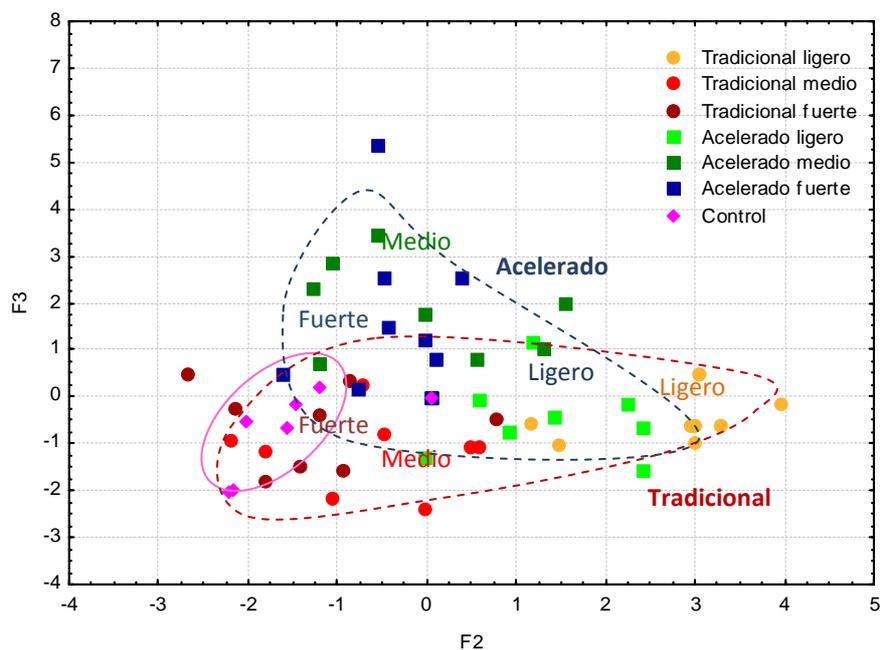


Figura 126- Representación del análisis discriminante de los parámetros básicos, color y familias de compuestos fenólicos de los vinos envejecidos durante 125 días con tabloncillos de roble español de secado tradicional y acelerado, y tostado ligero, medio y fuerte

Las muestras envejecidas con astillas de roble español situadas en el eje positivo de la función discriminante 1 (F1) (muestras de vino envejecidas con astillas de secado acelerado con tostado fuerte) han quedado definidas por el contenido de taninos, glicerol, componente azul (A620), los índices de ionización y HCl, y los parámetros  $i_i$  de edad química y TA de

copigmentación, presentando estos vinos mayor contenido de taninos e índice de ionización, mientras que el contenido de catequinas, componente amarilla (A420) y los parámetros de edad química y copigmentación  $\alpha$ , C, COP y AL han definido a los vinos situados en el eje negativo.

La distribución de los vinos en el eje Y (F2) ha quedado expresada por el contenido de antocianos totales y de azúcares reductores, y por el grado alcohólico en el eje negativo. El contenido de potasio y ácido tartárico han sido las variables que más han influido en los vinos situados en el eje positivo de la función discriminante 2 (vinos tratados con astillas de *Quercus pyrenaica* Willd. con secado tradicional de tostado ligero) (tabla 23, figura 126).

Los vinos envejecidos con tabloncillos de tostado ligero independientemente del tipo de secado al que ha sido sometido la madera, se han localizado en el eje positivo de F2, quedando definidos por el contenido de polifenoles totales y potasio (tabla 23, figura 127). El contenido de catequinas, taninos, parámetro COP de copigmentación, índice de HCl y ácido tartárico han sido las variables que más han influido en los vinos situados en el eje negativo de F2 (muestras de vinos tratados con tabloncillos de roble español de secado tradicional con tostado fuerte), siendo vinos con menor contenido de catequinas y taninos, y mayor grado de polimerización de estos taninos, y por tanto vinos menos astringentes. En el eje positivo de la función discriminante 3 han participado de manera importante la componente amarilla (A420), el índice de ionización, el contenido de ácido málico y glicerol, y los parámetros AL e i de copigmentación y edad química, destacando los vinos envejecidos con tabloncillos de secado acelerado con tostado medio y fuerte por presentar un envejecimiento más rápido, siendo vinos más evolucionados, y con mayor contenido de glicerol (tabla 23, figura 127).

La función discriminante 2 ha permitido diferenciar y clasificar a los vinos envejecidos durante 169 días con astillas y micro-oxigenación según el tipo de secado de la madera (tradicional y acelerado) (figura 128). Los vinos con astillas de secado tradicional han quedado situados en el eje negativo de F2, el cual ha quedado definido por el contenido de ácido caféico y de cianidín 3 *o*-cumarilglucósido (tabla 24, figura 128). Los vinos con astillas de secado acelerado y MOX se han localizado en la zona positiva de F2, correlacionado con el contenido de ácido gálico, vitisin A, furfural, 5MF, eugenol e isoeugenol, estando definidos estos vinos por las elevadas concentraciones de furfural e isoeugenol (tabla 24, figura 128).

Tras casi seis meses de envejecimiento, los vinos envejecidos con astillas de tostado ligero y medio y micro-oxigenación, independientemente del tipo de secado sometido a la madera, han quedado situados muy próximos, situándose estos vinos en el eje positivo de F1, siendo el ácido gálico, malvidín 3 *o*-acetilglucósido y malvidín 3 *o*-glucósido etil epicatequina las variables que más han influido (tabla 24, figura 128). Los vinos tratados con astillas de tostado fuerte han mostrado durante el envejecimiento en madera mayores concentraciones de vainillina y siringaldehído (tabla 24, figura 128).

En la figura 129, los vinos envejecidos con tabloncillos de *Quercus pyrenaica* Willd. sometidos a un secado tradicional y MOX han quedado situados muy próximos, independientemente del grado de tostado de la madera, encontrándose en el eje positivo de la función discriminante F2, estando definidos estos vinos por el mayor contenido de cis W-lactona. Las muestras de

vino tratadas con tablonos de roble español de secado acelerado con tostado fuerte se han situado en el eje negativo de la función canónica 2 (F2) y 1 (F1), mostrando estos vinos un elevado contenido de vainillina, siringaldehído, y menor concentración de ácido gálico y malvidín 3 *o*-cumarylglucósido isómero Trans. Los vinos con tablonos de secado acelerado de tostado medio, situados en el eje positivo de F1 han presentado mayor contenido de 5HMF, y ácidos trans-caftárico y trans-cutárico (tabla 24, figura 129).

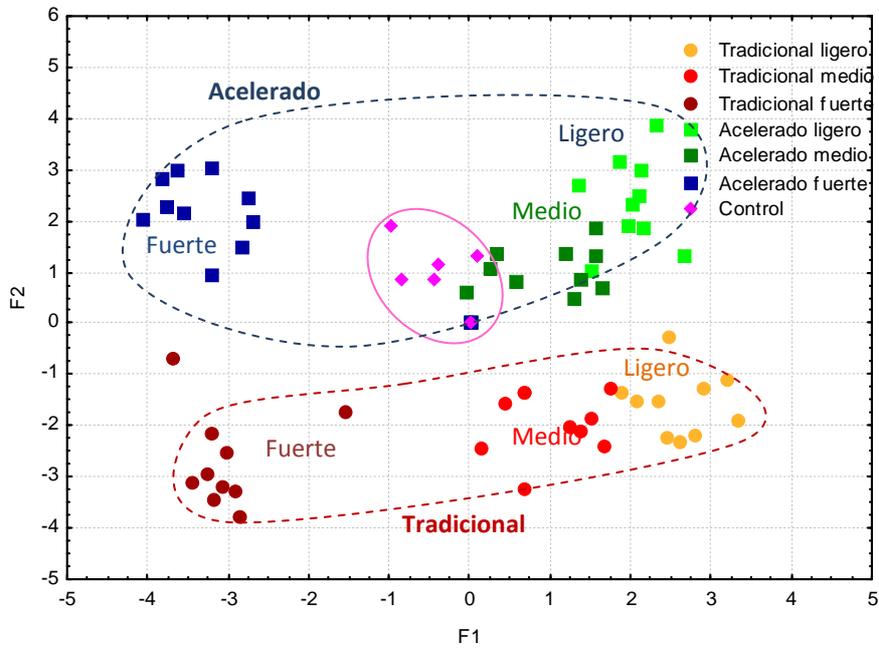


Figura 127- Representación del análisis discriminante de los compuestos fenólicos de bajo peso molecular, antocianos y volátiles procedentes de la madera de los vinos envejecidos durante 169 días con astillas de roble español de secado tradicional y acelerado, y tostado ligero, medio y fuerte

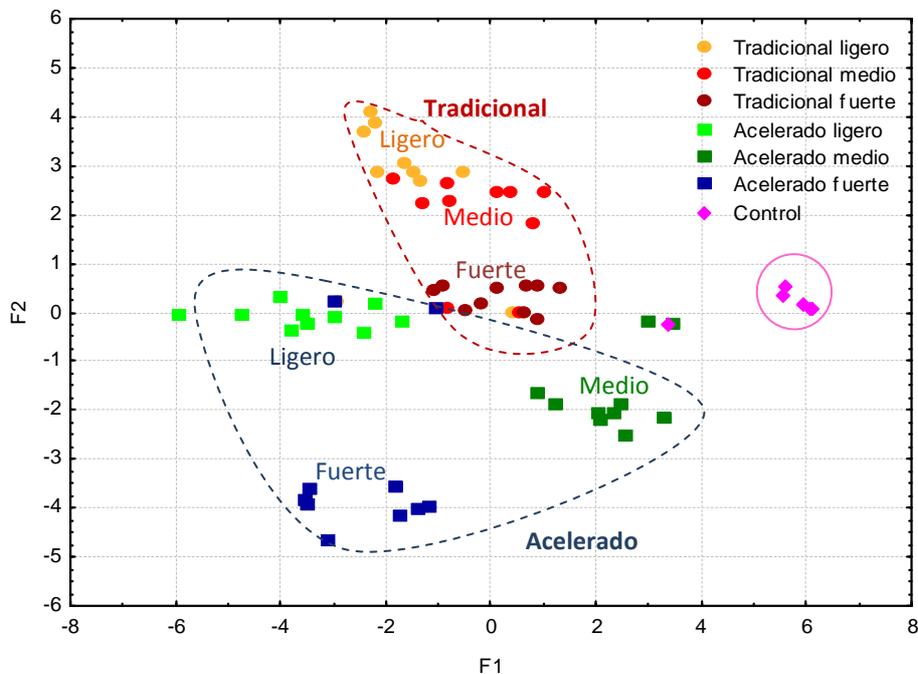


Figura 128- Representación del análisis discriminante de los compuestos fenólicos de bajo peso molecular, antocianos y volátiles procedentes de la madera de los vinos envejecidos durante 125 días con tablonos de roble español de secado tradicional y acelerado, y tostado ligero, medio y fuerte

Tabla 25- Resultados del análisis discriminante de los parámetros básicos, color y familias de compuestos fenólicos de los vinos envejecidos con astillas y tablones de roble español durante su envejecimiento en botella

	Astillas			Tablones		
	F1	F2	F3	F1	F2	F3
Polifenoles totales	-25,4040	10,1120	6,8410	-12,8930	15,0220	2,5206
Catequinas	16,8030	-10,3950	0,2850	-62,1590	115,8870	-0,7429
Antocianos totales	-90,5110	78,3980	6,1120	329,8280	-31,7010	7,9253
Taninos	21,6370	-23,5140	13,0810	349,3990	14,5050	10,4448
A420	70,3190	-64,1080	21,6810	-41,7000	14,1180	2,8379
A520	-0,1030	4,7600	6,8770	-11,4300	0,91260	-0,2154
A620	6,2990	-7,1030	-2,5560	15,2200	-61,4580	3,8851
$\alpha$	-89,4890	56,9720	10,5720	21,3560	-94,2630	11,4611
$\alpha\alpha$	-93,4120	89,0700	0,0560	262,0490	375,7260	-16,6751
i	-855,4430	564,2700	201,8330	579,2100	478,2510	-23,9625
ii	656,0300	-433,1030	-243,9280	-750,6200	-714,8600	31,0322
C	90,3910	110,8800	177,4140	-265,2630	112,9530	-35,9788
TA	-520,6490	-171,1980	41,5640	-139,7680	-342,5520	27,6962
Ep	171,0770	14,1660	-20,5100	82,9070	60,1630	1,8168
FC	-20,6590	4,9470	-12,1270	25,9720	33,0210	-0,2604
TP	-26,7990	47,0310	-23,7070	-0,76580	11,0520	0,7937
COP	221,9400	86,2920	-240,7740	395,4850	-19,2590	27,4051
AL	251,0390	105,3320	-57,5590	294,5170	264,7010	-17,1065
HCl	-91,2430	39,4920	14,0610	-35,8320	12,8120	3,7369
Etanol	9,8590	2,8760	-3,4390	12,1020	-17,6650	-3,0080
Gelatina	6,5740	4,4780	-3,0460	-14,8790	27,5770	-0,0718
Acidez total	-2,0870	10,2960	7,7240	-21,2780	0,79760	-0,3876
Acidez volátil	-0,8220	3,6120	4,9360	0,06760	14,7820	-1,2089
Az. Reductores	20,3000	12,2740	-24,9410	-0,90540	-15,0360	-0,8515
SO <sub>2</sub> libre	-1,2210	7,1890	6,3230	-0,79420	-0,13330	1,9364
Eigenval	5938,3010	798,4970	139,0040	2470,0530	590,6220	8,4697
Cum. Prop	0,8520	0,9670	0,9860	0,7755	0,9610	0,9875

Tabla 26- Resultados del análisis discriminante de los compuestos fenólicos de bajo peso molecular, antocianos y volátiles procedentes de la madera de los vinos envejecidos con astillas y tablones de roble español durante su envejecimiento en botella

	Astillas			Tablones		
	F1	F2	F3	F1	F2	F3
Ácido gálico	-267,3300	199,2900	15,2220	0,2403	0,1612	1,2776
Catequina	-6,9400	0,3000	-0,8510	-0,7596	5,0030	0,1749
Ácido siríngico	45,9500	-32,8500	0,5150	-1,4423	4,1389	-0,4683
Epicatequina	-4,8400	-0,0600	-0,4810	5,3470	6,7365	-1,0868
Ácido <i>p</i> -cumárico	-118,6400	84,5000	4,8160	2,1766	1,2830	-0,1240
Ácido protocatéquico	252,3700	-90,8700	-13,5270	1,8604	-1,4669	-0,6371
Delfinidín 3 glucósido	-29,5600	-129,2600	-9,5000	-58,0781	14,8308	-3,1230
Cianidín 3 glucósido	395,7000	-65,1200	-35,2200	38,2125	18,6804	-3,1218
Petunidín 3 glucósido	550,1800	-505,4200	13,6190	48,9842	-42,8355	26,1707
Peonidín 3 glucósido	-840,4700	140,8500	6,5970	-10,9671	12,6298	-3,1489
Malvidín 3 glucósido	-11,7200	5,8200	-11,3870	-42,3288	16,3887	-18,1075
Vitisín A	-735,8200	728,1600	51,3160	45,5474	-2,6682	-3,4497
Mv 3 Gl etil epic.	-484,0200	34,7500	16,7050	9,0158	-13,6766	9,6822
Pe 3 Gl acetilado	-49,7400	25,3100	-0,5340	1,5169	5,7076	-0,9381
Mv 3 Gl acetilado	-392,1500	240,6400	37,0550	6,4919	-11,3996	-5,6772
Ci 3 Gl cumarilado	488,8200	-269,2900	-17,0460	67,1806	-60,2983	-14,3660
Mv 3 Gl cumarilado C	3762,0700	-2347,2800	-204,1330	-10,5568	-6,0866	15,4477
Pt 3 Gl cumarilado	-2572,2400	2623,2600	-134,6620	-6,6297	25,1483	-0,2155
Mv 3 Gl cumarilado T	-219,1700	-122,5800	14,3240	2,5654	-0,4468	-2,3574
Furfural	68,6800	-95,9400	-6,8480	8,1608	1,2645	-0,1615
5MF	-121,9300	361,1500	-11,6340	-12,7564	10,6361	-1,2272
Alcohol bencílico	-0,9500	8,1800	2,1910	-1,4682	7,2830	0,2315
Eugenol	-15,8100	0,9800	-0,6330	-0,2430	3,8691	0,6394
4 etil fenol	-8,0400	-0,1100	0,2320	-1,6030	-5,1369	-0,5008
Isoeugenol	90,7400	0,3900	-3,8990	2,1240	-5,7300	0,9605
5HMF	4,1700	-15,15	-0,8210	10,9779	-0,8455	4,3345
Vainillina	-8,5900	12,2400	9,1590	-0,7248	-2,5296	-2,4376
Siringaldehído	14,9300	9,3100	-4,1770	1,8553	-1,7773	0,7375
Eigenval	90275,8900	18927,8100	83,4750	294,7220	97,7053	32,3140
Cum. Prop	0,8300	1,0000	0,9990	0,6357	0,8465	0,9162

Durante el periodo de botella, la clasificación matriz del análisis discriminante de las muestras de vino tratadas con astillas y tablones de roble español con secado tradicional y acelerado y distintas intensidades de tostado y micro-oxigenación ha sido del 100%.

El contenido de fenoles totales (monómeros y taninos) y el contenido de anhídrido sulfuroso libre han sido las variables que más han influido en los vinos situados en el eje positivo de la función canónica 2 (F2), presentando los vinos embotellados envejecidos previamente con astillas de roble español de secado acelerado de tostado ligero y medio mayor contenido de sulfuroso libre y mayor riqueza en fenoles totales (tabla 25, figura 130).

En la función canónica 1 (F1) han participado de manera importante la componente amarilla (A420), catequinas, los índices de etanol y gelatina, y los parámetros  $i$ ,  $E_p$  y  $AL$  de edad química y copigmentación en el eje positivo, y el contenido de  $PT$ , antocianos totales, índice de  $HCl$ , y los parámetros de edad química y copigmentación  $\alpha, \alpha\alpha, i, TA$  y  $FC$  en el eje negativo. Presentando los vinos con astillas de secado tradicional con tostado medio y fuerte mayores tonalidades pardas, menores polimerizaciones entre taninos y compuestos antociánicos y mayor porcentaje de taninos combinados con polisacáridos (vinos con mayor volumen y suavidad en boca) (tabla 25, figura 130).

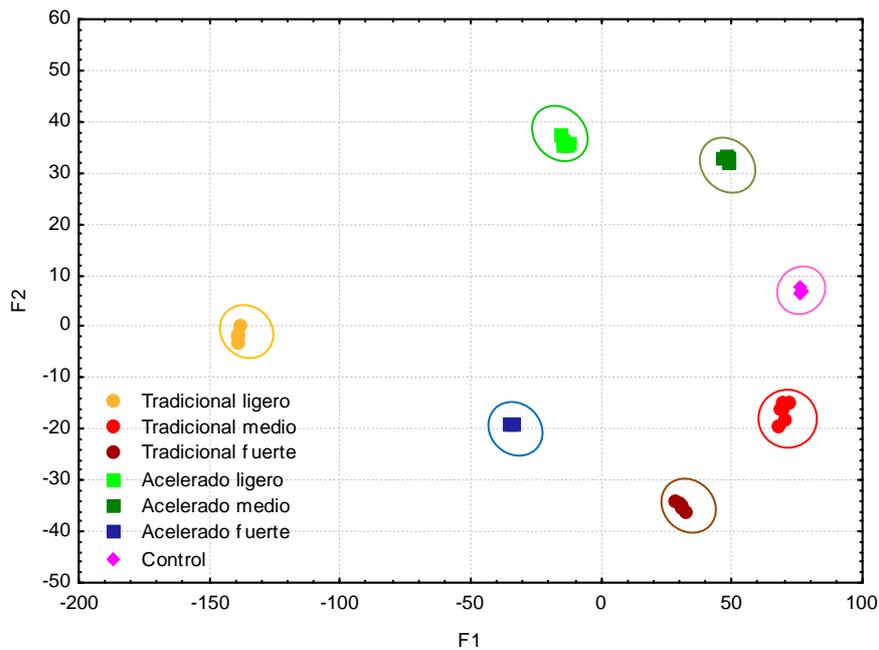


Figura 130- Representación del análisis discriminante de los parámetros básicos, color y familias de compuestos fenólicos de los vinos envejecidos durante 18 meses en botella, tras su envejecimiento con astillas de roble español

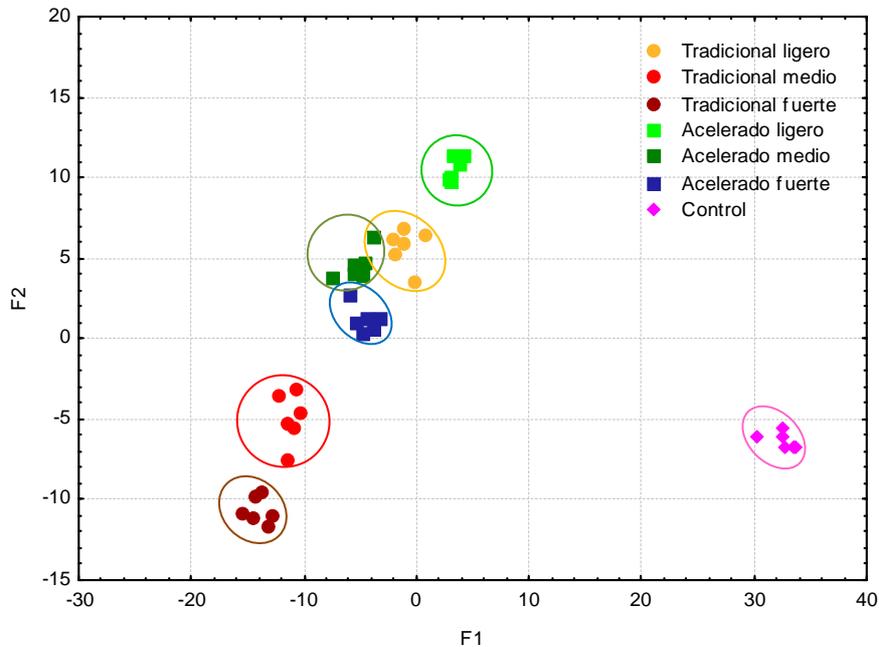


Figura 131- Representación del análisis discriminante de los parámetros básicos, color y familias de compuestos fenólicos de los vinos envejecidos durante 17 meses en botella, tras su envejecimiento con tabloncillos de roble español

Durante el periodo de botella, los vinos tratados con astillas de *Quercus pyrenaica* Willd. de secado acelerado con tostado fuerte han quedado situados en el eje negativo de las funciones discriminantes F1 y F2, presentando estos vinos menor contenido de antocianos totales y PT, mayores tonalidades azuladas y mayor grado de polimerización de los taninos, lo que hará que sean vinos menos astringentes y amargos (tabla 25, figura 130).

Tras 17 meses en botella, los vinos envejecidos con tabloncillos de *Quercus pyrenaica* Willd. de secado acelerado y micro-oxigenación se han situado en el eje positivo de la función discriminante F2, estando definidos por el contenido de polifenoles totales, catequinas, acidez volátil, índice de gelatina, y los parámetros  $\alpha\alpha$ , FC y TP de edad química y copigmentación. Presentando estos vinos mayor riqueza en polifenoles totales, catequinas, cofactores y taninos secantes, siendo por tanto vinos más astringentes. Además destacar que los vinos con tabloncillos de secado tradicional con tostado ligero también han presentado altas concentraciones de polifenoles totales, catequinas y cofactores, al estar posicionados en el eje positivo de F2 (tabla 25, figura 131).

Los vinos tratados con astillas de roble español de tostado fuerte, independientemente del tipo de secado sometido a las astillas (figura 132) se han situado en el eje positivo de la función discriminante 1 (F1), teniendo en cuenta los compuestos fenólicos de bajo peso molecular, compuestos antocianicos y volátiles procedentes de la madera de roble. Estando definidos por el contenido de los ácidos siríngico y protocatéquico, los volátiles isoeugenol y siringaldehído, y los antocianos cianidín 3 *o*-glucósido, petunidín 3 *o*-glucósido, cianidín 3 *o*-cumarilglucósido y malvidín 3 *o*-cumarilglucósido isómero cis (tabla 26).

Durante el periodo de botella, los vinos tratados con astillas de *Quercus pyrenaica* Willd. de tostado fuerte han presentado un contenido superior de siringaldehído y ácido siríngico, y menor contenido de los antocianos cianidín 3 *o*-glucósido, petunidín 3 *o*-glucósido y sus derivados cianidín 3 *o*-cumarilglucósido y malvidín 3 *o*-cumarilglucósido isómero cis. Los vinos con astillas de roble español sometidas a secado tradicional y tostado ligero y medio se han situado en la zona positiva de la función discriminante 2, mostrando niveles superiores del derivado antocianico petunidín 3 *o*-cumarilglucósido, y menores concentraciones de 5MF y vainillina (tabla 25, figura 132).

En la zona negativa de la función discriminante 1 (F1) se han situado los vinos tratados con astillas de roble español sometidas a un secado acelerado y un tostado ligero y medio, y los vinos con astillas de secado tradicional de tostado ligero. Durante el periodo de botella, las muestras de vino con astillas de *Quercus pyrenaica* Willd. de secado acelerado con tostado ligero y medio han presentado concentraciones ligeramente superiores de ácido gálico, peonidín 3 *o*-glucósido, malvidín 3 *o*-glucósido, malvidín 3 *o*-glucósido etil epicatequina, peonidín 3 *o*-acetilglucósido, malvidín 3 *o*-acetilglucósido y malvidín 3 *o*-cumarilglucósido Trans, y las muestras de vino con astillas de secado tradicional de tostado ligero han mostrado mayores concentraciones de vitisin A, y menor contenido de malvidín 3 *o*-glucósido, malvidín 3 *o*-cumarilglucósido Trans y ácido *p*-cumárico (tabla 25, figura 132).

El contenido de ácido *p*-cumárico, cianidín 3 *o*-glucósido, petunidín 3 *o*-glucósido, furfural, siringaldehído y el derivado antocianico malvidín 3 *o*-cumarilglucósido isómero Trans, han sido las variables que más han influido en los vinos posicionados en la zona positiva del eje canónico F1 (muestras de vino embotelladas, envejecidas con tabloncillos de roble español de tostado fuerte, independientemente del tipo de secado de la madera) (tabla 26, figura 133).

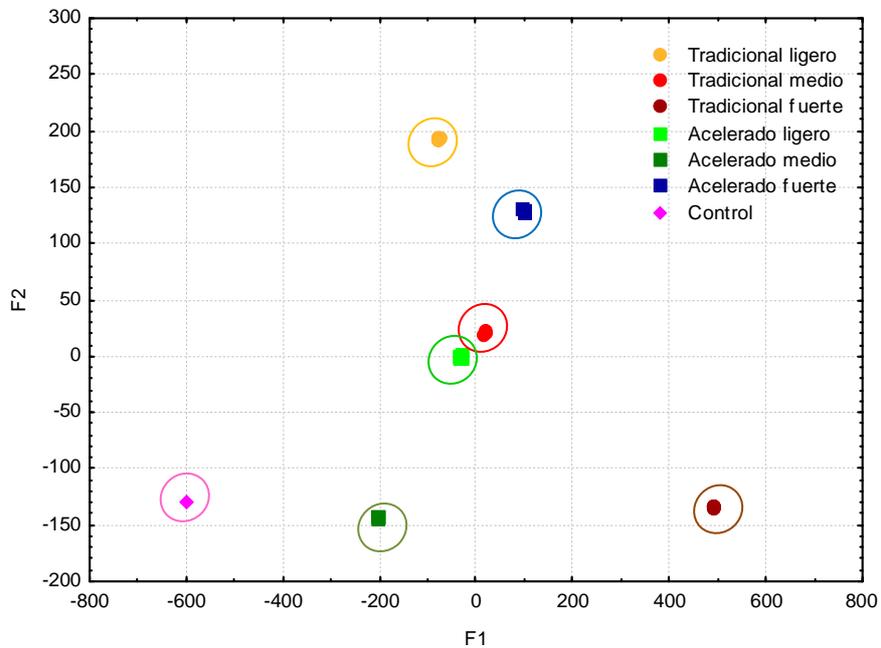


Figura 132- Representación del análisis discriminante de los compuestos fenólicos de bajo peso molecular, antocianos y volátiles procedentes de la madera de los vinos envejecidos durante 18 meses en botella, tras su envejecimiento con astillas de roble español

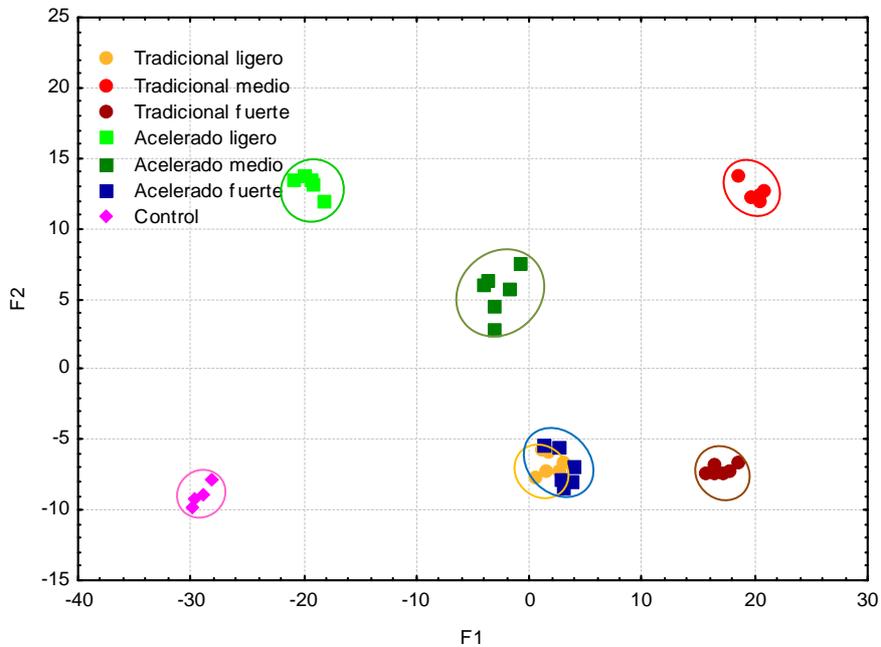


Figura 133- Representación del análisis discriminante de los compuestos fenólicos de bajo peso molecular, antocianos y volátiles procedentes de la madera de los vinos envejecidos durante 17 meses en botella, tras su envejecimiento con tabloncillos de roble español

Los vinos envejecidos con tablonos de *Quercus pyrenaica* Willd. de secado acelerado y tostado ligero se han localizado en la zona negativa de la función discriminante 1 (F1), quedando definidos por su contenido ligeramente superior de delfinidín y malvidín 3 *o*-glucósido, y su menor concentración de 5MF (tabla 26, figura 133).

En el eje positivo de la función canónica 2 (F2) han participado de manera importante el eugenol, los compuestos de bajo peso molecular (ácido sirínico, y los flavanoles catequina y epicatequina), y el compuesto antocianico peonidín 3 *o*-glucósido, estando localizados en esta zona los vinos tratados con tablonos de roble español de tostado medio y micro-oxigenación y los vinos con tablonos de secado acelerado con tostado ligero y micro-oxigenación (tabla 25, figura 133).



## **Capítulo 2- Conclusiones**



## 5- Conclusiones

Atendiendo a los resultados obtenidos en el presente capítulo de la Tesis Doctoral, se ha obtenido que los vinos tintos envejecidos madera de *Quercus pyrenaica* Willd. en depósitos de acero inoxidable y micro-oxigenación, han mostrado características diferentes debidas al tamaño del producto alternativo empleado (astillas y tablones).

- ~ De forma general, se ha observado que los vinos envejecidos con astillas de rebollo (*Quercus pyrenaica* Willd.) y micro-oxigenación han presentado mayor contenido de compuestos fenólicos (antocianos y taninos) e isoeugenol durante todo el estudio, destacando el alto contenido de guayacol durante el periodo de contacto vino-madera, y de  $\gamma$ -butirolactona, trans W-lactona y de los antocianos identificados mediante HPLC durante el periodo de permanencia en botella.

Los vinos envejecidos con astillas de *Quercus pyrenaica* Willd. de secado tradicional han presentado tras casi 4 meses de envejecimiento mayor intensidad aromática, aumentando las notas de tostado, maderizado, especiados, cacao, ahumados y café con la intensidad de tostado de la madera que los envejece. Además se ha encontrado que los vinos que se mantuvieron en contacto con madera de secado tradicional y tostado ligero han sido más complejos aromáticamente y menos astringentes. En general, estas características se han mantenido una vez embotellados, así, los vinos en contacto con madera de mayor intensidad de tostado han presentado mayores notas de balsámicos, cacao, ahumados, mayor armonía y valoración final, y menor tanino secante.

Los vinos envejecidos con astillas de secado acelerado y micro-oxigenación han mostrado mayores notas de animal, vegetal, acidez y menor tanino redondo, independientemente del grado de tostado de las astillas.

- ~ Los vinos tratados con trozos más grandes de madera de *Quercus pyrenaica* Willd. en forma de tablones y micro-oxigenación han sufrido mayores polimerizaciones, que se reflejan en una mayor intensidad colorante y mayor contenido de los compuestos responsables de las tonalidades azuladas, así como una presencia superior de los compuestos furánicos furfural, 5MF y 5HMF, de cis W-lactona y de eugenol, de los ácidos gálico y caféico, y del flavanol epicatequina. Lo que indica que los vinos con tablones de rebollo y micro-oxigenación han mostrado durante envejecimiento un aspecto visual más joven, con menor amargor, presentando un alto nivel de aromas a almendras tostadas, madera fresca, coco y especiados.

Los vinos tratados con tablones de *Quercus pyrenaica* Willd. y micro-oxigenación, han presentado durante el contacto vino-madera mayores notas de tostado, ahumados y café al aumentar la intensidad de tostado de los tablones. Mientras que los vinos envejecidos con tablones de tostado ligero han presentado menor acidez, intensidad tánica, complejidad aromática, y tanino verde - secante que los vinos con tablones de tostado medio y fuerte.

En general, los resultados obtenidos nos han indicado que los vinos envejecidos durante dos meses con astillas de rebollo y micro-oxigenación han sido menos aromáticos, presentando mayores notas afrutadas y balsámicas, y con tonalidades más pardas que los tratados con tablones y MOX, los cuales han sido más persistentes y han mostrado mayor intensidad aromática y colorante, y mayores notas de tostado, especiados y café. Y tras un envejecimiento de cuatro meses con madera de *Quercus pyrenaica* Willd. y micro-oxigenación, los vinos tratados con tablones han mostrado mayores notas dulzanas, de especiados, maderizado y ahumados, aunque han sido vinos más persistentes, y con mayor tanino verde y secante que los vinos envejecidos con astillas.

- ~ El secado de la madera (tradicional y acelerado) ha afectado a las características que la madera va a transferir a los vinos.
  - o Durante todo el estudio los vinos tratados con astillas o tablones de secado tradicional, han presentado mayor intensidad colorante, menor astringencia y mayor volumen y suavidad en boca que los vinos envejecidos con madera secada de forma acelerada. Estos vinos han mostrado concentraciones superiores de los ácidos gálico, siríngico, protocatéquico, gentísico y caféico, siendo significativas las diferencias para el ácido siríngico durante el periodo de contacto del vino con la madera, y para los ácidos protocatéquico y gentísico durante el periodo de botella, además han presentado significativamente mayor contenido de los compuestos furánicos 5MF y 5HMF, y cis W-lactona, siendo por tanto vinos con más aromas a almendras tostadas, coco y madera fresca que los tratados con madera de secado acelerado.
  - o Cuando se ha empleado madera con secado acelerado para la fabricación de los alternativos, durante el periodo de contacto del vino con la madera los vinos envejecidos con astillas y tablones de *Quercus pyrenaica* Willd. han presentado concentraciones superiores de eugenol, isoeugenol, acetovainillona y siringaldehído, siendo significativas las diferencias para el eugenol e isoeugenol, es decir se trata de vinos con aromas más especiados que los obtenidos con madera de secado tradicional. Además, estos vinos durante el periodo de permanencia en botella han mantenido mayores niveles de antocianos (delfinidín 3-*o*-glucósido, petunidín 3-*o*-glucósido y malvidín 3-*o*-glucósido).
- ~ El grado de tostado de las astillas y tablones de *Quercus pyrenaica* Willd. es un aspecto crucial, ya que ha afectado de forma muy importante a las características y a la evolución del vino. Globalmente se ha observado que:
  - o La mayor intensidad de tostado de la madera ha dado lugar a vinos con mayor intensidad colorante, menor astringencia, mayor volumen y suavidad en boca que los vinos envejecidos con madera de tostado ligero o medio. El contenido de ácido *p*-cumárico, furfural, 5MF, vainillina y siringaldehído en los vinos estudiados ha aumentado significativamente con la intensidad de tostado de la madera.

Sin embargo, en el caso de emplear madera con tostado medio, los vinos que envejece han presentado mayor contenido de W-lactonas (cis-trans), 5HMF, mostrando además estos vinos durante el periodo de botella un contenido significativamente mayor de los ácidos trans-cutárico y clorogénico.

- Durante el periodo de botella la concentración de Mv-3-gl-Cm y Pe-3-gl-Ac en los vinos analizados ha disminuido significativamente al aumentar la intensidad de tostado de la madera que los envejece. Mostrando los vinos envejecidos con madera de rebollo de tostado ligero y MOX mayor contenido de estos derivados antocianicos debido a una menor degradación de estos compuestos.
  
- ~ Respecto al oxígeno aportado al vino, se ha observado que durante todo el estudio la intensidad colorante ha sido superior en los vinos micro-oxigenados que en el vino control (sin madera), lo que corrobora la información proporcionada por otros autores, donde el efecto positivo de la técnica de micro-oxigenación en las características cromáticas de los vinos se mantiene también en los vinos embotellados.



## **Capítulo 2- Bibliografía**



## 6- Bibliografía

- Alén, F.; García, M. S.; Pérez, M. C.; Martínez, E. y Simal, J., **2009**. Influence of major polyphenols on antioxidant activity in Mencía and Brancellao red wines. *Food Chemistry*. 113, 1, 53-60.
- Boidron, J. N.; Chatonnet, P. y Pons, M., **1988**. Influence du bois sur certains substances odorant des vins. *Connais Vigne Vin*. 22, 275-294.
- Cadahia E.; Fernández de Simón, B.; Poveda, P. y Sanz M., **2008**. Utilización de *Quercus pyrenaica* Willd. de Castilla y León en el envejecimiento de vinos. Comparación con roble francés y americano, Vol nº 18. Monografías INIA: Serie forestal
- Cadahía, E.; Fernández de Simón, B.; Sanz, M.; Poveda, P. y Colio, J., **2009**. Chemical and chromatic characteristics of Tempranillo, Cabernet Sauvignon and Merlot wines from DO Navarra aged in Spanish and French oak barrels. *Food Chemistry*. 115, 2, 639-649.
- Campbell, J.I.; Sykes, M.; Sefton, M.A. y Pollnitz, A.P., **2005**. The effects of size, temperature and air contact on the outcome of heating oak fragments. *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 11, 348-354.
- Campbell, J.I.; Pollnitz, A.P.; Sefton, M.A.; Herderich, M.J. y Pretorius, I.S., **2006**. Factors affecting the influence of oak chips on wine flavour. *Wine Industry Journal*. 21 nº4, 38-42.
- Cano, M.; Pardo, F.; López, J. M. y Gómez, E., **2006**. Effect of microoxygenation on anthocyanin and derived pigment content and chromatic characteristics of red wines. *American Journal of Enology and Viticulture*. 57, 3, 325-331.
- Cano, M.; Pardo, F.; López, J. M. y Gómez, E., **2007**. Chromatic characteristics and anthocyanin profile of a micro-oxygenated red wine after oak or bottle maturation. *European Food Research and Technology*. 225, 1, 127-132.
- Castellari, M.; Simonato, B.; Tornielli, G. B.; Spinelli, P. y Ferrarini, R., **2004**. Effects of different enological treatments on dissolved oxygen in wines. *Italian Journal of Food Science*. 16, 3, 387-396.
- Chatonnet, P., **1999a**. Discrimination and control of toasting intensity and quality of oak wood barrels. *American Journal of Enology and Viticulture*. 50, 4, 479-494.
- Chatonnet, P.; Cutzach, I.; Pons, M. y Dubourdieu, D., **1999b**. Monitoring toasting intensity of barrels by chromatographic analysis of volatile compounds from toasted oak wood. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 47, 10, 4310-4318.
- Chatonnet, P., **2007**. Productos alternativos a la crianza en barricas de los vinos. Influencia de los parámetros de fabricación y uso. *Enología*. Nº3, Julio/Agosto, 2-24.
- Del Álamo, M.; Casado, L. y Castro, R., **2002**. Evolución del vino tinto envejecido en diferentes sistemas. Compuestos fenólicos y color. *XXVII Congreso Mundial de la Viña y el Vino*.
- Del Álamo, M.; Fernández, J. A. y De Castro, R., **2004a**. Changes in phenolic compounds and colour parameters of red wine aged with oak chips and in oak barrels. *Food Science and Technology International*. 10, 4, 233-241.

- Del Álamo, M.; Nevares, I. y Merino, S., **2004b**. Influence of different aging systems and oak woods on aged wine color and anthocyanin composition. *European Food Research and Technology*. 219, 2, 124-132.
- Del Álamo, M.; Fernández, J. A.; Merino, M.; Nevares, I.; Navas, L.M. y Cárcel, L.M., **2006**. Envejecimiento de vinos tintos en sistemas alternativos a las barricas de roble. Parámetros básicos y edad química. *Viticultura y enología profesional*. Nº 104 Mayo/Junio, 27-33.
- Esteruelas, E.; Muñoz, A.; Sanz, M.; Fernández de Simón, B. y Cadahía, E., **2009**. Reflexiones sobre la madera de roble destinada en tonelería a la fabricación de alternativos Parte I: cepillado. *Enoviticultura*. Nº1, Septiembre/Octubre, 25-32.
- Esteruelas, E.; Muñoz, A.; Sanz, M.; Fernández de Simón, B. y Cadahía, E., **2010**. Reflexiones sobre la madera de roble destinada en tonelería a la fabricación de productos alternativos, parte II: defectos. *Enoviticultura*. Nº2, Enero/Febrero, 21-25.
- Fernández De Simón, B.; Cadahía, E. y Jalocho, J., **2003**. Volatile Compounds in a Spanish Red Wine Aged in Barrels Made of Spanish, French, and American Oak Wood. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51, 26, 7671-7678.
- Fernández De Simón, B.; Cadahía, E.; Hernández, T. y Estrella, I., **2006**. Evolution of oak-related volatile compounds in a Spanish red wine during 2 years bottled, after aging in barrels made of Spanish, French and American oak wood. *Analytica Chimica Acta*. 563,198-203.
- Fernández de Simón, B. y Cadahía, E., **2007**. Tratamiento de la madera de roble para tonelería. *Enología*. Nº 4, Septiembre/Octubre, 2-18.
- Fernández de Simón, B. F.; Cadahía, E.; Sanz, M.; Poveda, P.; Pérez, S.; Ortega, M. y González, C., **2008**. Volatile compounds and sensorial characterization of wines from four spanish denominations of origin, aged in Spanish Rebollo (*Quercus pyrenaica* Willd.) oak wood barrels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 56, 19, 9046-9055.
- Fernández de Simón, B.; Cadahía, E.; Sanz, M. y Poveda, P., **2009**. Comportamiento del *Quercus pyrenaica* durante los procesos de tonelería. *5º Congreso forestal español, montes y sociedad: saber que hacer*.
- Feuillat, F.; Keller, R.; Sauvageot, F. y Puech, J. L., **1999**. Characterization of French oak cooperage (*Quercus robur* L., *Quercus petraea* Liebl.). Research of the study group on barrel-aging Burgundy wines. *American Journal of Enology and Viticulture*. 50, 4, 513-518.
- Garde, T.; Rodríguez, S. y Ancín, C., **2002**. Volatile composition of aged wine in used barrels of French oak and of American oak. *Food Research International*. 35, 7, 603-610.
- Garde, T.; Goñi, D. T. y Azpilicueta, C. A., **2004**. Accumulation of volatile compounds during ageing of two red wines with different composition. *Journal of Food Engineering*. 65, 3, 349-356.
- Garde, T.; Lorenzo, C.; Carot, J. M.; Esteve, M. D.; Climent, M. D. y Salinas, M. R., **2010**. Effects of composition, storage time, geographic origin and oak type on the accumulation of some volatile oak compounds and ethylphenols in wines. *Food Chemistry*. 122, 4, 1076-1082.

- Giménez, R.; López, H.; Villalón, M.; Navarro, M.; Olalla, M.; Cabrera, C. y López, M.C., **2001**. Study of vanillin, syringaldehyde and gallic acid content in oak wood and wine spirit mixtures: Influence of heat treatment and chip size. *Journal of Wine Research*. 12, nº3, 175-182.
- Hernández, T.; Estrella, I.; Dueñas, M.; Fernández De Simón, B. y Cadahía, E., **2007**. Influence of wood origin in the polyphenolic composition of a Spanish red wine aging in bottle, after storage in barrels of Spanish, French and American oak wood. *European Food Research and Technology*. 224, 6, 695-705.
- Hidalgo Togores, J., **2003**. Tratado de enología, volumen 2. Ediciones Mundi Prensa, Madrid (España).
- Koussissi, E.; Dourtoglou, V. G.; Ageloussis, G.; Paraskevopoulos, Y.; Dourtoglou, T.; Paterson, A. y Chatzilazarou, A., **2009**. Influence of toasting of oak chips on red wine maturation from sensory and gas chromatographic headspace analysis. *Food Chemistry*. 114, 4, 1503-1509.
- Martínez, J.; Cadahía, E.; Fernández De Simón, B.; Ojeda, S. y Rubio, P., **2008**. Effect of the seasoning method on the chemical composition of oak heartwood to cooperage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 56, 9, 3089-3096.
- Matějček, D.; Mikeš, O.; Klejdus, B.; Štěrbová, D. y Kubáň, V., **2005**. Changes in contents of phenolic compounds during maturing of barrique red wines. *Food Chemistry*. 90, 4, 791-800.
- Monagas, M.; Gómez-Cordovés, C. y Bartolomé, B., **2005a**. Evolution of polyphenols in red wines from *Vitis vinifera* L. during aging in the bottle: I. Anthocyanins and pyranoanthocyanins. *European Food Research and Technology*. 220, 5-6, 607-614.
- Monagas, M.; Bartolomé, B. y Gómez-Cordovés, C., **2005b**. Evolution of polyphenols in red wines from *Vitis vinifera* L. during aging in the bottle : II. Non-anthocyanin phenolic compounds. *European Food Research and Technology*. 220, 3-4, 331-340.
- Monagas, M.; Bartolomé, B. y Gómez-Cordovés, C., **2006**. Effect of the modifier (Graciano vs. Cabernet Sauvignon) on blends of Tempranillo wine during ageing in the bottle. I. Anthocyanins, pyranoanthocyanins and non-anthocyanin phenolics. *LWT - Food Science and Technology*. 39, 10, 1133-1142.
- Moutounet, M.; Rabier, Ph.; Puech, J.L.; Verette, E. y Barillère, J.M., **1989**. Analysis by HPLC of extractable substances in oak wood application to a Chardonnay wine. *Sciences des aliments*. 9, 35-51.
- Pizarro, C.; Esteban-Díez, I.; Rodríguez-Tecedor, S. y González-Sáiz, J.M., **2013**. A sensory approach for the monitoring of accelerated red wine aging processes using multi-block methods. *Food Quality and Preference*. 28, 519-530.
- Pollnitz, A. P.; Pardon, K. H. y Sefton, M.A., **2000**. 4-ethylphenol, 4-ethylguaiacol and oak lactones in Australian red wines. *The Australian Grapegrower & Wine maker*. June/July, 45-52.
- Rayne, S.; Sheppard, S.; Di Bello, T. y Eggers, N. J., **2011**. Chromatic Characteristics and Optically Derived Compositional Descriptors of Micro-oxygenated Wines from *Vitis vinifera* cv. Merlot and Cabernet Sauvignon. *Food and Bioprocess Technology*. 4, 2, 254-265.

- Ribéreau-Gayón, P.; Glories, Y.; Maujean, A. y Dobourdieu, D., **2003**. Tratado de enología 2. Química del vino. Estabilización y tratamientos. Ediciones Mundi prensa, Madrid (España).
- Sanz, M.; Fernández de Simón, B.; Cadahía, E.; Esteruelas, E.; Muñoz, A.M.; Hernández, M.T. y Estrella, I., **2012**. Polyphenolic profile as a useful tool to identify the wood used in wine aging. *Analytica Chimica acta*. 732, 33-45.
- Singleton, V. L., **1995**. Maturation of wines and spirits: Comparisons, facts and hypotheses. *American Journal of Enology and Viticulture*. 46, 98-115.
- Sousa, C.; Mateus, N.; Silva, A.M.; González, A.M.; Santos, C. y De Freitas, V., **2007**. Structural and chromatic characterization of a new malvidin-3-glucoside-vanillyl-catechin pigment. *Food Chemistry*. 102, 1344-1351.
- Valls, J.; Lampreave, M.; Nadal, M. y Arola, L., **2000**. Importancia de los compuestos fenólicos en la calidad de los vinos tintos de crianza. *Alimentación: equipos y tecnología. Marzo*, 119-124.
- [www.demptos.fr](http://www.demptos.fr)
- [www.oaksolutionsgroup.com](http://www.oaksolutionsgroup.com)
- [www.pronektar.com](http://www.pronektar.com)
- Zamora Marín, F., **2003**. Elaboración y crianza del vino tinto: aspectos científicos y prácticos. Ediciones Mundi Prensa, Madrid (España).

## Lista de tablas

Tabla 1- Sustancias aromáticas formadas en el proceso de tostado de la madera, nivel de percepción olfativa y aroma percibido .....	187
Tabla 2- Parámetros químicos del vino inicial empleado en el experimento .....	197
Tabla 3- Peso de astillas añadido a los depósitos .....	200
Tabla 4- Distribución de los depósitos del experimento con astillas .....	202
Tabla 5- Fechas de los muestreos de los vinos envejecidos con astillas.....	203
Tabla 6- Valor del p-level del anova entre las repeticiones de los ciclos de tostado.....	205
Tabla 7- Distribución de los depósitos del experimento (tablones) .....	206
Tabla 8- Fechas de los muestreos de los vinos tratados con tablones .....	208
Tabla 9- Compuestos volátiles identificados y condiciones de la detección y cuantificación ..	212
Tabla 10- Porcentajes de extracción .....	213
Tabla 11- Contenido promedio de los parámetros básicos de los vinos en función del formato, tostado y secado durante el envejecimiento en madera y resultados de la ANOVA .....	218
Tabla 12- Contenido promedio de los parámetros básicos de los vinos en función del formato, tostado y secado durante el periodo de botella y resultados de la ANOVA.....	219
Tabla 13- Contenido promedio de las familias de compuestos fenólicos presentes en el vino en función del formato, tostado y secado durante el envejecimiento en madera y resultados de la ANOVA.....	230
Tabla 14- Contenido promedio de las familias de compuestos fenólicos en el vino en función del formato, tostado y secado durante el periodo de botella y resultados de la ANOVA.....	231
Tabla 15- Contenido promedio de los componentes del color en el vino en función del formato, tostado y secado durante el envejecimiento en madera y resultados de la ANOVA .....	254
Tabla 16- Contenido promedio de los componentes del color en el vino en función del formato, tostado y secado durante el periodo de botella y resultados de la ANOVA.....	254
Tabla 17- Contenido promedio de compuestos volátiles (mg/L) presentes en el vino procedentes de la madera en función del formato, tostado y secado durante el envejecimiento en madera y resultados de la ANOVA.....	268
Tabla 18- Contenido promedio de compuestos volátiles (mg/L) presentes en el vino procedentes de la madera en función del formato, tostado y secado durante el envejecimiento en botella y resultados de la ANOVA .....	269
Tabla 19- Contenido promedio de compuestos no volátiles de bajo peso molecular (mg/L) presentes en el vino en función del formato, tostado y secado durante el envejecimiento en madera y resultados de la ANOVA .....	288
Tabla 20- Contenido promedio de compuestos no volátiles de bajo peso molecular (mg/L) presentes en el vino en función del formato, tostado y secado durante el envejecimiento en botella y resultados de la ANOVA .....	289
Tabla 21- Contenido medio de los compuestos antociánicos (mg/L) presentes en el vino cuantificados mediante HPLC en función del formato, tostado y secado durante el envejecimiento en madera y resultados de la ANOVA .....	302
Tabla 22- Contenido medio de los compuestos antociánicos (mg/L) presentes en el vino cuantificados mediante HPLC en función del formato, tostado y secado durante el periodo de botella y resultados de la ANOVA .....	303

Tabla 23- Resultados del análisis discriminante de los parámetros básicos, color y familias de compuestos fenólicos de los vinos envejecidos con astillas y tablonos de roble español durante su envejecimiento en madera.....	335
Tabla 24- Resultados del análisis discriminante de los compuestos fenólicos de bajo peso molecular, antocianos y volátiles procedentes de la madera de los vinos envejecidos con astillas y tablonos de roble español durante su envejecimiento en madera.....	336
Tabla 25- Resultados del análisis discriminante de los parámetros básicos, color y familias de compuestos fenólicos de los vinos envejecidos con astillas y tablonos de roble español durante su envejecimiento en botella .....	340
Tabla 26- Resultados del análisis discriminante de los compuestos fenólicos de bajo peso molecular, antocianos y volátiles procedentes de la madera de los vinos envejecidos con astillas y tablonos de roble español durante su envejecimiento en botella.....	341

## Lista de figuras

Figura 1- Secado tradicional al aire libre .....	184
Figura 2- Almacenamiento al aire de madera para fabricación de productos alternativos en fardos .....	184
Figura 3- Horno para el secado de la madera .....	185
Figura 4- Sistemas de secado .....	185
Figura 5- Tambor de torrefacción rotativo para astillas .....	188
Figura 6- Horno de convección para tablones .....	189
Figura 7- Carros de carga con transportador de tablones .....	189
Figura 8- Sistema de refrigeración y aspiración .....	189
Figura 9- Gestión del horno de torrefacción mediante supervisión .....	189
Figura 10- Horno de convección para tablones .....	190
Figura 11- Horno de infrarrojos para el tostado de tablones .....	190
Figura 12- Horno de alimentación Binder APT.....	198
Figura 13- Curva del tostado ligero de las astillas con secado tradicional y acelerado .....	199
Figura 14- Curva del tostado medio de las astillas con secado tradicional y acelerado .....	199
Figura 15- Curva del tostado fuerte de las astillas con secado tradicional y acelerado .....	200
Figura 16- Cuartilla con astillas .....	200
Figura 17- Paneles de micro-oxigenación y difusor .....	201
Figura 18- Mallas con astillas para los depósitos.....	201
Figura 19- Montaje del depósito con las mallas de astillas .....	201
Figura 20- Esquema de la distribución de los depósitos con astillas de <i>Quercus pyrenaica</i> Willd. en la sala de envejecimiento.....	202
Figura 21- Representación gráfica de la curva de tostado ligero de los tablones con secado tradicional y acelerado.....	204
Figura 22- Curvas de tostado medio de tablones con secado acelerado y tradicional.....	204
Figura 23- Evolución de la curva de tostado fuerte de los tablones con secado acelerado y tradicional .....	205
Figura 24- Depósitos de acero inoxidable empleados en los experimentos.....	206
Figura 25- Distribución de los depósitos del experimento en la sala de crianza .....	207
Figura 26- Cromatógrafo de gases HP 6890.....	211
Figura 27- Cromatograma de un vino tinto D.O. Toro envejecido durante 4 meses con tablones de <i>Q. pyrenaica</i> Willd. y MOX .....	213
Figura 28- Ficha de cata empleada para la evaluación de los vinos estudiados.....	215
Figura 29- Evolución de la densidad relativa en los vinos con astillas y con tablones de <i>Quercus pyrenaica</i> Willd. durante el envejecimiento en madera y permanencia en botella.....	220
Figura 30- Acidez total en los vinos tratados con madera de <i>Quercus pyrenaica</i> Willd. (astillas y tablones) durante el periodo de contacto vino-madera y periodo de botella .....	222
Figura 31- Evolución de la acidez volátil en los vinos tratados con astillas y con tablones de <i>Quercus pyrenaica</i> Willd. durante el envejecimiento en madera y botella.....	223
Figura 32- Evolución de los azúcares reductores presentados por vinos tintos con astillas y con tablones de <i>Quercus pyrenaica</i> Willd. durante el envejecimiento en madera y botella.....	224

Figura 33- Cambios en el contenido del ácido tartárico en los vinos tratados con astillas y tablonos de *Quercus pyrenaica* Willd.durante el periodo de contacto vino-madera y botella 225

Figura 34- Cambios en el contenido de SO<sub>2</sub> libre en los vinos tintos tratados con astillas y tablonos de *Quercus pyrenaica* Willd.durante el envejecimiento en madera y botella..... 226

Figura 35- Evolución del SO<sub>2</sub> total en los vinos con astillas y tablonos de *Quercus pyrenaica* Willd. durante el envejecimiento durante el envejecimiento en madera y botella ..... 227

Figura 36- Cambios en el contenido de polifenoles totales durante el envejecimiento con astillas y tablonos de *Q. pyrenaica* Willd.durante el envejecimiento en madera y botella..... 229

Figura 37- Evolución en el contenido de polifenoles poco polimerizados en vinos envejecidos con astillas y tablonos durante el periodo vino-madera y permanencia en botella..... 232

Figura 38- Contenido medio en fenoles muy polimerizados según secado y tostado de la madera en vinos envejecidos con astillas y tablonos de *Quercus pyrenaica* Willd. durante el envejecimiento en madera y permanencia en botella ..... 234

Figura 39- Evolución de catequina en los vinos con astillas y tablonos de *Quercus pyrenaica* Willd.durante el periodo de contacto del vino con la madera y botella ..... 235

Figura 40- Evolución de los antocianos totales durante el envejecimiento en madera y botella de los vinos tratados con astillas y tablonos de *Q. pyrenaica* Willd. .... 237

Figura 41- Evolución del índice de ionización en vinos tratados con astillas y tablonos de *Q. pyrenaica* Willd.durante el envejecimiento en madera y permanencia en botella..... 238

Figura 42- Contenidos medios de taninos en el vino envejecido con astillas y tablonos de *Q. pyrenaica* Willd.durante el envejecimiento en madera y permanencia en botella..... 240

Figura 43- Evolución del índice de etanol en vinos con astillas y tablonos de *Quercus pyrenaica* Willd.a lo largo del envejecimiento con la madera y permanencia en botella..... 241

Figura 44- Evolución del porcentaje de taninos con alto grado de polimerización durante el envejecimiento en madera y botella de vinos con astillas y tablonos de *Q. pyrenaica* Willd. . 242

Figura 45- Porcentaje de taninos astringentes de los vinos con astillas y tablonos de *Quercus pyrenaica* Willd.durante el envejecimiento en madera y permanencia en botella..... 243

Figura 46- Evolución del parámetro i de edad química de un vino tratado con astillas y tablonos de *Quercus pyrenaica* Willd.durante el periodo de contacto vino-madera y botella..... 245

Figura 47- Cambios en la edad química (ii) durante el envejecimiento en madera y periodo de botella de un vino envejecido con astillas y tablonos de *Quercus pyrenaica* Willd..... 246

Figura 48- Evolución de la relación de los antocianos en forma flavilium respecto a los antocianos del vino tratado con astillas y tablonos de *Quercus pyrenaica* Willd. durante el periodo de contacto vino-madera y periodo de botella ..... 247

Figura 49- Evolución del color debido a los antocianos copigmentados del vino con astillas y tablonos de *Q. pyrenaica* Willd.durante el periodo de contacto vino-madera y botella ..... 248

Figura 50- Evolución del color debido al pigmento polimérico de los vinos con astillas y tablonos de *Q. pyrenaica* Willd.durante el periodo de contacto vino-madera y botella ..... 250

Figura 51- Estimación del contenido de cofactores flavonoles durante el periodo vino-madera y periodo de botella de los vinos con astillas y tablonos de *Quercus pyrenaica* Willd..... 251

Figura 52- Estimación del contenido de fenoles totales durante el envejecimiento en madera y permanencia en botella en vinos con astillas y tablonos de *Q. pyrenaica* Willd. .... 252

Figura 53- Evolución de la intensidad colorante de los vinos con astillas y tablonos de *Quercus pyrenaica* Willd.durante el envejecimiento en madera y permanencia en botella ..... 255

Figura 54- Evolución del color amarillo durante el envejecimiento en madera y permanencia en botella en los vinos con astillas y tablonos de <i>Q. pyrenaica</i> Willd.....	256
Figura 55- Evolución de color rojo en los vinos tratados con astillas y tablonos de <i>Quercus pyrenaica</i> Willd.durante el envejecimiento en madera y periodo de botella .....	257
Figura 56- Cambios en el color azul de los vinos de este estudio tratados con astillas y tablonos de <i>Quercus pyrenaica</i> Willd.durante el envejecimiento en madera y botella.....	259
Figura 57- Evolución de la luminosidad de los vinos con astillas y tablonos de <i>Quercus pyrenaica</i> Willd. durante el periodo vino-madera y permanencia en botella .....	260
Figura 58- Evolución de la tonalidad rojo-verde de los vinos con productos alternativos, astillas y tablonos de <i>Q. pyrenaica</i> Willd.durante el envejecimiento en madera y botella.....	261
Figura 59- Evolución de la tonalidad amarillo-azul de los vinos tratados con astillas y tablonos de <i>Quercus pyrenaica</i> Willd.durante el envejecimiento en madera y botella.....	262
Figura 60- Angulo de color en vinos con astillas y tablonos <i>Quercus pyrenaica</i> Willd. a lo largo del periodo de contacto del vino-madera y permanencia en botella.....	264
Figura 61- Evolución de la cromaticidad en los vinos con astillas y tablonos de <i>Quercus pyrenaica</i> Willd. durante el envejecimiento en madera y periodo de botella .....	265
Figura 62- Evolución del contenido de furfural (mg/L) del vino a lo largo del envejecimiento en madera y botella al emplear astillas y tablonos de <i>Quercus pyrenaica</i> Willd.....	270
Figura 63- Evolución del contenido de 5MF (mg/L) durante el envejecimiento en madera y permanencia en botella de los vinos con astillas y tablonos de <i>Q. pyrenaica</i> Willd.....	271
Figura 64- Contenido de 5HMF (mg/L) de los vinos tratados con astillas y tablonos de <i>Quercus pyrenaica</i> Willd. durante el envejecimiento en madera y periodo de botella .....	272
Figura 65- Evolución del isómero trans $\beta$ -metil $\gamma$ -octolactona (mg/L ) en los vinos a lo largo del envejecimiento en madera y botella al emplear astillas y tablonos de <i>Q. pyrenaica</i> Willd. ....	274
Figura 66- Evolución del isómero cis $\beta$ -metil $\gamma$ -octolactona (mg/L) en los vinos tratados con astillas y tablonos de <i>Q. pyrenaica</i> Willd.durante el envejecimiento en madera y botella.....	275
Figura 67- Evolución de maltol (g/L) en el vino durante el envejecimiento en madera y botella al emplear astillas y tablonos de <i>Q. pyrenaica</i> Willd. ....	276
Figura 68- Evolución de eugenol (mg/L) en el vino tratado con astillas y tablonos de <i>Quercus pyrenaica</i> Willd.durante el envejecimiento en madera y periodo de botella .....	278
Figura 69- Evolución de guayacol (mg/L) en el vino con astillas y tablonos de <i>Quercus pyrenaica</i> Willd.durante el envejecimiento en madera y permanencia en botella .....	279
Figura 70- Evolución de isoeugenol (mg/L) durante el envejecimiento en madera y botella de los vinos tratados con astillas y tablonos de <i>Quercus pyrenaica</i> Willd.....	280
Figura 71- Evolución de vainillina (mg/L) en el vino con astillas y tablonos de <i>Quercus pyrenaica</i> Willd. durante el envejecimiento en madera y periodo de botella .....	282
Figura 72- Evolución del siringaldehído (mg/L) durante el envejecimiento en madera y periodo de botella de un vino con astillas y tablonos de <i>Quercus pyrenaica</i> Willd. ....	284
Figura 73- Evolución de acetovainillona (mg/L) durante el envejecimiento en madera y botella de los vinos con astillas y tablonos de <i>Quercus pyrenaica</i> Willd. ....	285
Figura 74- Evolución del ácido gálico (mg/L)durante el envejecimiento en madera y periodo de botella de los vinos con astillas y tablonos de <i>Quercus pyrenaica</i> Willd. ....	287
Figura 75- Evolución del ácido vainillínico en los vinos con astillas y tablonos de <i>Quercus pyrenaica</i> Willd.durante el envejecimiento en madera y periodo de botella .....	290

Figura 76- Evolución del ácido siríngico de los vinos con astillas y tablonos de <i>Quercus pyrenaica</i> Willd.durante el envejecimiento en madera y periodo de botella .....	292
Figura 77- Evolución de ácido caféico en el vino a lo largo del envejecimiento en madera y botella al emplear astillas y tablonos de <i>Quercus pyrenaica</i> Willd.....	294
Figura 78- Evolución del ácido trans-caftárico en el vino con astillas y tablonos de <i>Quercus pyrenaica</i> Willd.durante el periodo vino-madera y periodo de botella .....	295
Figura 79- Evolución de ácido p-cumárico en el vino con astillas y tablonos de <i>Quercus pyrenaica</i> Willd.durante el envejecimiento en madera y periodo de botella .....	296
Figura 80- Evolución de ácido trans-cutárico en el vino envejecido con astillas y tablonos de <i>Quercus pyrenaica</i> Willd.durante el envejecimiento en madera y botella.....	297
Figura 81- Evolución de (+)-catequina durante el envejecimiento en madera y periodo de botella en vinos con astillas y tablonos de <i>Quercus pyrenaica</i> Willd.....	299
Figura 82- Evolución del Delfinidín 3 o-glucósido en los vinos con astillas y tablonos de <i>Quercus pyrenaica</i> Willd.durante el envejecimiento en madera y periodo de botella .....	301
Figura 83- Concentración de Petunidín 3 o-glucósido durante el envejecimiento en madera y periodo de botella de los vinos con astillas y tablonos de <i>Q. pyrenaica</i> Willd. ....	304
Figura 84- Cambios en el contenido de Cianidín 3 o-glucósido en vinos con astillas y tablonos de <i>Quercus pyrenaica</i> Willd. durante el periodo vino-madera y botella .....	305
Figura 85- Contenido de Vitisín A (mg/L) durante el envejecimiento en madera y en botella en vinos con astillas y tablonos de <i>Quercus pyrenaica</i> Willd.....	306
Figura 86- Evolución de Malvidín 3 o-glucósido etil epicatequina en un vino con astillas y tablonos de <i>Quercus pyrenaica</i> Willd.durante el envejecimiento en madera y botella.....	307
Figura 87- Cambios en la concentración de Malvidín 3 o-glucósido en vinos con astillas y tablonos de <i>Quercus pyrenaica</i> Willd. durante el periodo vino-madera y botella .....	308
Figura 88- Contenido de Peonidín 3 o-glucósido en vinos tratados con productos alternativos, astillas y tablonos de <i>Q. pyrenaica</i> Willd.durante el envejecimiento en madera y botella .....	309
Figura 89- Cambios en el contenido de Malvidín 3 o-acetilglucósido en vinos tratados con astillas y tablonos de <i>Q. pyrenaica</i> Willd.durante el envejecimiento en madera y botella.....	310
Figura 90- Concentración de Peonidín 3 o-acetilglucósido durante el envejecimiento en madera y en botella en los vinos tratados con astillas y tablonos de <i>Q. pyrenaica</i> Willd.....	311
Figura 91- Evolución de Delfinidín 3 o-cumarilglucósido en los vinos tratados con astillas y tablonos de <i>Quercus pyrenaica</i> Willd.durante el envejecimiento en madera y botella .....	313
Figura 92- Evolución del Cianidín 3 o-cumarilglucósido durante el envejecimiento en madera y botella en vinos con astillas y tablonos de <i>Quercus pyrenaica</i> Willd.....	314
Figura 93- Evolución del contenido de Petunidín 3 o-cumarilglucósido en vinos con astillas y tablonos de <i>Q. pyrenaica</i> Willd.durante el periodo de contacto con madera y botella.....	315
Figura 94- Contenido de Malvidín 3 o-cumarilglucósido isómero Cis en vinos con astillas y tablonos de <i>Quercus pyrenaica</i> Willd.durante el envejecimiento en madera y botella .....	316
Figura 95- Evolución de Malvidín 3 o-cumarilglucósido isómero Trans en vinos tratados con astillas y tablonos de <i>Q. pyrenaica</i> Willd.durante el envejecimiento en madera y botella .....	317
Figura 96- Características organolépticas (Fase visual) del vino tinto envejecido durante 56 días con astillas de <i>Quercus pyrenaica</i> Willd.....	318
Figura 97- Características organolépticas (Fase olfativa I) del vino tinto envejecido durante 56 días con astillas de <i>Quercus pyrenaica</i> Willd. ....	319

Figura 98- Características organolépticas (Fase olfativa II) del vino tinto envejecido durante 56 días con astillas de <i>Quercus pyrenaica</i> Willd. ....	320
Figura 99- Características organolépticas (Fase olfativa III) del vino tinto envejecido durante 56 días con astillas de <i>Quercus pyrenaica</i> Willd. ....	320
Figura 100- Características organolépticas (Fase gustativa I) del vino tinto envejecido durante 56 días con astillas de <i>Quercus pyrenaica</i> Willd. ....	321
Figura 101 - Características organolépticas (Fase gustativaII) del vino tinto envejecido durante 56 días con astillas de <i>Quercus pyrenaica</i> Willd. ....	321
Figura 102- Características organolépticas (Fase visual) del vino tinto envejecido durante 113 días con astillas de <i>Quercus pyrenaica</i> Willd. ....	322
Figura 103- Características organolépticas (Fase olfativa I) del vino tinto envejecido durante 113 días con astillas de <i>Quercus pyrenaica</i> Willd. ....	322
Figura 104- Características organolépticas (Fase olfativa II) del vino tinto envejecido durante 113 días con astillas de <i>Quercus pyrenaica</i> Willd. ....	323
Figura 105- Características organolépticas (Fase olfativa III) del vino tinto envejecido durante 113 días con astillas de <i>Quercus pyrenaica</i> Willd. ....	323
Figura 106- Características organolépticas (Fase gustativa I) del vino tinto envejecido durante 113 días con astillas de <i>Quercus pyrenaica</i> Willd. ....	324
Figura 107- Características organolépticas (Fase gustativa II) del vino tinto envejecido durante 113 días con astillas de <i>Quercus pyrenaica</i> Willd. ....	324
Figura 108- Características organolépticas (Fase visual) del vino tinto envejecido durante 15 días en botella tras permanecer seis meses con astillas de <i>Quercus pyrenaica</i> Willd. ....	325
Figura 109- Características organolépticas (Fase olfativa I) del vino tinto envejecido durante 15 días en botella tras permanecer seis meses con astillas de <i>Quercus pyrenaica</i> Willd. ....	325
Figura 110- Características organolépticas (Fase olfativa II) del vino tinto envejecido durante 15 días en botella tras permanecer seis meses con astillas de <i>Quercus pyrenaica</i> Willd.....	326
Figura 111- Características organolépticas (Fase olfativa III) del vino tinto envejecido durante 15 días en botella tras permanecer seis meses con astillas de <i>Quercus pyrenaica</i> Willd.....	326
Figura 112- Características organolépticas (Fase gustativa II) del vino tinto envejecido durante 15 días en botella tras permanecer seis meses con astillas de <i>Quercus pyrenaica</i> Willd.....	327
Figura 113- Características organolépticas (Fase gustativa II) del vino tinto envejecido durante 15 días en botella tras permanecer seis meses con astillas de <i>Quercus pyrenaica</i> Willd.....	327
Figura 114- Características organolépticas (Fase visual) del vino tinto envejecido durante dos meses con tablonos de <i>Quercus pyrenaica</i> Willd.....	328
Figura 115- Características organolépticas (Fase olfativa I) del vino tinto envejecido durante dos meses con tablonos de <i>Quercus pyrenaica</i> Willd. ....	328
Figura 116- Características organolépticas (Fase olfativa II) del vino tinto envejecido durante dos meses con tablonos de <i>Quercus pyrenaica</i> Willd. ....	329
Figura 117- Características organolépticas (Fase olfativa III) del vino tinto envejecido durante dos meses con tablonos de <i>Quercus pyrenaica</i> Willd. ....	329
Figura 118- Características organolépticas (Fase gustativa I) del vino tinto envejecido durante dos meses con tablonos de <i>Quercus pyrenaica</i> Willd. ....	330
Figura 119- Características organolépticas (Fase gustativa II) del vino tinto envejecido durante dos meses con tablonos de <i>Quercus pyrenaica</i> Willd. ....	330

Figura 120- Características organolépticas (Fase visual) del vino tinto envejecido durante cuatro meses con tablonos de *Quercus pyrenaica* Willd. .... 331

Figura 121- Características organolépticas (Fase olfativa I) del vino tinto envejecido durante cuatro meses con tablonos de *Quercus pyrenaica* Willd. .... 331

Figura 122- Características organolépticas (Fase olfativa II) del vino tinto envejecido durante cuatro meses con tablonos de *Quercus pyrenaica* Willd. .... 332

Figura 123- Características organolépticas (Fase olfativa III) del vino tinto envejecido durante cuatro meses con tablonos de *Quercus pyrenaica* Willd. .... 332

Figura 124- Características organolépticas (Fase gustativa I) del vino tinto envejecido durante cuatro meses con tablonos de *Quercus pyrenaica* Willd. .... 333

Figura 125- Características organolépticas (Fase gustativa II) del vino tinto envejecido durante cuatro meses con tablonos de *Quercus pyrenaica* Willd. .... 333

Figura 126- Representación del análisis discriminante de los parámetros básicos, color y familias de compuestos fenólicos de los vinos envejecidos durante 169 días con astillas de roble español de secado tradicional y acelerado, y tostado ligero, medio y fuerte..... 337

Figura 127- Representación del análisis discriminante de los parámetros básicos, color y familias de compuestos fenólicos de los vinos envejecidos durante 125 días con tablonos de roble español de secado tradicional y acelerado, y tostado ligero, medio y fuerte..... 337

Figura 128- Representación del análisis discriminante de los compuestos fenólicos de bajo peso molecular, antocianos y volátiles procedentes de la madera de los vinos envejecidos durante 169 días con astillas de roble español de secado tradicional y acelerado, y tostado ligero, medio y fuerte..... 339

Figura 129- Representación del análisis discriminante de los compuestos fenólicos de bajo peso molecular, antocianos y volátiles procedentes de la madera de los vinos envejecidos durante 125 días con tablonos de roble español de secado tradicional y acelerado, y tostado ligero, medio y fuerte..... 339

Figura 130- Representación del análisis discriminante de los parámetros básicos, color y familias de compuestos fenólicos de los vinos envejecidos durante 18 meses en botella, tras su envejecimiento con astillas de roble español ..... 342

Figura 131- Representación del análisis discriminante de los parámetros básicos, color y familias de compuestos fenólicos de los vinos envejecidos durante 17 meses en botella, tras su envejecimiento con tablonos de roble español ..... 342

Figura 132- Representación del análisis discriminante de los compuestos fenólicos de bajo peso molecular, antocianos y volátiles procedentes de la madera de los vinos envejecidos durante 18 meses en botella, tras su envejecimiento con astillas de roble español ..... 344

Figura 133- Representación del análisis discriminante de los compuestos fenólicos de bajo peso molecular, antocianos y volátiles procedentes de la madera de los vinos envejecidos durante 17 meses en botella, tras su envejecimiento con tablonos de roble español ..... 344

## ANEJO II- Publicaciones





# Determination of low-molecular mass phenols in red wines: The influence of chips, staves and micro-oxygenation aging tank

L. Gallego, I. Nevares, J.A. Fernández and M. del Álamo

## Abstract

The aim of this study is to assess the use of polymeric cartridges with diode array detection to extract the main low-molecular mass phenolic compounds from red wine samples. This method expanded and improved permitted to quantify 20 compounds in red wines made and aged under different conditions. These conditions included aging in barrels and in tanks with chips or staves as well as micro-oxygenation. The study of wine development during its wood storage period and the compounds transferred from the wood to the wine during this period provide useful important information concerning the impact of wine aging methods on the chemical makeup of the resulting wines. The main compounds that differentiated wine aging systems were identified to be 5-hydroxymethyl-2 furaldehyde, gallic acid, p-hydroxybenzoic aldehyde, syringic acid and sinapic acid.

## Keywords

Aging, barrels, chips, micro-oxygenation, phenolic compounds, red wine, staves

Date received: 22 April 2010; revised: 18 August 2010

## INTRODUCTION

The controlled oxygenation technique (micro-oxygenation) frequently complements the practice of adding wood pieces to wine to mimic traditional barrel aging systems. The success of New World wines in the global market has forced the European Union laws to be changed to allow the use of 'pieces of oak wood' (CEE, 2006). Different wood piece shapes can be found in the market: oak powder, shavings, granulates, oak chips, cubes, beans, dominoes, blocks and segments (del Álamo, 2006). The transference process of different phenolic and volatile compounds from oak wood into wine during aging depends upon, among other things, the potentially extractable compounds initially present in the wood. The chemical composition

of this oak is influenced by different factors, such as its species, its geographical origin and its processing in cooperage, especially in regard to methods to obtain staves, their seasoning and the degree of oak toasting during their manufacture (Boidron et al., 1988; del Álamo et al., 2010; Fernández de Simón et al., 2010; Matejcek et al., 2005). These factors affect variation in oak lactone concentration and the level of volatile phenols and phenolic aldehydes (vanillin, syringaldehyde, coniferaldehyde and sinapaldehyde) in these oak pieces. These aldehydes can then be oxidized to their correspondent phenolic acids (vanillic and syringic acids; Chatonnet et al., 1990). Vanillin is one of the most important phenolic aldehydes that is present in aged wines, and it comes from

Food Science and Technology International 17(5) 429–438

© The Author(s) 2011 Reprints and permissions:

sagepub.co.uk/journalsPermissions.nav

DOI: 10.1177/1082013211414786

fst.sagepub.com



UVaMOX, E.T.S. Ingenierías Agrarias, Universidad de Valladolid, Palencia, Spain.

### Corresponding author:

M. del Álamo, UVaMOX, E.T.S. Ingenierías Agrarias, Universidad de Valladolid, Palencia, Spain

Email: delalamo@qa.uva.es

lignin wood degradation caused by the heating of wood involved in the process of barrel making (Chatonnet, 1999; Chatonnet et al., 1999). Vanillin and syringaldehyde are formed when wood reaches 120 °C, as is achieved in the barrel-making process (Sefton et al., 1993). It was found that its content was significantly higher in wines treated with chips with MOX than in the other two systems (barrels and staves with MOX). This could be due to a decrease of lignin degradation once wood barrel or staves toasting temperatures exceeded 200–230 °C, wherein vanillin does not form (Chatonnet et al., 1989). Various researchers (Monedero et al., 2000; Spillman, 1999) have studied the factors that impact aroma properties of wine aged in oak barrels or with oak chips, and have noted that wines aged with oak chips were less satisfactory than barrels. Other authors have researched the use of oak wood chips in fermentation (Perez-Coello et al., 2000; Piracci et al., 2001a, b; Sartini et al., 2007), which has been observed to result in a greater intensity of vanillin and a greater degree of bitterness and astringency in comparison to barrel fermentation. Other papers have studied the physical properties of oak chips and staves of American and French woods with different toasting scenarios (Gutiérrez-Afonso, 2002; Hermosin Gutierrez, 2003; Piracci et al., 2001a, b). Experiments in ethanol solution (as a model spirit) have been carried out (Gimenez-Martinez et al., 2001) to determine the effects of oak wood chip size and heat treatment on the uptake of vanillin, syringaldehyde and gallic acid; however, it has been observed that wines obtained from alternative aging systems suffers a faster loss of anthocyanins, a greater increase of polymerized phenolic compounds and other aspects that are clearly related to an aging process faster than that of wine aged in oak barrels (del Álamo et al., 2004a, 2010; Sartini et al., 2007). These results agree with the study of Piracci (2001a, b) and may be because the reactions of condensation and polymerization of anthocyanins in red wine are slower in barrels than those in tanks with chips or staves.

Low-molecular mass phenols (benzoic acids, cinnamic acids and aldehydes) are present in very low concentrations in wines, but play important roles in defining their sensory qualities. Some reports have claimed that, through an additive effect, they may contribute, especially cinnamic acids, to the bitterness and harshness of wine. Additionally, cinnamic acids are involved in copigmentation processes with anthocyanins, which affect the color of red wine (Brouillard and Dangles, 1994; Gimenez-Martinez et al., 2001). Robinson and Robinson (1931) reported that gentisic, protocatechuic, p-hydroxybenzoic and gallic acids, as well as vanillin, moderately affect the bluing of anthocyanin from grapes. Brouillard and Dangles (1994) found

that the cinnamic acids (caffeic, coumaric, chlorogenic, sinapic and ferulic) provide wine color enhancements of approximately 60–70% at 520 nm with little shift in the wavelength of the maximum absorbance.

Different techniques can be used to quantify the aforementioned compounds in wine samples, where thin layer chromatography and high-performance liquid chromatography (HPLC) are the most common. In regard to sample preparation, some authors use solid phase extraction (SPE) with octadecylsilyl (ODS) or strong anion-exchange cartridges, whereas others use liquid–liquid extractions with different organic solvents, like ethyl acetate or diethyl ether, and still others directly inject the samples onto the HPLC without any preparation (De Villiers et al., 2004; Escalona et al., 2002; García-Falcón et al., 2007; Matejíček et al., 2005; Peña-Neira et al., 2000; Pérez-Magariño et al., 2009). In this report, a concentration of the sample followed by a two-step extraction to fractionate the acidic and neutral compounds was carried out.

The purpose of this study is to assess the use of polymeric cartridges with diode array detection (DAD) to extract the main low-molecular mass phenolic compounds from red wine samples with the expanded and improved Del Álamo's method. Moreover, the stepwise linear discriminant analyses (SLDA) have been illustrated and discussed on the grounds of tests that evaluate the capability of various compounds to differentiate wine aging systems. The aging systems employed in this study included barrels and stainless steel tanks with chips or staves that had been added at low levels of oxygen (micro-oxygenation, MOX).

## MATERIALS AND METHODS

### Materials

Different phenolic compounds (phenolic acids, including gallic acid, protocatechuic acid, gentisic acid, vanillic acid, caffeic acid, syringic acid, p-coumaric acid, ferulic acid and sinapic acid; aldehydes, including protocatechuic aldehyde, p-hydroxybenzoic aldehyde and vanillic aldehyde; catechin; and epicatechin) have been quantified in wine according to del Álamo et al. (2004a) modified method of Bengoechea et al. (1995). In addition, expansion and improvement of the del Álamo's method are proposed for the quantification of *trans*-cafeiltartaric (*trans*-caftaric acid), *trans*-coumariltartaric acid (*trans*-coutaric acid), chlorogenic acid, scopoletin and the furanic derivatives 5-hydroxymethyl-2-furaldehyde (5-HMF), 2-furfuraldehyde (furfural) and 5-methyl-2-furfuraldehyde (5-MF).

*Reagents and apparatus.* HPLC-quality acetonitrile, methanol, ethanol and acetic acid were supplied by

Scharlau (Barcelona, Spain). Gallic acid, gentisic acid, protocatechuic acid, ferulic acid, caffeic acid, syringic acid, sinapic acid, p-coumaric acid, vanillic acid, chlorogenic acid, catechin, epicatechin, protocatechuic aldehyde and p-hydroxybenzoic aldehyde standards were acquired from Sigma (Madrid, Spain). Furanic derivatives (furfural, 5-MF and 5-HMF) and scopoletin were purchased from Fluka (Madrid, Spain) and vanillin (4-hydroxy-3-methoxybenzaldehyde) from Merck (Darmstadt, Germany). Stock solutions of the analytes and their dilutions were prepared in a 80:20 acetonitrile–water mixture. Water was previously purified in a Milli-Q system (Millipore, Bedford, MA, USA). In order to carry out the extractions, 200-mg Oasis HLB cartridges was supplied by Waters (Milford, MA, USA). An SPE vacuum device from Isolute (Biotage, Uppsala, Sweden), which allowed the simultaneous handling of 20 samples, was used along with a rotary evaporator with a water bath (Büchi, Plawil, Switzerland).

## Methods

### Wine analysis

**Solid phase extraction.** The extraction was done in solid phase with Oasis HLB 6 cc (200-mg) cartridges following the method proposed by del Alamo et al. (2004b). Sample handling consisted of concentration of the sample (15 mL of wine was concentrated to dryness using a rotatory evaporator and re-dissolved in 3 mL of synthetic wine: 12% ethanol and 3.5 g/L tartaric acid). Cartridges were conditioned with 3 mL of methanol, 3 mL of water and 3 mL of an ethanol–tartaric acid (3.5 g/L; 12:88) mixture. After that, concentrated wine (1 mL) containing the analytes was eluted by gravity. Next, the cartridges were rinsed with 5 mL of a methanol–water (12:88) mixture and eluted with two solvents to obtain two fractions. First, the neutral compounds were eluted with 1.5 mL of acetonitrile–ammonium hydroxide solution (2%; 90:10) and the acidic compounds were eluted with 1.5 mL of acetonitrile–acetic acid (5%; 90:10). This mixture was then injected into the HPLC system.

**Separation.** The analyses were performed using a Hewlett-Packard 1100 (LC-DAD) system (Avondale, PA, USA). The separation of phenolic compounds was performed using a Hypersil ODS column (200 mm × 4.6 mm i.d., particle size 5 µm) from Sugelabor (Madrid, Spain). The chromatographic conditions included the following: 10-µL injection volume; solvent A consisted of water:acetic acid (98:2), solvent acetic acid:acetonitrile:water (2:20:78) and solvent C

acetonitrile. The gradient profile was 0 min, 100% A; time 0–55 min, 30% A, 70% B; time 55–56 min, 100% C; and time 56–60 min, 100% C, all at a flow rate of 1 mL/min. The system was equilibrated using the starting conditions for 10 min prior to injection of the next sample.

**Detection.** Phenolic compounds have been identified by comparing their retention times (RTs) and signal rates at different wavelengths (280, 254 and 340 nm) to standards under identical conditions. Table 1 shows the RTs and wavelengths used to identify each compound and determine the absorbance ratios, also it shows the quantification limits, and calibration graph data for the compounds under study. *trans*-Cafataric and *trans*-coutaric acids could not be identified with standards; so, their identification was carried out according to wavelengths and RTs following the method of Monagas et al. (2005). *trans*-Cafataric and *trans*-coutaric acids were quantified with caffeic and p-coumaric acids, respectively.

**Wine samples.** The red wine used in this study was made from grapes of *Vitis vinifera* L., c.v. Tinto del País, stored in three different aging systems: two barrels with a 225-L capacity, two stainless steel vessels with oak chips and micro-oxygenation (MOX), and two stainless steel vessels with oak staves and MOX. The chips dimensions are approximately 1 × 0.5 cm<sup>2</sup>, and the staves 60 × 8 × 2 cm<sup>3</sup>. All aging systems were manufactured according to a medium degree of barrel toasting (200–220 °C for 10 min) of American oak (*Quercus alba*) of the same cooperage. The specific toasting of staves and chips has been developed in an industrial-scale convection oven in the cooperage with supports specially adapted to staves or special oven trays for chips. A stainless steel vessel was used as a control system for the wine studies.

The samples were taken at eight different aging times and in order to see the wine evolution, different periods time were shown: after 1 month in contact with wood (period 1 includes samplings 1 and 2), after 5 months in contact with wood (period 2 includes samplings 3–6), and finally, 5 months after having been bottled (period 3 include samplings 7 and 8). All the samples were carried out in duplicate. Wine control in what follows (R0), wines from chips + MOX in what follows (C), from barrels in what follows (B), wines from staves + MOX in what follows (S).

**Statistical analysis.** Data were subjected to univariate analysis of variance (ANOVA) and discriminant analysis using the program Statgraphics Centurion XVI.

**Table 1.** RT, experimental detection, quantification limits and wavelength ratios for the investigated compounds and calibration graph data for the compounds under study

Standard	RT $\pm$ SD (min, n = 12)	Wavelength (nm)	Detection signal (nm)	Wavelength ratios <sup>a</sup>			Linear concentration range (mg/L)	Regression equation, $y = a + bx$	$r^2$	LOD <sup>b</sup> (mg/L)	LOC <sup>c</sup> (mg/L)
				A/D	A/E	D/E					
Gallic acid	5.01 $\pm$ 0.01	280	254	1.56	-	-	6.5-65	$y = 8.960x - 2.855$	0.9996	0.39	0.54
5-HMF	7.29 $\pm$ 0.03	280	254, 340	4.41	383.05	86.83	5-50	$y = 9.744x + 17.850$	0.9926	0.35	0.55
Protocatechuic acid	8.12 $\pm$ 0.01	254	280	0.52	-	-	2-20	$y = 10.740x + 5.705$	0.9946	0.59	0.72
<i>trans</i> -Cafaric acid	8.75 $\pm$ 0.15	340	254, 280	1.29	0.51	0.40	1.9-19	$y = 14.050x + 4.593$	0.9955	0.37	0.47
Furfural	9.08 $\pm$ 0.03	280	254, 340	2.70	658.50	243.04	10-100	$y = 20.646x - 56.864$	0.9955	2.78	2.85
Gentisic acid	11.14 $\pm$ 0.01	340	254	-	-	0.27	1.3-13	$y = 5.513x + 2.589$	0.9934	0.57	0.83
Protocatechuic aldehyde	11.25 $\pm$ 0.02	280	254, 340	3.85	5.81	1.50	0.4-4	$y = 15.445x + 2.403$	0.9918	0.19	0.28
<i>trans</i> -Coutaric acid	12.73 $\pm$ 0.12	340	254, 280	4.39	1.21	0.28	2-20	$y = 13.785x - 1.584$	0.9983	0.44	0.55
<i>p</i> -Hydroxybenzoic aldehyde	16.35 $\pm$ 0.02	280	254	3.86	-	-	0.5-8	$y = 30.955x + 13.664$	0.9969	0.46	0.51
5-MF	17.86 $\pm$ 0.02	280	254, 340	7.18	242.80	33.78					
Vanillic acid	19.25 $\pm$ 0.02	254	280	0.60	-	-	0.6-6	$y = 12.968x + 2.588$	0.9961	0.25	0.35
Catechin	20.09 $\pm$ 0.04	280	254	3.88	-	-	11.9-119	$y = 1.647x - 4.668$	0.9962	3.19	4.04
Caffeic acid	22.66 $\pm$ 0.03	340	254, 280	2.27	0.96	0.42	1.9-19	$y = 14.050x + 4.593$	0.9955	0.37	0.47
Vanillin	25.15 $\pm$ 0.02	280	254, 340	4.13	8.43	2.04	0.7-7	$y = 17.850x - 1.371$	0.9928	0.11	0.19
Syringic acid	25.98 $\pm$ 0.03	280	254	2.05	-	-	1.1-11	$y = 10.923x + 5.619$	0.9940	0.57	0.70
Chlorogenic acid	26.00 $\pm$ 0.10	340	254, 280	1.52	0.74	0.48	2-20	$y = 7.422x + 2.623$	0.9938	0.43	0.62
Epicatechin	32.07 $\pm$ 0.03	280	254	4.27	-	-	2.9-29	$y = 1.973x + 2.285$	0.9950	1.46	2.17
<i>p</i> -Coumaric acid	32.33 $\pm$ 0.14	280	254, 340	5.64	2.75	0.48	2-20	$y = 13.785x - 1.584$	0.9983	0.44	0.55
Scopoletin	40.04 $\pm$ 0.03	340	254, 280	0.64	0.11	0.82	2-20	$y = 13.676x + 5.499$	0.9860	0.44	0.55
Ferulic acid	40.38 $\pm$ 0.23	340	254, 280	1.59	0.66	0.41	0.4-4	$y = 16.788x + 4.305$	0.9907	0.29	0.38
Sinapic acid	45.86 $\pm$ 0.03	340	254, 280	0.81	0.30	0.37	0.6-6	$y = 12.249x + 2.143$	0.9903	0.22	0.34

Notes: <sup>a</sup>Wavelength ratios: A, 280 nm; D, 254 nm; E, 340 nm.<sup>b</sup>LOD, detection limit.<sup>c</sup>LOC, determination limit.

**Table 2.** Results for recovery assays obtained with cartridges ( $n= 4$ )

Compound	Added (mg/L)	Mean recovery (%)	RSD (%)	Repeatability <sup>a</sup> (RSD %)		Reproducibility <sup>b</sup> (RSD %)	
				Peak area	RT	Peak area	RT
Gallic acid	52	88	4.36	4.32	0.75	0.61	0.21
5-HMF	40	37	7.65	7.61	0.45	1.65	0.38
Protocatechuic acid	16	88	5.33	5.33	0.15	0.67	0.16
Furfural	80	64	6.20	6.19	0.20	0.44	0.36
Gentisic acid	10.4	86	6.33	5.63	0.33	2.60	0.15
Protocatechuic aldehyde	3.2	71	7.33	6.47	0.53	4.39	0.15
<i>p</i> -Hydroxybenzoic aldehyde	6	86	5.17	5.29	0.36	0.72	0.13
5-MF	80	4	1.32	5.50	0.24	0.81	0.12
Vanillic acid	4.8	83	5.42	7.05	0.15	4.24	0.23
Catechin	95.2	65	5.42	5.93	0.47	0.49	0.15
Caffeic acid	15.2	88	5.81	5.36	0.11	0.80	0.10
Vanillin	5.6	86	5.36	5.43	0.13	0.89	0.10
Syringic acid	8.8	89	5.58	3.93	0.53	1.87	0.40
Chlorogenic acid	16	80	3.88	8.67	0.12	1.38	0.47
Epicatechin	40	46	8.36	5.53	0.46	0.98	0.101
<i>p</i> -Coumaric acid	16	89	5.58	6.26	0.41	3.46	0.08
Scopoletin	80	55	6.24	5.13	0.17	1.61	0.60
Ferulic acid	3.2	80	4.50	5.10	0.36	0.70	0.07
Sinapic acid	4.8	85	5.08	4.32	0.75	0.61	0.21

Notes: Precision expressed as RSD (%) for peak areas and RTs in comparison to the standards.

<sup>a</sup>Number of injection of a standard solution ( $n= 12$ ); RT, retention time.

<sup>b</sup>Analysis performed in 4 different days ( $n= 4$ ); each standard solution was injected two times per day.

## RESULTS AND DISCUSSION

### Method validation

Prior to the quantitative analysis of wines, precision (repeatability and reproducibility) and accuracy were evaluated and the characteristics of the calibration were obtained.

An average recovery value must be estimated for every compound studied if quantification is to be properly achieved. In order to accomplish this, a synthetic wine was spiked with each standard compound at different levels of concentration so that recovery values could then be calculated. It was decided to select compound levels that were similar to those previously reported for wine samples (del Álamo et al., 2004c; Fernández de Simon et al., 2003; Malovaná et al., 2001). The amounts added and the recovery values obtained are shown in Table 2. Recoveries were investigated for furanic derivatives (furfural, 5-MF, and 5-HMF), scopoletin acid, chlorogenic acid, gallic acid, protocatechuic acid, gentisic acid, vanillic acid, caffeic acid, syringic acid, *p*-coumaric acid, ferulic acid, sinapic acid, phenolic acid, protocatechuic aldehyde,

*p*-hydroxybenzoic aldehyde, vanillic aldehyde, catechin and epicatechin). The recovery (%) was calculated as the ratio of the area of the phenol found in the eluant from the cartridge divided by the area of the phenol found in the standard mixture without extraction. Recoveries obtained (mean of four repetitions) were similar to those presented by del Álamo (2004a, b, c) for gallic, protocatechuic, vanillic and sinapic acids (del Álamo et al., 2004b), whereas higher recoveries for protocatechuic aldehyde, caffeic acid, syringic acid and gentisic acid were found. The new compounds such as *trans*-cafeiltartaric acid (*trans*-caftaric acid), *trans*-coumariltartaric acid (*trans*-coutaric acid), chlorogenic acid, scopoletin and the furanic derivatives 5-HMF, 2-furfuraldehyde (furfural) and 5-MF presented recoveries that ranged from 80% for chlorogenic acid, 55% for scopoletin and 64% for furfural to 37% for 5-HMF and a low of 5% for 5-MF. Under these extraction conditions, 5-MF was retained in the cartridge and therefore, 20 phenolic compounds were quantified.

Relative standard deviation (in peak area) for 12 injections of a standard solution was lower than 6% for *p*-hydroxybenzoic aldehyde, vanillin, gallic acid, protocatechuic acid, gentisic acid, caffeic acid, syringic

acid, ferulic acid, sinapic acid, catechin, epicatechin and scopoletin; 6% for furfural, protocatechuic aldehyde and p-coumaric acid; and 7–8% for 5-HMF, vanillic acid and chlorogenic acid. Inter-day reproducibility was evaluated as the relative standard deviation (RSD, %) value obtained from the injection of the standard solution on 4 different days. A value for the RSD in a peak area of less than 4.4% was obtained for all standards. As for RT, the repeatability obtained when injecting 18 standard solutions was approximately RSD < 0.76%, and the reproducibility across 4 different days was better than 0.6% (Table 2).

**Calibration.** Determinations were made using the external standard method, with commercial standards. Calibrations were carried out for each phenol from a stock solution with the 18 low-molecular weight phenols, by dilution in a solution of synthetic wine (12% ethanol and 3.5 g/L tartaric acid) to different concentrations (Table 1). Each standard mixture was prepared according to the extraction method described. The detection and quantification limits were estimated considering a signal-to-noise ratio of 3 and 10, respectively.

Table 1 shows the parameters of the calibration of phenolic compounds. Linear least squares regression was used to calculate the slope, intercept and correlation coefficient. The calibration of phenolic compounds was excellent with  $r^2 > 0.994$ , except for protocatechuic aldehyde, vanillin, 5-HMF, scopoletin, chlorogenic acid, gentisic acid, ferulic acid and sinapic acid, whose  $r^2$  values ranged from 0.986 to 0.994. An HPLC method for the determination of 20 phenolic compounds through the use of the SPE and DAD conditions previously described is set for the red wine study.

#### Application of the proposed method

**Differentiation of wines according to their aging systems.** The proposed method allowed the identification of phenolic acids and phenolic aldehydes, flavanols and furanic aldehydes by DAD–HPLC. The compounds identified included various phenolic acids, aldehydes, furanic derivatives, catechin, epicatechin and scopoletin. The influence of aging system in a red wine aged with American oak wood (chips and staves), micro-oxygenation and barrels was also studied using the proposed method. Samples were taken at different aging times during wood contact: after 1 month (period 1), after 5 months (period 2) and 5 months after having been bottled (period 3). Table 3 shows concentrations (mg/L) of the analyzed wines in the three different periods, as well as the significance of the aging system on the development of the analyzed compounds at each individual time according to ANOVA study. It

was found that 5-HMF, gallic acid, *trans*-caftaric acid, vanillic acid, caffeic acid and p-coumaric acid concentrations were significantly different ( $p < 0.001$ , Table 3) for wines aged in alternative systems in comparison with barrels during all the periods studied. Gentisic acid and protocatechuic aldehyde concentrations were significantly different ( $p < 0.001$ , Table 3) for wines aged in alternative systems in comparison with barrel during oak contact (periods 1 and 2). The most important meaningful differences in the wines are seen at the end of the period of oak aging (period 2), since all the compounds analyzed have shown differences with a significance >95% ( $p < 0.05$ ).

Wine development is clearly different when wine is in contact with wood versus when it is in a bottle. Some of the wood compounds analyzed, such as 5-HMF, vanillin, gallic acid, vanillic acid, *trans*-caftaric acid, *trans*-coutaric acid, sinapic acid and gentisic acid increased during the first 5 months of wood contact (period 2, Table 3). During the wood contact period, gallic acid content increased due to hydrolysis in the acidic medium of gallic tannins coming from the oak wood. Furanic aldehydes found in the wines aged in wood are formed by cellulose and hemicellulose thermal decomposition. Specifically, 5-MF and 5-HMF are formed during the thermal decomposition of glucose, whereas furfural is formed during the decomposition of the hemicellulose pentoses arabinose and xylose. The quantity of furan aldehydes varies according to time and wood toasting degree, and reach their peak in heavily toasted wood (Chatonnet et al., 1989). According to our study, the concentration of 5-HMF was continually growing during periods 1 and 2, due to the interaction that occurs with the wood and the wine (Table 3). This increase was significantly higher in wine aged with staves with MOX than in the other two systems (barrels and chips with MOX). As expected, the lowest level of furans was present in the control wine, as does not have wood contact. During period 3, the concentrations of these compounds decreased independently of the aging system used. This may be due to a biological reduction that furfural undergoes with alcohol or to biochemical transformations and chemical reactions undergone by 5-HMF in contact with other wine compounds (Fernández de Simon et al., 2003).

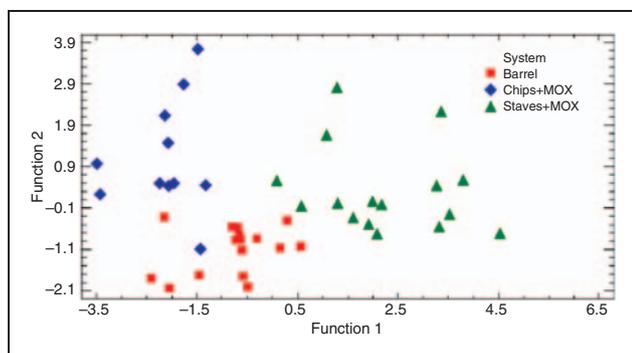
It was observed that *trans*-caftaric and *trans*-coutaric acid concentrations increased in the investigated wines during the wood contact period because of reactions between tartaric acid and caffeic and coumaric acids.

During the wood contact and bottle periods, it was observed that a constant decrease in the content of some wine compounds, such as protocatechuic aldehyde, scopoletin, catechin, epicatechin, ferulic acid and chlorogenic acid, as can be seen in Table 3.

**Table 3.** Concentrations (mg/L) of the phenolic compounds in red wine treated with American oak wood (chips, staves and barrels) at different times in the aging process

Wines compounds	R0	Period 1 (1-month wood contact)				Period 2 (5-month wood contact)				Period 3 (5-month bottled)			
		Chips	Staves	Barrels	ANOVA <sup>a</sup>	Chips	Staves	Barrels	ANOVA <sup>a</sup>	Chips	Staves	Barrels	ANOVA <sup>a</sup>
Galic acid	82.34 ± 1.01	80.01 ± 0.00	77.12 ± 3.03	86.97 ± 10.38	*	92.58 ± 0.46	97.29 ± 13.66	95.27 ± 0.29	*	61.07 ± 0.37	62.07 ± 1.32	56.37 ± 0.06	*
5-HMF	n.d.	n.d.	1.63 ± 0.11	5.23 ± 0.01	*	2.50 ± 0.00	14.74 ± 0.75	18.91 ± 4.32	*	n.d.	4.21 ± 0.35	4.47 ± 0.11	*
Protocatechuic acid	9.77 ± 0.23	10.22 ± 0.15	11.04 ± 0.70	11.2 ± 1.87	*	11.88 ± 2.71	11.04 ± 0.50	30.70 ± 14.28	*	4.18 ± 0.00	4.29 ± 0.16	3.79 ± 0.03	**
<i>trans</i> -Caffeic acid	25.99 ± 0.36	24.8 ± 0.28	23.06 ± 1.28	25.65 ± 3.69	*	27.71 ± 0.72	30.69 ± 0.16	27.44 ± 0.86	*	11.47 ± 0.07	11.46 ± 0.10	10.6 ± 0.06	*
Furfural	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.		n.d.	4.47 ± 1.01	5.34 ± 0.09	*	n.d.	n.d.	n.d.	
Genitic acid	1.19 ± 0.25	1.5 ± 0.04	0.61 ± 0.22	1.78 ± 0.15	*	67.76 ± 4.21	85.5 ± 2.01	47.63 ± 17.25	*	n.d.	n.d.	n.d.	
Protocatechuic aldehyde	13.52 ± 0.92	11.36 ± 1.35	13.32 ± 0.04	13.49 ± 1.65	*	6.35 ± 0.31	9.26 ± 3.00	9.96 ± 1.32	*	n.d.	n.d.	n.d.	
<i>trans</i> -Coutaric acid	10.31 ± 0.26	8.53 ± 0.06	9.68 ± 0.48	9.67 ± 1.09	*	11.90 ± 0.87	12.45 ± 0.32	12.08 ± 0.28	*	4.89 ± 0.07	5.07 ± 0.07	4.62 ± 0.07	**
<i>p</i> -Hydroxybenzoic aldehyde	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.		0.77 ± 0.08	0.68 ± 0.02	0.56 ± 0.08	*	n.d.	0.5 ± 0.02	n.d.	
Vanillic acid	8.98 ± 3.20	7.94 ± 1.69	7.65 ± 0.06	9.73 ± 0.40	*	18.89 ± 9.05	20.13 ± 2.89	18.27 ± 5.23	*	8.01 ± 0.34	6.65 ± 0.13	6.59 ± 0.05	*
Catechin	54.12 ± 0.36	63.88 ± 0.01	58.33 ± 13.08	71.47 ± 17.35	*	47.66 ± 3.15	42.1 ± 0.70	38.33 ± 0.10	*	22.01 ± 0.81	24.99 ± 0.56	20.13 ± 0.08	*
Caffeic acid	76.04 ± 1.04	71.21 ± 1.88	64.54 ± 2.26	75.75 ± 9.31	*	66.86 ± 5.99	64.13 ± 0.18	65.61 ± 4.59	*	26.88 ± 0.02	26.8 ± 0.14	24.56 ± 0.02	*
Vanillin	11.1 ± 1.07	11.59 ± 0.52	10.6 ± 0.96	11.46 ± 1.58		19.36 ± 1.63	17.57 ± 4.13	16.34 ± 1.36	*	1.39 ± 0.00	1.51 ± 0.05	1.26 ± 0.05	*
Syringic acid	18.35 ± 0.25	18.24 ± 0.26	16.18 ± 3.19	20.8 ± 1.67		19.61 ± 1.57	13.4 ± 0.18	13.81 ± 1.38	*	13.46 ± 0.07	9.73 ± 0.05	8.67 ± 0.28	*
Chlorogenic acid	2.11 ± 0.00	1.84 ± 0.02	1.40 ± 0.11	1.67 ± 0.27	**	0.85 ± 0.10	1.08 ± 0.13	0.76 ± 0.04	***	n.d.	n.d.	n.d.	
Epicatechin	1.71 ± 0.52	2.52 ± 0.05	2.28 ± 0.45	2.40 ± 0.58		1.50 ± 1.10	n.d.	1.99 ± 0.02	*	n.d.	n.d.	n.d.	
<i>p</i> -Coumaric acid	38.95 ± 3.75	33.24 ± 2.14	32.31 ± 0.93	40.43 ± 4.99	*	36.18 ± 3.46	33.08 ± 0.85	33.27 ± 2.49	*	23.24 ± 0.06	23.80 ± 0.78	21.11 ± 0.01	*
Scopoletin	36.44 ± 2.85	37.02 ± 2.07	34.32 ± 1.08	40.75 ± 7.97	*	1.06 ± 0.55	0.85 ± 0.36	0.69 ± 0.06	***	1.05 ± 0.00	n.d.	n.d.	
Ferulic acid	5.21 ± 0.05	5.32 ± 0.76	4.4 ± 0.40	4.76 ± 1.07	*	4.10 ± 0.35	3.94 ± 0.27	3.75 ± 0.37	**	1.53 ± 0.02	1.45 ± 0.03	1.35 ± 0.02	
Sinapic acid	1.43 ± 0.34	1.13 ± 0.26	0.6 ± 0.02	1.47 ± 0.89	*	2.13 ± 0.13	1.3 ± 0.01	1.49 ± 0.19	***	n.d.	n.d.	n.d.	

Note: <sup>a</sup>Significant level of aging system factor: \**p* < 0.001, \*\**p* < 0.01 and \*\*\**p* < 0.05.



**Figure 1.** Graphical representation of the wine projections for each group (American oak barrels, American oak staves and American oak chips) on a plane defined by discriminant Functions 1 and 2.

This result is achieved when using the micro-oxygenation in the wine process, these findings differ from what was observed in other papers (del Álamo et al., 2004c) for wines treated with chips and staves without MOX; so, it could be theorized that oxygen addition during the wood contact period influenced the development of these compounds. The protocatechuic aldehyde concentration decreased because it became protocatechuic acid, it could be explained, according to the oxidation wine process. Catechin and epicatechin concentrations decreased because of their roles in polymerization and anthocyanins condensation processes, which bring about the wine color (Brouillard and Dangles, 1994).

SLDA were carried out using 'forward' procedure, which begins with no variables in the model and adds the variables with the greatest discriminating power. This analysis selects the variables that allow differentiating among aging systems of wines. The classification functions corresponding to each group of wines were calculated (Berrueta et al., 2007; Hair et al., 1998). The statistical *F* function was used as criterion for variable selection. The prediction capacity of the discriminant models was studied by 'cross validation', in order to validate the models, that is, to know their stability.

The samples studied were obtained from eight samplings of each oak aging system, i.e., 16 samples for each aging system. The final SLDA model selected the following five variables: 5-HMF, gallic acid, p-hydroxybenzoic aldehyde, syringic acid and sinapic acid. The standardized coefficients for discriminate of Functions 1 and 2 were, respectively, as follows: gallic acid,  $-1.42$  and  $-1.30$ ; 5-HMF,  $2.02$  and  $0.29$ ; p-hydroxybenzoic aldehyde,  $-0.58$  and  $0.93$ ; syringic acid,  $-0.77$  and  $-0.72$ ; sinapic acid,  $0.46$  and  $0.85$ . From the relative magnitude of the coefficients of Functions 1 and 2, it can be determined how each variable is used to discriminate among groups.

Figure 1 depicts the graphical representation of the wine projections for each group on a plane defined by two main function axes (Functions 1 and 2). It shows a considerable difference between wines aged with staves with MOX and wines aged with chips with MOX. The model indicates an eigenvalues of 3.50 and 0.88 and canonical correlations of 0.8818 and 0.6833, respectively.

Function 1 was more positively correlated with 5-HMF whereas gallic acid and syringic acid were more negatively correlated. Function 2 of the linear discriminant analyses was highly correlated with sinapic acid and p-hydroxybenzoic aldehyde. Taking into account wine position and the information provided by Functions 1 and 2, it could be affirmed that Function 1 permitted an identification of the traditional aging system, since it differentiated wines aged using the traditional barrels from those aged using alternative systems (Figure 1). According to the information provided by the variables related to F1, it can be concluded that wines aged with staves + MOX maintain higher levels of 5-HMF, compound formed by degradation from hemicellulose of oak during the toast process and related to toasted almond aroma descriptor.

The prediction capacity of the SLDA model was evaluated by cross validation in four steps, excluding 25% of the samples in each step (prediction group), so that all wines have been predicted once. A global percentage of correct classification of 93.02% and of global prediction of 87.5% were obtained. The percentage of prediction results was similar to that obtained in classification, which confirms the stability of the obtained SLDA model. Then, the results can be considered satisfactory and acceptable, being the selected variables useful to classify and differentiate these wines by aging system.

## CONCLUSIONS

The proposed method permits the determination of 20 phenolic compounds that derive from the grapes and wood used to manufacture red wines. The compounds concentrations obtained from HPLC analysis were used for stepwise discrimination analysis. This analysis can be used to distinguish between barrel-aged and tank-aged wines treated with oak chips or staves with MOX. Furthermore, the discrimination of wine samples treated with the two different types of oak pieces (chips and staves), which have the same surfaces of contact but different oak mass, was based on the different velocities of the oak concentration compounds in the extraction process. The concentrations of 5-HMF are greater in wines aged with staves + MOX than in wines aged with chips + MOX or in barrels, and

is the most important factor that distinguishes between these two aging categories.

## ACKNOWLEDGMENTS

The authors are grateful to the Spanish Government (VIN03-034-C2) and Junta de Castilla y León (VA030/06) for financial support, and to the University of Valladolid for a fellowship for Laura Gallego.

## REFERENCES

- Bengochea L, Hernández T, Quesada C, Bartolomé B, Estrella I and Gómez-Cordovés C. (1995). Structure of hydroxycinnamic acid derivatives established by high-performance liquid chromatography with photodiode-array detection. *Chromatographia* 41(1–2): 94–98.
- Berrueta LA, Alonso-Salces RM and Héberger K. (2007). Supervised pattern recognition in food analysis. *Journal of Chromatography A* 1158(1–2): 196–214.
- Boidron JN, Chatonnet P and Pons M. (1988). Influence du bois sur certains substances odorant des vins. *Connaissance de la Vigne et du Vin* 22(4): 275–294.
- Brouillard R and Dangles O. (1994). Anthocyanin molecular interactions: The first step in the formation of new pigments during wine aging? *Food Chemistry* 51(4): 365–371.
- CEE. (2006). *Reglamento de Utilización de trozos de madera de roble en la elaboración de vinos y a la designación y presentación de los vinos sometidos a ese tratamiento*. Reglamento N1507/2006. *Diario Oficial L 280 de 12/10/2006*, pp. 0009–0011.
- Chatonnet P. (1999). Discrimination and control of toasting intensity and quality of oak wood barrels. *American Journal of Enology and Viticulture* 50(4): 479–494.
- Chatonnet P, Boidron JN and Pons M. (1989). Incidence du traitement thermique du bois de chêne sur sa composition chimique. 2e Partie: Evolution de certains composés en fonction de l'intensité de brûlage. *Connaissance de la Vigne et du Vin* 23(4): 223–250.
- Chatonnet P, Boidron JN and Pons M. (1990). Maturation of red wines in oak barrels: Evolution of some volatile compounds and their aromatic impact. *Sciences des Aliments* 10(3): 565–587.
- Chatonnet P, Cutzach I, Pons M and Dubourdieu D. (1999). Monitoring toasting intensity of barrels by chromatographic analysis of volatile compounds from toasted oak wood. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47(10): 4310–4318.
- Del Álamo M. (2006). *Sistemas alternativos al envejecimiento en barrica*. *ACE Revista de Enología* 74 (Octubre). Available at: [http://www.acenologia.com/ciencia76\\_03.htm](http://www.acenologia.com/ciencia76_03.htm) (accessed 3 May 2011).
- Del Álamo M, Casado L, Hernández V and Jiménez JJ. (2004a). Determination of free molecular phenolics and catechins in wine by solid phase extraction on polymeric cartridges and liquid chromatography with diode array detection. *Journal of Chromatography A* 1049(1–2): 97–105.
- Del Álamo M, Fernández JA and de Castro R. (2004b). Changes in phenolic compounds and colour parameters of red wine aged with oak chips and in oak barrels. *Food Science and Technology International* 10(4): 233–241.
- Del Álamo M, Nevares I, Cárcel LM and Navas L. (2004c). Analysis for low molecular weight phenolic compounds in a red wine aged in oak chips. *Analytica Chimica Acta* 513(1): 229–237.
- Del Álamo M, Nevares I, Gallego L, Fernández de Simón B and Cadahía E. (2010). Micro-oxygenation strategy depends on origin and size of oak chips or staves during accelerated red wine aging. *Analytica Chimica Acta* 660(1–2): 92–101.
- De Villiers A, Lynen A, Crouch P and Sandra P. (2004). Development of a solid-phase extraction procedure for the simultaneous determination of polyphenols, organic acids and sugars in wine. *Chromatographia* 59(7/8): 403–409.
- Escalona H, Birkmyre L, Piggott JR and Paterson A. (2002). Effect of maturation in small oak casks on the volatility of red wine aroma compounds. *Analytica Chimica Acta* 458(1): 45–54.
- Fernández de Simón B, Cadahía E, del Álamo M and Nevares I. (2010). Effect of size, seasoning and toasting in the volatile compounds in toasted oak wood and in a red wine treated with them. *Analytica Chimica Acta* 660(1–2): 211–220.
- Fernández de Simón B, Cadahía E and Jalocho J. (2003). Volatile compounds in a Spanish red wine aged in barrels made of Spanish, French, and American oak wood. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51(26): 7671–7678.
- García-Falcón MS, Pérez-Lamela C, Martínez-Carballo E and Simal-Gándara J. (2007). Determination of phenolic compounds in wines: Influence of bottle storage of young red wines on their evolution. *Food Chemistry* 105(1): 248–259.
- Gimenez-Martinez R, Lopez-Garcia de la Serrana H, Villalon-Mir M, Navarro-Alarcon M, Olalla-Herrera M, Cabrera-Vique C, et al. (2001). A study of vanillin, syringaldehyde, and gallic acid content in oak wood and wine spirits mixtures: Influence of heat treatment and chip size. *Journal of Wine Research* 12(3): 175–182.
- Gutiérrez-Afonso VL. (2002). Sensory descriptive analysis between white wines fermented with oak chips and in barrels. *Journal of Food Science* 67(6): 2415–2419.
- Hair JF, Anderson RE, Tatham RL and Black WC. (1998). *Multivariate Data Analysis*. New Jersey: Prentice Hall International Inc.
- Hermosin Gutierrez I. (2003). Influence of ethanol content on the extent of copigmentation in a cencibel young red wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51(14): 4079–4083.
- Malovaná S, García Montelongo FJ, Pérez JP and Rodríguez-Delgado MA. (2001). Optimisation of sample preparation for the determination of trans-resveratrol and other polyphenolic compounds in wines by high performance liquid chromatography. *Analytica Chimica Acta* 428(2): 245–253.
- Matejíček D, Mikes O, Klejduš B, Sterbová D and Kubán V. (2005). Changes in contents of phenolic compounds during

- maturing of barrique red wines. *Food Chemistry* 90(4): 791–800.
- Monagas M, Gómez-Cordovés C and Bartolomé B. (2005). Evolution of polyphenols in red wines from *Vitis vinifera* L. during aging in the bottle. *European Food Research and Technology* 220(5): 607–614.
- Monedero L, Olalla M, Villalón M, López-García H and López MC. (2000). Standardisation of the chromatic characteristics of sobretablas wine macerates obtained by an accelerated ageing technique using heating and oak shavings. *Food Chemistry* 69(1): 47–54.
- Peña-Neira A, Hernández T, García-Vallejo C, Estrella I and Suarez J. (2000). A survey of phenolic compounds in Spanish wines of different geographical origin. *European Food Research and Technology* 210(6): 445–448.
- Perez-Coello MS, Sanchez MA, Garcia E, Gonzalez-Vinas MA, Sanz J and Cabezudo MD. (2000). Fermentation of white wines in the presence of wood chips of American and French oak. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48(3): 885–889.
- Pérez-Magariño S, Ortega-Heras M, Cano-Mozo E and González-Sanjosé ML. (2009). The influence of oak wood chips, micro-oxygenation treatment, grape variety on colour and anthocyanin and phenolic composition of red wines. *Journal of Food Composition and Analysis* 22(3): 204–211.
- Piracci A, Bucelli P, Faviere V, Giannetti F, Lo Scalzo R and Novello E. (2001a). Frammenti legnosi e vino: Alcune specifiche tecniche di chips e staves di rovere. *L'Enologo* (7–8): 97–106.
- Piracci A, Bucelli P, Faviere V, Giannetti F, Lo Scalzo R and Novello E. (2001b). Frammenti legnosi oak-chips e staves: Contributo alla stabilizzazione del colore. *L'Enologo* 10(ottobre): 103–109.
- Robinson GM and Robinson A. (1931). A survey of anthocyanins. *Biochemical Journal* 25(5): 1687–1705.
- Sartini E, Arfelli G, Fabiani A and Piva A. (2007). Influence of chips, lees and micro-oxygenation during aging on the phenolic composition of a red Sangiovese wine. *Food Chemistry* 104(4): 1599–1604.
- Sefton MA, Francis IL, Pocok KJ and Williams PJ. (1993). The influence of natural seasoning on the concentrations of eugenol, vanillin and cis- and trans- $\beta$ -methyl-g-octalactone extracted from French and American oak wood. *Sciences des Aliments* 13(4): 629–643.
- Spillman P. (1999). Wine quality biases inherent in comparisons of oak chip and barrel system. *The Australian and New Zealand Wine Industry Journal* 14(2): 25–33.



# Phenolic compounds and sensorial characterization of wines aged with alternative to barrel products made of Spanish oak wood (*Quercus pyrenaica* Willd.)

L Gallego<sup>1</sup>, M Del Alamo<sup>1</sup>, I Nevares<sup>1</sup>, JA Fernández<sup>1</sup>, B Fernández de Simón<sup>2</sup> and E Cadahía<sup>2</sup>

## Abstract

Wood of *Quercus pyrenaica* has suitable properties for the wine ageing process. However, the forest available for the barrel making from this particular type of tree is very limited. Nevertheless, it is highly advisable to use this kind of wood in order to manufacture alternative oak products. This study presents the results of ageing the same red wine using different pieces of wood (chips and staves) of Spanish oak (*Q. pyrenaica*), American oak (*Quercus alba*) and French oak (*Quercus petraea*) in conjunction with small, controlled amounts of oxygen. In addition, the phenolic parameters, colour and sensory analysis point out that wines aged with *Q. pyrenaica* pieces have similar enological characteristics to those aged with American or French oak pieces of wood (chips and staves). Furthermore, the total oxygen consumed and its relation with sensory properties also has been studied in this article in order to know how the oxygen behaves in these processes. Besides, it is going to put forward the fact that chips and staves from *Q. pyrenaica* oak are suitable for the ageing of red wines and better considered than American or French ones, showing higher aromatic intensity, complexity, woody, balsamic and cocoa. Finally, the tasters valued highly the wines with staves, pointing out its flavour and roundness in mouth.

## Keywords

Ageing, chips, staves, colour, micro-oxygenation, phenols, *Quercus pyrenaica*, red wine, total oxygen consumed

Date received: 14 February 2011; revised: 10 May 2011

## INTRODUCTION

The most used vessel in wine ageing is the oak barrel; here, wine improves its characteristics, thanks to wood compounds transference into wine and the reactions that take place between them and those common in wine. Only some species of oak are suitable for this process. However, the wood must have the properties needed to encourage the correct evolution of the wine. This evolution is regulated by several factors such as oxygen permeability through the wood, wine-wood contact time, origin of the oak wood, drying

method used in cooperage, particularly toasted grade, volume of the casks and ageing system selected, whether traditional (barrels) or alternative (chips, staves, cubes, etc.). (Castellari et al., 2004; CEE, 2006; Chatonnet, 2007; del Alamo Sanza, 2006a; del Alamo and Nevares, 2006).

The trees selected for obtaining staves to make barrels must have at least 35–50 cm in diameter, no knots,

Food Science and Technology International 18(2) 151–165

© The Author(s) 2012 Reprints and permissions:

sagepub.co.uk/journalsPermissions.nav

DOI: 10.1177/1082013211427782

fst.sagepub.com



<sup>1</sup>UVaMOX, E.T.S. Ingenierías Agrarias, Universidad de Valladolid, Avda. Madrid 44 (Yutera), E-34071 Palencia, Spain

<sup>2</sup>Departamento de Productos Forestales, Centro de Investigación Forestal, Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria, P.O. Box 8111, 28080 Madrid, Spain

### Corresponding author:

M Del Alamo, UVaMOX, E.T.S. Ingenierías Agrarias, Universidad de Valladolid, Avda. Madrid 44 (Yutera), E-34071 Palencia, Spain  
Email: delalamo@qa.uva.es

wounds, rots or abnormal colourations should appear, besides a fibre straight and parallel to the axis. The species of oak classically considered in cooperage belong to the group of white oak, and are *Quercus robur* L. and *Quercus petraea* L. found in the forests of France and *Quercus alba* L. in the east coast of the USA (Chatonnet and Dubourdieu, 1998). Studies in recent years have showed up that wood of *Quercus pyrenaica*, indigenous of the Iberian Peninsula, has a chemical composition similar to that of the species *Q. robur* and *Q. petraea*. Their structural properties as mesh (classified as fine grained), density and permeability have also been fit for the manufacture of barrels (Chatonnet and Dubourdieu, 1998). The *Q. pyrenaica* largest forest area of oak available in Spain is the area of 'Castilla y Leon' according the Ministerio de Medio Ambiente (2002). This kind of wood is very suitable for the ageing of wines.

Previous papers showed up that different wines aged in barrels manufactured with *Q. pyrenaica* acquired similar characteristics to those aged with American or French oaks (Fernández de Simón et al., 2006, 2008). *Q. pyrenaica* trees are located in forests that are quite neglected, and show a high percentage of trees with diameters under 40 cm and with a large number of knots, wounds and another type of tears. These tears in the trees reduces its final performance and makes the exploitation of the existing forest mass very hard in order to obtain the staves needed to produce barrels. However, the mass currently available can be used to make alternative barrel products (ABPs) like those commonly made and used in countries such as USA, Chile, Australia, South Africa and nowadays increased in Europe.

The alternative system to the classic ageing of wine in casks is done by the addition of ABP together with the addition of controlled small amounts of oxygen (hereafter MOX) in order to imitate the mild micro-oxygenation that suffers the wine in oak casks and which is the key in barrel wine ageing. This is carried out adding pieces of oak wood of different sizes, types of oak and degree of toasted, sometimes directly in the deposit and others in barrels used to a greater and more extended utilization (del Alamo Sanza, 2006b, Chatonnet, 2007). The size of piece of wood used is a very important factor that defines the final characteristics of wines (del Álamo et al., 2010). Many studies point out that the lower the piece of wood, the further the evolution undergone by wine and the more different it becomes from that aged in barrels (del Alamo et al., 2004a, 2008; Piracci et al., 2001). During the MOX, a small amount of oxygen is micro-bubbled continuously; it has to be noted that the oxygen rate supply must be lower than that of consumption to avoid accumulation (Moutounet and Mazauric, 2001). The control and

management of oxygen is essential to obtain a balance between the addition of ABP to wine, and the components of wine, using micro-oxygenation or micro-aeration (du Toit et al., 2006; Nevares and del Alamo, 2008). The evidence of the use of alternative oak products (AOPs) made from *Q. pyrenaica* with MOX for ageing wines has been very favourable (del Alamo et al., 2009; Fernández de Simón et al., 2010). It has been found that the wine acquires features similar to those of wines aged with American oak chips (AC) or French oak chips (FC) or staves.

This study has evaluated the ageing of a red wine with chips and staves of Spanish oak wood in comparison with the same wine aged with French and American oaks all of them micro-oxygenated. The effects of wood piece size (chips and staves) and the effects of the different types of wood have been studied (*Q. pyrenaica*, *Q. petraea* and *Q. alba*) during the oak and bottle ageing periods. The wines aged with AOPs made of *Q. pyrenaica* wood were highly regarded, and preference was shown for them over those aged with products of American or French oaks.

## MATERIALS AND METHODS

### Wine and wood samples

A red young wine made from a red single variety grape (cv. Tinta del País) belonging to Spanish appellation Ribera del Duero was treated in different ageing systems for a wood period of 6 months and a bottle period of 6 and 18 months. The wine with the given ageing quality level (total acidity 4.9 g/L, volatile acidity 0.47 g/L, sugars 1.3 g/L, alcoholic degree 13.6, colour intensity (CI) 13 and total polyphenol 2.1 g/L) was sulfited with 35 mg/L of potassium metabisulfite ( $K_2S_2O_5$ ). These parameters were evaluated before the wine was transferred into tanks and also during the ageing, according to EEC methods (EEC, 1990). Over the course of the investigation, further additions were made similarly in all the tanks after every sampling in order to maintain the level as low as possible (25 mg/L) avoiding the interference in the MOX processes.

The oak heartwood used in these experiments comes from staves of *Q. petraea* trees grown in Central region (France) (called French oak), from *Q. alba* trees grown in Missouri (USA) (called American oak), and from *Q. pyrenaica* trees (locally called 'Rebollo' and called Spanish oak in this article), grown in Salamanca (Spain), provided by Tonelería Intona, SA, (Navarra, Spain). The seasoning of the wood was carried out in the open air for 3 years, at cooperage, in the usual way. After seasoning, the wood was cut in two sizes: chips ( $1 \times 0.5 \text{ cm}^2$ , approximately) and fine staves ( $100 \times 8 \times 1 \text{ cm}^3$ ), and toasted at medium intensity level ( $200^\circ\text{C}$  for 35 min), in an industrial-scale

convection oven, with areas specially adapted to staves or special oven trays for chips. All woods were manufactured (seasoned and toasted) at the same time by the same cooperage. The ABP used are Spanish oak chips, AC, FC, Spanish oak staves (SS), American oak staves (AS) and French oak staves (FS).

The wine was stored in two different ageing systems: stainless-steel 225-L tanks with oak chips and MOX and stainless-steel 225-L tanks with oak staves and MOX. Every ageing system was carried out in duplicate. The relation surface/volume of 225-L barrels was calculated in order to determine the quantity of chips and staves necessary to reproduce the same relation in 225-L stainless steel tanks (del Alamo et al., 2004a). The staves used were measured individually and numbered in order to use the exact wood surface and the doses of wood were between 22 and 25 g/L depending of the stave size. The chip dosage was determined by the weight of chips distributed in a known surface and the necessary doses of wood were 6.5 g/L (*Q. pyrenaica*), 5 g/L (*Q. petraea*) and 6 g/L (*Q. alba*). The wines were aged at the same wine cellar where humidity and temperature conditions were controlled at 65–75% and 15–16 °C in order to MOX in the best way) over the ageing period (Castellari et al., 2004; du Toit et al., 2006). The wines were sampled periodically from each ageing system during 195 days (five samplings have been carried out). After 6 months of contact with wood (period 1), the wine of each deposit was bottled and was studied after 6 months (period 2) and 18 months of ageing in the bottle (period 3).

All tanks with wood were micro-oxygenated using Eco2 device (Oenodev, France) and ceramic diffusers. A floating MOX strategy with a dissolved oxygen (DO) set point of 20 µg/L was chosen to reach the same DO level than in barrels (Moutounet and Mazauric, 2001). This dosage was checked with each daily DO measurement and then increased or decreased according to the DO level of each reading in order to maintain the DO set point. The oxygen consumed in stainless steel tanks was calculated by difference among the oxygen dosage and the remaining DO at every moment. Consumed oxygen was calculated every day, and oxygen doses were readjusted when needed. Also, it was made in mL/L per time for inter-period between sampling and in mg/L for accumulated data.

### Reagents and standards

Folin–Ciocalteu's reagent, sodium carbonate anhydrous (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>), ethanol, sodium chloride (NaCl), sodium hydrogen sulfite solution (NaHSO<sub>3</sub>), vanillin, gelatin 80–100 blooms, acetaldehyde and sodium hydroxide (NaOH) were supplied by Panreac (Barcelona, Spain). The standard gallic acid and

catechin were acquired from Sigma (Madrid, Spain), and the standard of malvidin-3-glucoside (Mv-3-Gl) was acquired from Extrasynthese (Lyon, France). Methanol, formic acid and hydrochloric acid from Scharlau (Barcelona, Spain). The water employed was previously purified in a Milli-Q system (Millipore, Bedford, MA, USA).

### Phenolic and colour analysis

The total polyphenols (TP, mg/L of gallic acid) were determined by the method of Folin–Ciocalteu (Folin and Ciocalteu, 1927). Low polymeric polyphenols (LPP, as mg/L of gallic acid) were determined by Masquelier et al. (1965). High polymeric polyphenols (HPP, as mg/L of gallic acid) were calculated by the difference between TP and LPP. Total anthocyanins (hereafter ACYs, as mg/L of malvidin-3-O-glucoside) were analysed by means of colour changes according to the pH of the medium (Paronetto, 1977), tannins (hereafter TAN as g/L of chloride of cyanidin) by method of Ribéreau-Gayon and Stonestreet (1966) and finally catechins (hereafter CAT as mg/L of D catechin) were analysed following the method described by Swain and Hillis (1959).

Chemical age was defined according to the parameters (i) and (ii) using Somers and Evans' (1977) method: (i) indicates the relation between polymeric pigments and wine ACYs content ( $E_{520}^{SO_2}/E_{520}^{CH_3CHO}$ ), while (ii) reflects the relation between polymeric pigments and wine anthocyanin measured in their ion flavilium forms ( $E_{520}^{SO_2}/E_{520}^{HCl}$ ). These parameters were determined by colourimetric measurements at 520 nm of wine after adding HCl, SO<sub>2</sub> and CH<sub>3</sub>CHO. The method of Boulton was used for the determination of the parameters of copigmentation: C (colour due to copigmented anthocyanins), TA (colour due to free anthocyanins), Ep (colour due to polymeric pigments), FC (estimation of flavonol cofactor (FlaC) level; Boulton, 1996). Ionization index (IoIn) measures the proportion of coloured and uncoloured anthocyanins. It is based on the difference in the effect of SO<sub>2</sub> bleaching on wine colour at normal wine pH and at pH of 1, and indicates the anthocyanin percentage associated to wine colour. Ethanol index (EtIn) (tannin percentage associated to wine polysaccharides) and gelatin index (GIn) measures the reactivity of wine TAN with gelatin and it is used as an indication of astringency or dry tannin. Values range from 25 to 80 tannin percentage associated to wine protein were analysed following the method described by Zamora Marín (2003).

A direct measurement of wine absorbance to 420, 520 and 620 nm, CI, hue (T), %dA (percentage of free or combined ion flavilium anthocyanin) was carried out in a Shimadzu Spectrophotometer (Japan),

with a cell of 1 mm path length, according to the Glories (1984) procedure.

### Individual anthocyanin analysis

Quantitative analyses of major anthocyanin compounds were carried out using the method proposed by del Alamo et al. (2004b). The anthocyanin analyses were performed using a Hewlett-Packard 1050 (LC-DAD) system (Avondale, PA, USA). The separation was performed using a Hypersil ODS column ( $250 \times 4.6 \text{ mm}^2$  i.d., particle size  $5 \mu\text{m}$ ; Sugelabor S.A., Madrid, Spain). The chromatographic conditions were the following: 30  $\mu\text{L}$  injection volume, solvent A was formic:water (15:85), solvent B was methanol:formic:water (45:10:45) and solvent C was methanol. The gradient profile was 0 min, 75% A, 25% B, from 0 to 25 min, 40% A, 60% B, 35 to 45 min, 60% B, 40% C and 50 to 56 min, 100% C, all at flow 1 mL/min. The system was equilibrated using the starting conditions for 9 min prior to injection of the next sample. Anthocyanins analysed were delphinidin-3-*O*-glucoside (Df-3-Gl), cyaniding-3-*O*-glucoside (Cn-3-Gl), petunidin-3-*O*-glucoside (Pt-3-Gl), peonidin-3-*O*-glucoside (Pn-3-Gl), malvidin-3-*O*-glucoside (Mv-3-Gl), vitisin A (Mv-3-Gl-Py), malvidin-3-*O*-glucoside ethyl-epicatechin (Mv-3-Gl-Ethyl), peonidin-3-*O*-acetylglucoside (Pn-3-Gl-Ac), delphinidin-3-*O*-*p*-coumaroylglucoside + malvidin-3-*O*-acetylglucoside (Df-3-Gl-Cm + Mv-3-Gl-Ac), cyanidin-3-*O*-*p*-coumaroylglucoside (Cn-3-Gl-Cm), petunidin-3-*O*-*p*-coumaroylglucoside (Pt-3-Gl-Cm), malvidin-3-*O*-*p*-coumaroylglucoside *cis* (Mv-3-Gl-Cm C) and malvidin-3-*O*-*p*-coumaroylglucoside *trans* (Mv-3-Gl-Cm T). Anthocyanin identification was carried out by comparison of their spectra and retention times according to del Alamo et al. (2004b) method. These compounds were quantified with Mv-3-Gl as standard because this is the most representative anthocyanin in wines.

### Sensorial analysis

A group of 10 people with previous experience in wine analysis were trained in recognizing wine aromatic characteristics. In this training, all the compounds were presented to the participants at their threshold concentration in water and in test wines. Wines were presented in random order. No information was given to the assessors about the origin of the samples. The wine tasting took place in an air-conditioned room (21 °C) with isolated booths. Judges assessed the aroma using a tasting evaluation sheet that included 26 sensory descriptors: intensity, brightness, blue, red, brown, aromatic intensity, complex, fruit, woody, toast, balsamic, vanilla, coconut, pepper, cinnamon,

cocoa, liquorice, volume, acidity, tannic intensity, round tannin, green tannin, dry tannin and global parameters (harmony, persistence and global value). The different terms were evaluated in a scale from 1 to 10 (1, null; 10, very strong). The average of all the panellists was calculated to build the prediction models. All the sensory evaluations were realized under Spanish Standardization Rules (UNE Norms, 1997).

### Statistical procedures

Statistical treatments of data were carried out using Statistica 7.0 for Windows (StatSoft, Inc., Tulsa, OK, USA). It was carried out a multivariate analysis of variance (MANOVA) of measures repeated analysis taking into account the oak origin and ageing system (chips and staves) as factors. A linear discriminant analysis was used. This classification procedure is a supervised technique in which the number of categories and the samples belonging to each category are defined beforehand.

## RESULTS AND DISCUSSION

### MANOVA analysis

Tables 1 to 3 show the summary of the analysis of variance and the averages obtained for each analysed compound and oenological attribute in the different wines according wood origin, ageing system as factors and its interactions, after 6 months in contact with wood (period 1), after 6 months of bottle (period 2) and at the end of the study (period 3) and after 18 months of bottle. It can be seen that the statistical differences increase as it does the bottle time.

The main differences found in wines during contact with wood are associated to the colour and related compounds. Focused on the use of chips or staves (both with MOX), it has been found that the wine treated with chips maintains greater amount of ACY than wine aged with staves ( $p < 0.05$ ). The larger ACY decreases shown by staves+MOX wines were also found by Atanasova et al. (2002). This result does not agree with the results found in other experiments made without MOX (del Alamo and Nevares, 2006; del Alamo et al., 2004b), noticing that the anthocyanin content decreased more quickly in wines with chips than those with staves, this could be due to the influence of the absorbing capacity of chips, as stated by Amati and Arfelli (2001).

Consequently, the evolution of the anthocyanins in wine is determined by the process of MOX (Cano-Lopez et al., 2008; Sullivan, 2002) and also by the interaction between the MOX process and type of ABP used (Nevares and del Alamo, 2008). It has been noticed a decrease in the individual anthocyanin level of wines

**Table 1.** Mean for each parameter evaluated after 6 months of oak period and MANOVA results

	Chips			Staves			p level
	<i>Quercus pyrenaica</i>	<i>Quercus alba</i>	<i>Quercus petraea</i>	<i>Quercus pyrenaica</i>	<i>Quercus alba</i>	<i>Quercus petraea</i>	
TP (mg/L)	2291.50 a	2189.00 a	2284.00 a	2276.50 a	2267.75 a	2306.50 a	
LPP (mg/L)	1540.88 a	1535.88 a	1511.50 a	1484.63 a	1479.00 a	1487.13 a	
HPP (mg/L)	750.63 a	653.13 a	772.50 a	791.88 a	788.75 a	819.38 a	
CAT (mg/L)	818.29 b	764.71 ab	817.57 b	710.43 a	755.43 ab	676.14 a	
ACY (mg/L)	454.13 cd	439.25 bc	466.81 d	410.38 a	434.00 b	412.56 a	*
Df-3-Gl (mg/L)	43.66 c	38.34 b	42.46 bc	26.20 a	27.54 a	27.44 a	
Cn-3-Gl (mg/L)	9.70 b	9.31 b	9.34 b	2.20 a	2.48 a	2.30 a	
Pt-3-Gl (mg/L)	30.10 c	25.82 ab	29.23 bc	24.61 a	26.24 abc	26.25 abc	
Pn-3-Gl (mg/L)	5.41 c	4.30 a	5.20 bc	4.22 a	4.72 abc	4.64 ab	*
Mv-3-Gl (mg/L)	100.14 c	83.19 a	97.88 bc	85.62 ab	91.40 abc	92.48 abc	
Mv-3-Gl Py (mg/L)	5.26 bc	5.79 c	5.27 bc	1.21 a	1.18 a	2.94 ab	
Mv-3-Gl-Ethyl (mg/L)	0.90 b	0.54 a	0.76 ab	0.81 b	0.84 b	0.73 ab	
Pn-3-Gl-Ac (mg/L)	0.00 a	0.04 b	0.01 ac	0.03 bc	0.00 a	0.04 b	**
Df-3-Gl-Cm + Mv-3-Gl-Ac (mg/L)	7.36 c	4.15 a	6.85 cd	5.68 b	6.41 abc	6.22 bd	*
Cn-3-Gl-Cm (mg/L)	0.57 c	0.39 a	0.47 ab	0.54 c	0.58 c	0.59 c	*
Mv-3-Gl-Cm C (mg/L)	0.47 a	0.37 a	0.46 a	0.40 a	0.46 a	0.43 a	
Pt-3-Gl-Cm (mg/L)	2.56 a	2.43 a	2.68 a	2.62 a	2.83 a	2.82 a	
Mv-3-Gl-Cm T (mg/L)	12.06 b	9.93 ab	11.50 bc	9.36 a	10.51 abc	10.62 abc	*
Ioln	23.63 a	26.05 abc	25.28 ab	30.00 d	27.79 bcd	28.88 cd	
TAN (g/L)	3.13 a	3.34 a	3.07 a	2.71 a	3.30 a	3.01 a	
EtlN	30.63 a	30.09 a	30.74 a	28.87 a	31.81 a	29.66 a	
Gln	70.31 a	66.85 a	66.76 a	54.88 a	59.38 a	62.72 a	
i	0.37 a	0.39 a	0.37 a	0.42 b	0.41 b	0.41 b	
ii	0.11 a	0.12 b	0.11 a	0.14 d	0.13 c	0.13 cd	**
i/ii	3.41 c	3.26 b	3.46 c	3.02 a	3.08 a	3.06 a	*
C	1.88 a	1.75 a	1.80 a	1.77 a	1.78 a	1.89 a	
Ep	2.35 a	2.52 b	2.37 a	2.94 d	2.87 cd	2.86 c	**
TA	4.17 a	4.10 a	4.33 a	4.30 a	4.34 a	4.27 a	
FlaC	8.90 a	8.72 a	8.91 a	9.14 a	9.11 a	9.09 a	
Cl	12.96 a	13.70 b	13.45 b	14.58 c	14.62 c	14.64 c	*
T	0.70 c	0.68 a	0.69 ab	0.69 b	0.69 ab	0.69 b	*
%A420	35.15 c	34.64 ab	34.80 b	34.65 ab	34.52 a	34.60 ab	
%A520	50.35 a	50.88 b	50.74 b	50.26 a	50.33 a	50.24 a	*
%A620	14.51 a	14.49 a	14.46 a	15.09 b	15.15 b	15.16 b	
%dA	50.69 a	51.72 b	51.46 b	50.51 a	50.65 a	50.48 a	*

MANOVA: multivariate analysis of variance; TP: total polyphenols; LPP: low polymeric polyphenols; HPP: high polymeric polyphenols; CAT: catechins; ACY: anthocyanins; Ioln: ionization index; TAN: tannins; EtlN: ethanol index; Gln: gelatin index; C: colour due to copigmented anthocyanins; TA: colour due to free anthocyanins; Ep: colour due to polymeric pigments; FlaC: flavonol cofactor; Cl: colour intensity; and T: tonality.

Mean values, ( $n=10$ ) followed by different letters mean significant differences at 95% (\*), 99% (\*\*) and 99.9% (\*\*\*) confidence level ( $p$  level) in the Student–Newman–Keuls multiple range test, according to wood origin and ageing as system factors.

after 6 months of wood ageing, while the wines aged with chips showed greater amount of Df-3-Gl, Cn-3-Gl and Mv-3-Gl-Py. These results can be related to the oxygen consumption, since wines treated with staves + MOX consume more oxygen than those aged

with chips + MOX (Nevares et al., 2010). This decrease reflects the various reactions where anthocyanins are involved, including degradation or polymerization reactions. These results are related to the reddest colour (%A520 and %dA) observed in wines treated

**Table 2.** Mean for each parameter evaluated after 6 months of bottle period and MANOVA results

	Chips			Staves			p level
	<i>Quercus pyrenaica</i>	<i>Quercus alba</i>	<i>Quercus petraea</i>	<i>Quercus pyrenaica</i>	<i>Quercus alba</i>	<i>Quercus petraea</i>	
TP (mg/L)	2238.88 b	2313.21 e	2221.32 a	2357.80 f	2309.15 d	2276.72 c	***
LPP (mg/L)	1152.40 e	1129.42 c	1183.48 f	1102.40 b	1084.83 a	1159.15 d	***
HPP (mg/L)	1086.49 b	1183.79 d	1037.84 a	1255.41 f	1224.33 e	1117.57 c	***
CAT (mg/L)	824.90 f	796.15 e	785.61 d	721.33 a	730.26 b	758.83 c	***
ACY (mg/L)	457.63 e	446.26 d	457.63 e	392.01 a	420.01 c	405.13 b	***
Df-3-Gl (mg/L)	18.28 f	15.04 b	16.46 e	12.99 a	15.33 d	15.21 c	***
Cn-3-Gl (mg/L)	5.32 e	5.09 b	5.19 d	4.96 a	5.10 c	5.10 c	***
Pt-3-Gl (mg/L)	17.73 f	14.28 b	16.00 e	12.57 a	15.12 d	14.78 c	***
Pn-3-Gl (mg/L)	6.78 f	6.15 d	6.35 e	5.77 b	5.60 a	6.11 c	***
Mv-3-Gl (mg/L)	50.33 f	37.92 b	42.48 e	31.52 a	38.57 c	38.76 d	***
Mv-3-Gl Py (mg/L)	6.72 f	6.24 b	5.91 a	6.34 c	6.52 d	6.70 e	***
Mv-3-Gl-Ethyl (mg/L)	5.08 f	4.91 d	4.88 c	4.81 b	4.92 e	4.76 a	***
Pn-3-Gl-Ac (mg/L)	4.86 f	4.50 c	4.48 b	4.47 a	4.56 e	4.55 d	***
Df-3-Gl-Cm + Mv-3-Gl-Ac (mg/L)	0.01 a	0.01 a	0.01 a	0.01 a	0.01 a	0.01 a	
Cn-3-Gl-Cm (mg/L)	4.61 d	4.60 d	4.63 e	4.52 a	4.57 c	4.55 b	***
Mv-3-Gl-Cm C (mg/L)	4.66 e	4.57 b	4.66 e	4.51 a	4.63 c	4.65 d	***
Pt-3-Gl-Cm (mg/L)	5.53 f	5.17 b	5.40 e	4.99 a	5.32 d	5.29 c	***
Mv-3-Gl-Cm T (mg/L)	9.45 f	8.03 d	8.58 e	6.93 a	7.85 b	7.87 c	***
IoIn	16.13 a	18.97 c	17.36 b	22.64 e	20.44 d	23.52 f	***
TAN (g/L)	2.32 c	2.36 d	2.56 e	2.31 b	2.27 a	2.31 b	***
EtIn	23.82 e	21.43 b	21.48 c	22.98 d	20.53 a	25.87 f	***
Gln	69.75 e	54.87 b	72.81 f	37.87 a	62.97 c	64.55 d	***
i	0.39 a	0.40 b	0.39 ab	0.46 d	0.44 c	0.45 c	***
ii	0.08 a	0.08 a	0.08 a	0.12 c	0.11 b	0.11 b	*
i/ii	2.44 a	2.44 a	2.44 a	2.15 b	2.22 c	2.23 c	***
C	2.86 f	2.45 c	2.74 e	2.23 a	2.56 d	2.44 b	***
Ep	1.95 a	2.19 c	2.04 b	2.74 f	2.61 d	2.62 e	***
TA	4.00 a	4.16 c	4.01 b	4.17 d	4.20 e	4.27 f	***
FlaC	8.83 a	9.01 c	8.79 b	9.35 e	9.25 d	9.35 e	***
CI	8.71 a	9.61 c	9.30 b	10.99 e	10.51 d	11.06 f	***
T	0.83 e	0.79 bc	0.81 d	0.78 ab	0.79 c	0.77 a	***
%A420	39.55 f	38.23 d	38.76 e	37.71 b	38.01 c	37.56 a	***
%A520	47.71 a	48.76 e	48.34 c	48.55 d	48.29 b	48.78 f	***
%A620	12.76 a	13.03 c	12.92 b	13.76 f	13.72 e	13.67 d	***
%dA	45.19 a	47.44 e	46.55 c	47.00 d	46.45 b	47.50 f	***

MANOVA: multivariate analysis of variance; TP: total polyphenols; LPP: low polymeric polyphenols; HPP: high polymeric polyphenols; CAT: catechins; ACY: anthocyanins; IoIn: ionization index; TAN: tannins; EtIn: ethanol index; Gln: gelatin index; C: colour due to copigmented anthocyanins; TA: colour due to free anthocyanins; Ep: colour due to polymeric pigments; FlaC: flavonol cofactor; CI: colour intensity; and T: tonality.

Mean values, (n = 10) followed by different letters mean significant differences at 95% (\*), 99% (\*\*) and 99.9% (\*\*\*) confidence level (p level) in the Student–Newman–Keuls multiple range test, according to wood origin and ageing as system factors.

with chips + MOX than those with staves + MOX which presented higher polymeric pigment (Ep), percentage of ionized anthocyanins (IoIn) and CI.

It was observed that the wines aged with staves + MOX of *Q. pyrenaica* showed smaller levels

of ACY (Table 1), whereas those with staves of *Q. alba* and those chips + MOX of *Q. petraea* showed higher levels. The differences found in the acetyl and coumaroyl anthocyanin derivatives depend on the wood origin used more than on the size of ABP.

**Table 3.** Mean for each parameter evaluated after 18 months of bottle period and MANOVA results

	Chips			Staves			p level
	<i>Quercus pyrenaica</i>	<i>Quercus alba</i>	<i>Quercus petraea</i>	<i>Quercus pyrenaica</i>	<i>Quercus alba</i>	<i>Quercus petraea</i>	
TP (mg/L)	2393.76 e	2298.76 a	2373.76 c	2396.26 d	2316.26 b	2373.76 c	***
LPP (mg/L)	1256.26 e	1053.76 a	1093.76 d	1053.76 a	1086.26 c	1063.76 b	***
HPP (mg/L)	1137.51 a	1245.01 e	1280.01 c	1342.51 d	1230.01 b	1310.01 f	***
CAT (mg/L)	1036.81 f	994.81 d	960.81 e	858.81 a	932.81 c	898.81 b	***
ACY (mg/L)	387.63 f	364.88 d	366.63 e	312.38 a	342.13 c	332.51 b	***
Df-3-Gl (mg/L)	16.22 d	16.29 e	18.48 f	14.35 a	16.15 c	15.77 b	***
Cn-3-Gl (mg/L)	5.15 d	5.18 e	5.32 f	4.99 c	4.95 b	4.72 a	***
Pt-3-Gl (mg/L)	15.43 e	15.40 d	17.38 f	13.21 a	14.87 c	14.49 b	***
Pn-3-Gl (mg/L)	6.12 d	6.17 e	6.43 f	5.63 a	5.88 b	6.05 c	***
Mv-3-Gl (mg/L)	40.13 e	39.72 d	46.41 f	32.66 a	38.00 c	36.75 b	***
Mv-3-Gl Py (mg/L)	5.50 b	5.51 c	5.82 f	5.52 d	5.69 e	5.29 a	***
Mv-3-Gl-Ethyl (mg/L)	4.69 d	4.70 d	4.58 b	4.49 a	4.67 c	4.72 e	***
Pn-3-Gl-Ac (mg/L)	6.10 e	5.92 c	6.42 f	5.56 b	6.02 d	5.28 a	***
Df-3-Gl-Cm + Mv-3-Gl-Ac (mg/L)	11.45 d	11.51 e	11.73 f	10.63 b	10.84 c	10.44 a	***
Cn-3-Gl-Cm (mg/L)	4.51 c	4.46 b	0.00 a	0.00 a	0.00 a	0.00 a	***
Mv-3-Gl-Cm C (mg/L)	4.84 e	4.54 c	4.60 d	4.50 a	4.52 b	4.52 b	***
Pt-3-Gl-Cm (mg/L)	6.36 f	5.13 d	5.28 e	4.88 a	4.99 c	4.92 b	***
Mv-3-Gl-Cm T (mg/L)	6.46 b	7.61 e	8.26 f	6.29 a	6.82 d	6.69 c	***
Ioln	11.99 a	16.39 b	16.60 c	20.21 e	18.47 d	25.16 f	***
TAN (g/L)	2.54 f	2.40 c	2.50 e	2.19 a	2.34 b	2.44 d	***
EtlN	27.12 d	22.83 a	25.52 b	26.97 c	27.81 f	27.53 e	***
Gln	76.86 f	68.91 c	66.67 b	69.01 d	74.01 e	61.12 a	***
i	0.47 a	0.48 b	0.47 a	0.55 d	0.53 c	0.54 cd	***
ii	0.17 a	0.18 ab	0.17 b	0.23 d	0.22 c	0.23 d	**
i/ii	2.90 f	2.77 d	2.78 e	2.37 b	2.43 c	2.35 a	***
C	2.80 a	3.30 d	3.45 e	3.26 c	3.13 b	3.29 d	***
Ep	4.14 a	4.34 c	4.24 b	4.97 e	4.87 d	4.89 f	***
TA	0.59 a	0.79 b	0.91 d	0.84 c	0.90 d	0.90 d	***
FlaC	7.77 a	7.87 b	8.09 c	8.21 e	8.27 f	8.17 d	***
CI	9.96 a	10.80 c	10.56 b	12.63 f	12.28 d	12.39 e	***
T	0.79 d	0.76 b	0.77 c	0.76 ab	0.76 ab	0.75 a	***
%A420	36.79 f	35.96 d	36.21 e	35.74 c	35.70 b	35.55 a	***
%A520	46.64 a	47.55 c	47.21 b	47.63 e	47.60 d	47.74 f	***
%A620	16.59 b	16.50 a	16.59 b	16.65 c	16.71 d	16.73 e	***
%dA	42.79 a	44.84 c	44.08 b	45.01 e	44.95 d	45.27 f	***

MANOVA: multivariate analysis of variance; TP: total polyphenols; LPP: low polymeric polyphenols; HPP: high polymeric polyphenols; CAT: catechins; ACY: anthocyanins; Ioln: ionization index; TAN: tannins; EtlN: ethanol index; Gln: gelatin index; C: colour due to copigmented anthocyanins; TA: colour due to free anthocyanins; Ep: colour due to polymeric pigments; FlaC: flavonol cofactor; CI: colour intensity; and T: tonality.

Mean values, ( $n=10$ ) followed by different letters mean significant differences at 95% (\*), 99% (\*\*) and 99.9% (\*\*\*) confidence level ( $p$  level) in the Student–Newman–Keuls multiple range test, according to wood origin and ageing as system factors.

This result is related to wine chromatic characteristics, showing lower CI and a significantly lower red in wines treated with chips + MOX from Spanish oak. It has been found that the use of Spanish staves + MOX

gives rise to wines that have significantly greater chemical age (ii) and also higher levels of pigment polymer (Ep). Therefore, the wines aged with *Q. pyrenaica* wood at the end of the wood ageing are going to show an

aspect of colour more evolved. All wines present a similar tannic character since no statistically significant differences were found (Table 1).

The differences between wines from studied systems are accentuated after 6 months in the bottle, with a previous 6 months of wood (Table 2). It has been found that the wines treated with staves of *Q. pyrenaica* and chips of *Q. alba* maintain higher levels of polyphenols. This result is primarily due to the largest polymerizations that take place in these wines, since they present the larger quantities of HPP. It was also found that wines aged with staves show greater CI, %A620, chemical age (i), (ii), FC content, TA, Ep and the level of the ionized anthocyanins (IoIn). Wines aged with chips + MOX showed the highest levels of catechins (CAT), total ACY, TAN, tonality (T) and brownish (%A420). The differences according to wood origin indicate that the anthocyanin trend is very similar to that described in the wood time. The wines with the greatest content in anthocyanin are those treated with chips + MOX, both of Spanish and French oaks ( $p < 0.001$ , Table 2), except for Mv-3-Gl-Py, Mv-3-Gl-Ethyl and Pn-3-Gl-Ac. However, when *Q. pyrenaica* wood is used, the wines treated with staves + MOX presented significantly lower levels of anthocyanins (except Pn-3-Gl and Mv-3-Gl-Ethyl).

The differences found in the acetyl and coumaroyl anthocyanin derivatives in wine during the first 6 months in bottle depend on the type of wood previously used.

The wines aged with Spanish chips + MOX obtained the lowest levels of IoIn. This result agrees to data observed in the colour parameters. We have found that wines aged with Spanish chips + MOX presented significantly smaller levels of %A520 ( $p < 0.001$ ) than others.

The highest blue colour (%A620) is presented in wines treated with Spanish staves + MOX and lowest from Spanish chips + MOX, which display more brownish than the other wines. It also has found a higher chemical age (i) and (ii) in the wine treated with staves + MOX, which connected with a superior level of pigment polymer (Ep), especially in the case of wines from Spanish staves + MOX, which may indicate that these wines will show an additional evolution of its colouring matter into forms more stable.

On the other hand, it has been found that the wines bottled treated with chips + MOX are significantly more tannic than those treated with staves + MOX. The wines with staves + MOX of *Q. pyrenaica* have less astringency, which was estimated by the capacity of the tannins of precipitating the salivary proteins, dry mouth (GIIn). It has been noticed that the wines aged in wood (chips or staves) of *Q. petraea* have more dry tannin than the other wines (Table 2).

The polysaccharides have the capacity to link the smaller tannins blocking the formation of tannins of great molecular weight (which precipitate to proteins in saliva and cause an astringent sensation). When polysaccharides are connected, the tannins exert a protector effect of tannins precipitation diminishing the tannin astringency. The level of tannins associated with polysaccharides is evaluated by EtIn, and at the end of bottling, the wines treated with chips + MOX of *Q. pyrenaica* and staves + MOX of *Q. alba* have the highest percentage of tannins combined with polysaccharides (Table 3).

At the end of the 18 months in the bottle (Table 3), there are statistically significant differences ( $p < 0.001$ ) in the content of almost all parameters analysed in the wine from different systems. As in previous cases, wines treated with chips + MOX had a greater amount of ACY, CAT, TAN, T and brownish (%A420). These results indicate that during an 18-month ageing period in bottle (non-oxidative conditions), the initial anthocyanin profile of chips + MOX wines is maintained, taking into account the variables analysed in this study. In addition, it is important to point out the contribution of polymeric pigments to colour wine properties (Cano-Lopez et al., 2008).

The wines aged with staves, after 18 months in the bottle, show a greater colouring (CI, %A420, T), polymeric pigment (Ep), cofactors flavonol content (FC) and chemical age (i), (ii) which indicates a wine with additional evolution of colour. These processes of wine ageing with wood give rise to a more stable structure and therefore wines with greater colour stability. A decrease in the red component (%A520) and in the yellow component (%A420) was recorded as the ageing time in bottle progressed (Tables 2 and 3). As expected, the hue (Abs 420/Abs 520) was also found to increase with the ageing time in bottle. These changes are consistent with the typical evolution trend of the chips + MOX wine colour from purple-red to brick red hues. In relation to the blue component (%A620), stave wines showed higher values than the chips + MOX ones, probably due to copigmented complexes and to polymerization phenomena with ethyl bridges, which generated red-violet compounds (Atanasova et al., 2002). The slight difference noticed between the trend of the hue and the yellow component indicated that the loss in red component was also compensated, besides from an increase in the yellow component, by an increase in the blue component, which is the other modifier of the base red. The largest differentiation in the wine characteristics seemed to occur during the bottle ageing.

After 18 months in the bottle, wines treated with chips of *Q. pyrenaica* show higher levels of TP, due to the content in LPP and CAT, TAN and ACY.

When Spanish staves are used, the highest level of TP present in wines is due to the higher HPP increase. The wines that maintain the highest level of anthocyanins are treated with Spanish chips + MOX and American staves + MOX. The largest tannicity is obtained by wines treated with Spanish chips + MOX, which present the greater astringency (GIn) and higher level of tannins linked to polysaccharides (EtIn). The cooperage treatment of *Q. pyrenaica* wood permit the wines communicate more tannin character, this result is similar when wines are aged in barrels from this wood (Fernández de Simón et al., 2008).

### Linear discriminant analysis

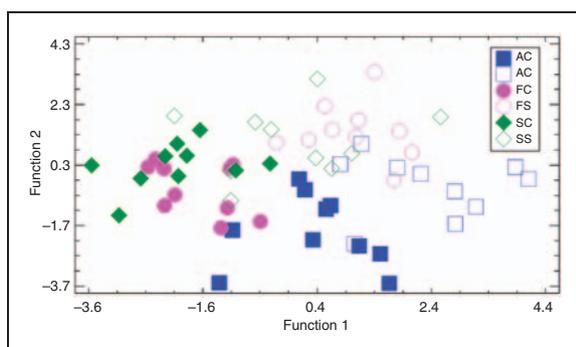
Discriminant analysis (DA) was carried out in order to identify and evaluate the compounds analysed which could be used to distinguish between wines treated in different oak origins as well as between wines treated with different ageing systems (chips + MOX and staves + MOX). The projections of scatter diagram (Figure 1 oak time, Figure 2 bottle time) were obtained. Table 4 shows the variables chosen by the DA model carried out in studied periods. It presents the structure matrix that contains within-group correlation of each predictor variable. The eigenvalues of the canonical functions 1 and 2 and the total variance were explained. From the relative magnitude of the coefficients, it can be determined the importance of independent variables in discrimination among groups.

Figure 1 shows wine distribution on the plane defined by the two principal canonical axes, after 6 months of wood contact. The most separation of ageing systems occurred along discriminant axis 1, with differentiation and classification for wines aged in chips + MOX and staves + MOX. Wines aged in

staves + MOX contact are placed in the positive axis of F1, which is defined by a polymeric pigment (Ep) and free anthocyanin (TA) (Table 4). Wines treated with chips + MOX are defined in the negative axis of F1 related to catechins and flavonol (FC). It was obtained a first eigenvalue of 2.58 with a 0.8493 correlation, while 0.7580 is the F2 correlation with the second eigenvalue (1.35). Function 2 of DA has a closer positive correlation with gelatin and ionization index and red component (A520) and negative with total anthocyanins and tannins (Table 4). The classification matrix of the model when wines are aged with chips + MOX indicated that a correct classification of 70% and 80% has been obtained for wines aged from French and American oak woods, respectively, and of 60% for the Spanish ones. Similar results were found in wines aged in tanks with staves + MOX since a correct classification of 80% was obtained for wines aged from French and 70% from American oak wood, and of 50% for the Spanish ones. It has been noticed that after 6 months of wood contact, the wines aged with *Q. pyrenaica* chips showed similar properties to those aged with French chips. Similarly, when staves + MOX are used, wines treated with *Q. pyrenaica* oak are situated near to those wines aged with FS + MOX (Figure 1).

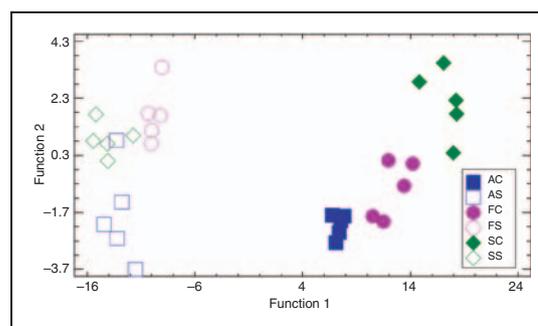
Also, the DA has been carried out using the data of the bottle period (Table 4, Figure 2). This scatter diagram allows us to differentiate (chips + MOX) wines from (staves + MOX) wines. In Figure 2 (bottle period), the groups taking into account the origin of the wood can be seen better than in Figure 1 (oak time).

Furthermore, these results show that during the bottle period studied the wines have acquired specific characteristics that vary according the ageing system



**Figure 1.** Discriminant analysis of wines aged during 6 months with SC (◆); AC (▲); FC (●); SS (◇); AS (△); and FS (○).  $N=10$ .

SC: Spanish oak chips; AC: American oak chips; FC: French oak chips; SS: Spanish oak staves; AS: American oak staves; and FS: French oak staves.



**Figure 2.** Discriminant analysis of wines aged during 18 months in bottle after 6 months of ageing in SC (▲); FC (●); SS (◇); AS (△); and FS (○).  $N=5$ .

SC: Spanish oak chips; FC: French oak chips; SS: Spanish oak staves; AS: American oak staves; and FS: French oak staves.

**Table 4.** Discriminant results (loadings for each variable on the factors, eigenvalues and variance explained) carried out in wines treated with chips and staves from Spanish, American and French oak woods at two different moments of ageing period

	Oak period		Bottle period	
	F1	F2	F1	F2
LPP	-0.3212	0.0072	7.9016	0.8584
HPP	-0.8185	0.3997	12.1121	4.2470
CAT	-1.6815	0.2701	0.6786	-0.7203
ACY	0.7030	-1.8365	-3.1342	-1.9586
TAN	-0.1419	-0.3892	2.6091	-2.3022
i	-0.6074	-0.1155	1.9154	-4.5947
ii	0.4161	0.2282	1.3936	1.8918
C	-1.4582	1.1900	0.0674	1.4280
TA	8.0434	-1.6924	1.0365	-10.2365
Ep	2.1498	-0.3280	-12.0205	-5.2268
FlaC	-8.5709	2.4929	-4.8520	5.4856
EtIn	-0.9086	0.7474	0.8772	-0.2732
GIn	-0.1547	0.8384	0.2712	-0.3154
IoIn	-0.0489	0.3852	0.8292	0.5006
A420	5.4162	-4.9554	-5.8012	14.9276
A520	-0.0435	1.4060	8.5223	-7.2869
A620	-3.1426	2.7778	-3.5023	-1.0390
Eigenvalue	2.5892	1.3510	189.1760	2.5970
Variance	56.1900	29.3100	97.0100	1.3300

LPP: low polymeric polyphenols; HPP: high polymeric polyphenols; CAT: catechins; ACY: anthocyanins; IoIn: ionization index; TAN: tannins; EtIn: ethanol index; GIn: gelatin index; C: colour due to copigmented anthocyanins; TA: colour due to free anthocyanins; Ep: colour due to polymeric pigments; and FlaC: flavonol cofactor.

studied and this make possible the distinction among the wines studied.

Function 1 allows us to distinguish the samples that have been aged during 18 months in bottle. It can be seen that the chips + MOX samples were located in the positive part of discriminant function 1 axis, principally due to their high relative weight in phenolic compounds, while staves + MOX samples were located in the negative part of discriminant function 1 axis, principally due to their high relative weight in Ep, anthocyanins and blue colour component (A620).

Taking into account the position of the wines and the information provided by factors 1 and 2, it can be stated that F1 allows an identification of the ageing system (chips + MOX and staves + MOX) and factor 2 allow us the differentiation of the wines according to the origin of the oak wood.

On the other hand, it is important to point out that within the wines aged with chips (Spanish and French oak) + MOX, there is a big distance that indicates a more heterogeneous evolution than that of wine with American chips. It has been noticed that the characteristics of wines treated with Spanish staves + MOX were halfway between American wines and French wines.

According to the factor matrix, function 2 was positively correlated with yellow colour (A420) and C and negatively related with TA and chemical age (i). These variables have an important effect in wines aged with oak wood. The greatest percentage of correctly classified cases corresponded to the wines from chips + MOX and staves + MOX with 100% in all studied origins. At the end of the study, it has been noticed that wines aged with staves or chips of *Q. pyrenaica* show phenolic properties closer to wines aged with French alternatives than to American ones.

### Sensorial analysis

The results indicate that the wines treated with alternative products manufactured with *Q. pyrenaica* indigenous of Castilla y Leon (Spain), chips or staves with small dosages of oxygen are very well valued by judges. This confirms what has been published in other works about the ageing wines in barrels of *Q. pyrenaica* (Fernández de Simón et al., 2008). The wines have been valued after 6 months in contact with wood and after 6 and 18 months of its bottled. Table 5 shows the summary of the analysis of variance

**Table 5.** Mean for each sensory descriptors evaluated after 6 months of oak period, 6 and 18 months of bottle periods and MANOVA results

	Wood ageing (6 months)						Bottling ageing after wood ageing (12 months)						Bottling ageing after wood ageing (24 months)					
	SC	AC	FC	SS	AS	FS	SC	AC	FC	SS	AS	FS	SC	AC	FC	SS	AS	FS
Intensity	6.7a	6.7a	7.0ab	7.7b	7.8b	7.3ab	*	6.0a	6.2a	6.2a	6.2a	6.4a	6.2a	6.5a	6.6a	6.5a	6.8a	6.8a
Brightness	7.0a	7.0a	7.5a	7.3a	7.0a	7.0a		5.6b	5.4b	5.4b	5.4b	5.4b	4.6a	* 5.0a	4.6a	5.3a	5.0a	5.0a
Blue	4.7ab	4.3a	5.0ab	6.0c	5.3bc	6.0c	**	4.4a	4.6a	4.8a	4.8a	4.8a	4.6a	3.3a	2.8a	2.8a	3.0a	3.0a
Red	5.7a	5.7a	5.0a	5.0a	5.3a	5.0a		5.4b	5.2ab	5.2ab	5.4b	5.4b	5.0a	5.5a	6.0a	5.5a	5.5a	5.5a
Brown	1.0b	0.7b	0.5ab	0.0a	0.0a	0.0a	***	2.2a	1.6a	1.6a	1.2a	1.0a	1.2a	0.8a	2.6a	1.8a	1.8a	1.3a
Aromatic intensity	6.3a	5.0a	6.0a	5.7a	5.3a	5.7a		7.6c	5.8a	6.0ab	7.6c	6.0ab	6.4b	*** 7.8c	5.6a	7.0bc	6.8b	6.5b
Complexity	5.0b	3.3a	5.0b	4.3ab	4.0ab	5.0b		6.0c	4.6ab	4.2a	6.2c	4.6ab	5.6bc	*** 7.0c	4.6a	6.3bc	5.8b	5.3ab
Fruit	3.3a	4.0a	4.0a	3.3a	3.3a	4.0a		3.4a	3.2a	4.4b	4.2b	4.4b	4.6b	*** 2.5a	2.6a	3.5a	3.3a	3.3a
Woody	5.3ab	4.7a	5.0ab	6.3b	5.8ab	4.7a		6.0cd	4.6b	3.2a	6.2d	5.2bc	4.8b	*** 6.3b	4.8a	5.8bc	5.8bc	5.3ac
Toast	5.0bc	3.3a	5.5bc	6.0b	4.5ac	4.7abc	**	5.4c	4.2ab	3.2a	6.6d	4.6ab	4.4bc	*** 5.5c	2.6a	4.5bc	4.8bc	3.8ab
Balsamic	3.3bd	2.0a	4.5cd	5.0c	2.5ab	4.3cd	***	4.0ab	3.4a	3.4a	5.0b	4.6ab	4.6ab	* 3.5ab	2.4a	4.0b	3.5ab	3.5ab
Vanilla	3.3a	3.7a	5.0b	3.7a	3.8a	4.3ab		5.2c	4.2bc	3.0a	3.8ab	4.4bc	5.0c	** 4.8d	1.6a	3.0bc	2.3ab	2.5ab
Coconut	1.0a	2.3a	2.0a	1.7a	2.3a	2.0a		5.0c	2.8ab	2.0a	2.6a	4.0bc	3.0ab	*** 4.5b	2.4a	2.8ab	2.0a	3.0ab
Pepper	1.7a	1.3a	1.5a	2.7a	1.3a	2.7a		2.4ab	1.6a	1.8a	3.0b	1.6a	2.2ab	** 2.8c	2.0abc	1.8abc	2.5bc	1.3ab
Cinnamon	2.7a	4.3a	4.5a	3.7a	3.0a	3.3a		5.4b	3.0a	3.2a	4.0ab	4.4ab	5.6b	** 5.0c	2.2a	4.5bc	2.3a	2.8a
Cocoa	1.7ab	1.0a	2.0abc	3.0c	1.0a	2.7bc	**	2.2ab	2.2ab	1.2a	3.2b	1.6a	3.0b	** 4.0c	1.8ab	3.3bc	1.8ab	1.8ab
Liquorice	2.3a	2.0a	3.5a	2.7a	2.3a	3.0a		2.4c	1.8ab	1.4a	2.0bc	1.6ab	1.8ab	* 2.5bc	1.6abc	2.3abc	3.0c	2.3abc
Volume	6.0a	5.7a	6.5a	6.3a	5.3a	6.3a		6.0ab	6.0ab	5.8ab	6.2b	6.0ab	5.4a	6.0a	6.0a	5.8a	7.0bc	6.0a
Acidity	5.0b	5.0b	5.0b	5.0b	4.5a	5.0b	**	4.8a	4.8a	4.4a	4.8a	4.8a	4.8a	5.3a	5.2a	4.8a	4.8a	4.8a
Tannin intensity	6.7b	6.7b	7.0b	6.3ab	5.8a	6.3ab		5.8ab	5.4a	5.4a	6.4b	5.6a	5.6a	* 6.3a	6.2a	6.3a	6.5a	6.0a
Round tannins	1.7a	2.3a	2.0a	2.3a	2.5a	2.0a		3.0a	3.8a	3.2a	3.6a	3.0a	2.4a	4.3b	2.8a	4.3b	3.5ab	2.8a
Green tannins	2.7a	2.3a	2.5a	3.0a	2.3a	2.7a		2.4a	2.4a	3.8b	2.6a	2.4a	3.2ab	** 3.0a	2.6a	3.0a	3.3a	2.8a
Dry tannins	5.3a	4.3a	5.0a	5.0a	4.0a	5.3a		4.8b	3.6ac	2.8a	4.4bc	4.6bc	4.4bc	** 2.5a	5.2b	3.5a	3.5a	3.5a
Harmony	4.7a	5.0a	6.5b	5.7ab	4.8a	5.3ab		5.6a	5.6a	5.6a	6.2a	5.6a	6.0a	6.3b	5.0a	6.8b	6.4b	6.8b
Persistence	6.0ab	5.3ab	6.5b	6.3b	5.0a	5.3ab		6.4a	6.0a	6.0a	6.2a	6.2a	6.2a	7.3c	5.4a	7.3c	6.9bc	6.3b
Global value	5.3ab	5.3ab	6.5b	6.3b	4.5a	6.0b	**	6.4c	6.0bc	5.2a	6.4c	5.6ab	6.2bc	** 6.8b	5.2a	7.0b	6.9b	6.5b

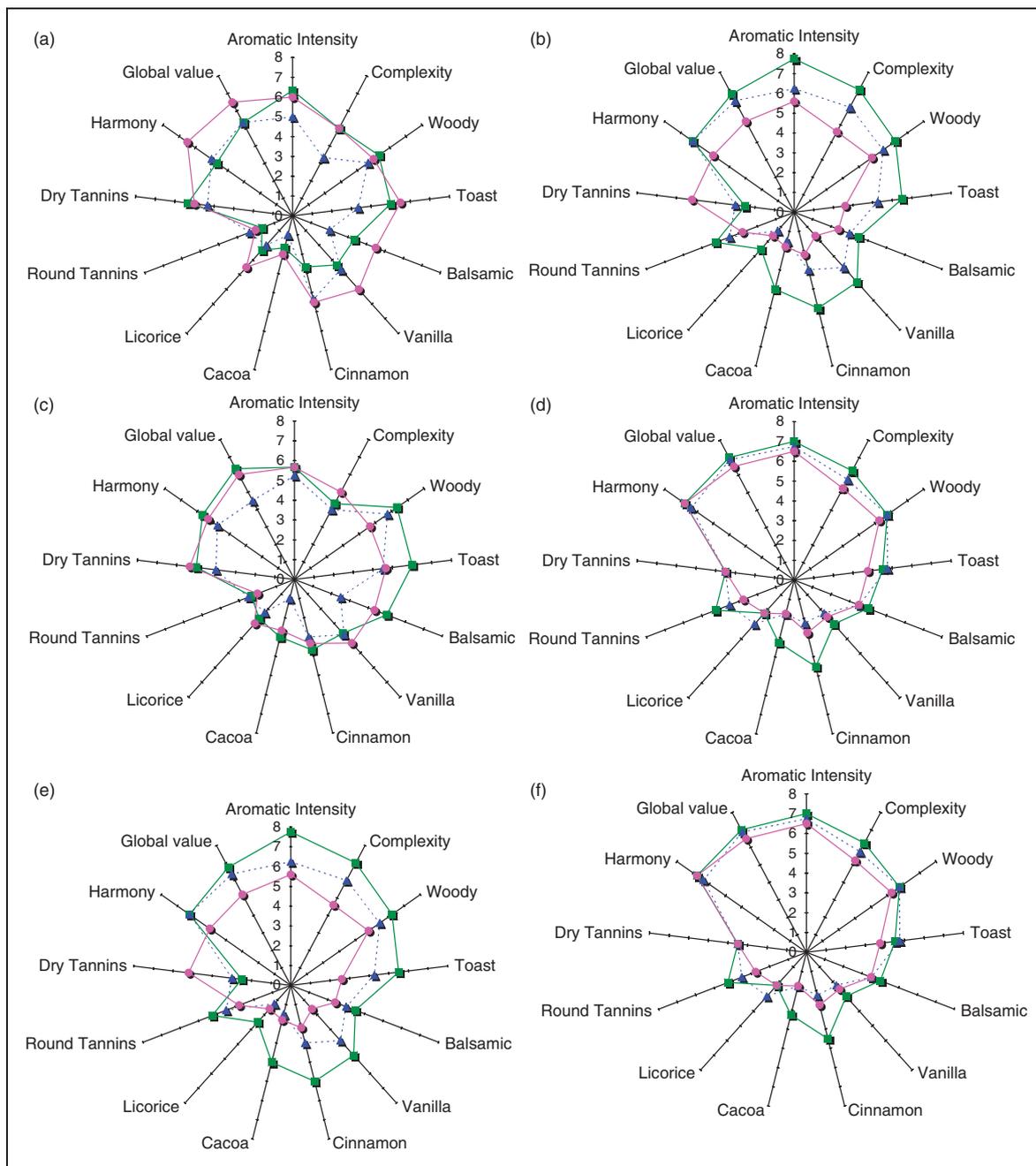
MANOVA: multivariate analysis of variance; SC: Spanish oak chips; AC: American oak chips; and FC: French oak chips; SS: Spanish oak staves; AS: American oak staves; and FS: French oak staves.

Mean values, ( $n = 10$ ) followed by different letters mean significant differences at 95% (\*), 99% (\*\*), and 99.9% (\*\*\*) confidence level in the Student–Newman–Keuls multiple range test, according to wood origin and ageing as system factors.

and mean values for some attributes analysed. The results obtained pointed out the strong influence of the origin and ABP size factor on many sensory attributes of the wines.

It has been found some significant differences in the visual valuation of wines after ageing for 6 months in

contact with wood. The wines aged with chips, especially of *Q. pyrenaica* oak, are more brownish than those treated with staves + MOX, similar to the results of the wood period (Table 1). Later, after 18 months of bottle ageing, there are no significant differences in the red colour in wines aged with the different oak



**Figure 3.** Sensorial profile with average attributes influenced by oak origin and 6 months of oak period with: (a) chips and (b) staves; 6 months of bottle period with: (c) chips and (d) staves; and 18 months of bottle period with: (e) chips and (f) staves. Spanish oak staves (■); American oak staves (▲); and French oak staves (●).

products (Table 5). However, differences have been found in olfactory and taste phases, especially when the wines have spent the first 6 months in the bottle. Figure 3 shows the profile sensory of wines treated with the different ABPs manufactured with American, French and Spanish oaks.

The main differences were found in the sensorial attributes related to ageing in wood (Figure 3). Thus, and generally speaking, the wines aged in *Q. pyrenaica* showed higher values of woody attributes and wood–wine interaction. These results agree to those achieved during ageing wine in barrels made from *Q. pyrenaica* (Fernández de Simón et al., 2008).

The wines aged with *Q. pyrenaica* showed organoleptic characteristics of wines aged with American and French oaks. They show the typical characteristics of wines aged with American oak (vanillas and coconuts)

as well as important notes such as smoked and spicy expected in the wines aged in French oak.

It has been found throughout the bottle studied period (6–18 months) that wines treated with chips + MOX and staves + MOX of *Q. pyrenaica* showed significantly higher levels in aromatic intensity, aromatic complexity, woody, balsamic and cocoa (Table 5), and in addition, when *Q. pyrenaica* chips were used, the wines showed significant levels of toast, vanilla, coconut, pepper, cinnamon and liquorice (Table 5).

The highest levels of balsamic, toast and pepper were found in wines treated with staves + MOX of *Q. pyrenaica* after the first 6 months of bottle; however, they decreased during the following year of the bottle period (Figure 3(d) and (f)).

The wines aged with staves + MOX oak, *Q. pyrenaica*, were the most intense in flavour, had the greatest

**Table 6.** Correlation level between TCO and sensorial parameters with  $p < 0.05$

	Ageing system		Ageing time			A		B		C	
	Ch	St	A	B	C	Ch	St	Ch	St	Ch	St
Intensity											
Clarity				−0.32							
Blue			0.37								
Red											
Yellow			−0.48								
Aromatic intensity	−0.37	−0.24		−0.35	−0.3			−0.45	−0.53	−0.5	
Complexity	−0.29				−0.4					−0.45	
Fruit				0.43							
Woody	−0.35	−0.47		−0.26		−0.5	−0.51	−0.58			
Toast	−0.33	−0.46					−0.38	−0.69	−0.43		
Balsamic											
Vanillin	−0.33				−0.5		−0.42	0.37	−0.51		
Coconut	−0.23						−0.37				
Pepper											
Cinnamon	−0.25				−0.4					−0.41	−0.42
Cocoa					−0.3						
Liquorice				−0.3				−0.43			
Volume								−0.49			
Acidity											
Tannin intensity									−0.37		
Round tannins		−0.26			−0.4						−0.61
Green tannins											
Dry tannins										0.46	
Harmony						0.52					
Persistence		−0.27			−0.3					−0.43	−0.7
Global value										−0.42	−0.44

Ch: chips; St: staves; and TCO: total consumed oxygen.

roundness in mouth and were the best rated. When chips were used, it has been noticed that throughout the bottle period wines aged in oak, *Q. pyrenaica*, had the highest ratings in aromatic intensity and vanilla. (Figure 3(c) and (e)).

At the end of the bottle period, wines treated with chips and staves + MOX made of *Q. pyrenaica* were the best rated in complexity, aromatic intensity, harmony, round tannins, persistence and global value (Table 5, Figure 3(e) and (F)). On the other hand, vanilla, balsamic, cinnamon and cocoa present in wines aged with *Q. pyrenaica*, indigenous to Castilla y Leon (Spanish region) were responsible for a peculiar touch, highly valued by the tasters.

In order to know the influence of consumed oxygen during micro-oxygenation process with wood in sensorial characteristics of aged wine, a correlation analysis was done between evaluated sensory attributes and the total consumed oxygen (TCO). Table 6 shows the obtained results with a level of significance over 95%. All the data have been considered according with the ageing system (chips and staves) after each considered ageing period, differentiate between chips and staves.

It is noted that the greater is the time of ageing wines, the greater importance has oxygen that consumed the wine during its contact with wood. Specifically, it has obtained the highest number of significant correlations between the sensory attributes and TCO in the wine that takes 18 months in the bottle. Therefore, the amount of TCO is very important in the characteristics of bottled wines. In addition, the relationship between TCO sensory attributes is more significant when the wines were aged with chips that with staves, possibly because of the greater interaction between wine and wood that occurs with the use of chips. Noted that in all cases, the attributes most affected by the TCO are aromatic intensity, woody, toast, persistence, vanilla, cinnamon, coconut, round tannins and complexity. Therefore, taking into account that the correlation has negative sign, we can assume that the greater consumption of oxygen causes in the wines lower level in the attributes mentioned.

Overall, wines aged in *Q. pyrenaica* wood were characterized by high levels of toasting, balsamic, liquorice or wine-wood interaction wood attributes. As for barrels (Fernández de Simón et al., 2008), wines aged with ABP made of *Q. pyrenaica* wood were highly regarded, and preference was shown for them over those that had been aged with ABP of American or French oak. When considering phenolic compounds present in wine after 6 months of wood contact, the wines aged with *Q. pyrenaica* chips are next to those of French wood, while the wines aged with *Q. pyrenaica* staves + MOX are close to those aged in American wood. However, after the bottle period, the wines aged with *Q. pyrenaica* chips or

staves + MOX are different from those of French wood.

## CONCLUSIONS

Wines aged in Spanish AOP (chips and staves) from Castilla y Leon are highly regarded and preference is showed for them over those aged with American and French oaks. Broadly speaking, during bottle period, the wines with Spanish oak (*Q. pyrenaica*) showed up for their content in vanilla, balsamic, cinnamon and cocoa. Regarding the chemical and chromatic characteristics at the end of the bottle period significant differences were found in most of the parameters studied in the wine due to the origin of the wood and the ageing system. Hence, wines with chips + MOX of *Q. pyrenaica* showed the highest levels of ACY, CAT, Gln, TAN and %A420 in comparison with the same wines aged in American and French oak woods. Nevertheless, the wines aged with staves of *Pyrenaica* showed up mainly due to the chemical age and chromatic parameters (presenting more colouring intensity and yellow component).

The total oxygen consumed influenced in sensorial characteristics of aged wine specially in wines with 18 months of bottle, affecting to aromatic intensity, woody, toast, persistence, vanilla, cinnamon, coconut, round tannins and complexity.

## FUNDING

This study was financed by CESEFOR and Spanish Government (Project RTA-06-00078, Project JCyL VA030A06).

## ACKNOWLEDGEMENTS

The authors appreciate the cooperation of Enrique Esteruelas from Tonelería Intona (Navarra, Spain), M Broto and I Lizarralde from CESEFOR (Soria, Spain). L Gallego was supported by a pre-doctoral fellowship from University of Valladolid.

## REFERENCES

- Amati A and Arfelli G. (2001). Vino nel legno o legno nel vino? I risultati delle esperienze di uso di chips in Italia. *L'Enologo* 37(10): 57–66.
- Atanasova V, Fulcrand H, Cheynier V, et al. (2002). Effect of oxygenation on polyphenol changes occurring in the course of wine-making. *Analytica Chimica Acta* 458(1): 15–27.
- Boulton RB (1996). Methods for the assessment of copigmentation in red wines. In: *47th annual meeting of the American society for enology and viticulture*, Reno, NV, 26–28 June 1996.
- Cano-Lopez M, Pardo-Minguez F, Schmauch G, et al. (2008). Effect of micro-oxygenation on color and anthocyanin-related compounds of wines with different phenolic

- contents. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56(14): 5932–5941.
- Castellari M, Simonato B, Tornielli GB, et al. (2004). Effects of different enological treatments on dissolved oxygen in wines. *Italian Journal of Food Science* 16(3): 387–396.
- CEE (2006). *Reglamento 1507/2006 de Utilización de trozos de madera de roble en la elaboración de vinos y a la designación y presentación de los vinos sometidos a ese tratamiento. Diario Oficial L 280 de 12/10/2006*, pp.9–11.
- Chatonnet P (2007). Productos alternativos a la crianza en barrica. Iª parte: Utilización en el mundo y tipologías. In: *IV Encuentro Enológico. Crianza en barricas y otras alternativas*, Madrid, 20 Marzo 2007, pp.5. Madrid: Fundación para la Cultura del Vino.
- Chatonnet P and Dubourdieu D. (1998). Comparative study of the characteristics of American white oak (*Quercus alba*) and European oak (*Quercus petraea* and *Q. robur*) for production of barrels used in barrel aging of wines. *American Journal of Enology and Viticulture* 49(1): 79–85.
- del Alamo M and Nevares I. (2006). Wine aging in bottle from artificial systems (staves and chips) and oak woods: anthocyanin composition. *Analytica Chimica Acta* 563(1–2): 255–263.
- del Alamo M, Nevares I, Cárcel LM, et al. (2004a). Analysis for low molecular weight phenolic compounds in a red wine aged in oak chips. *Analytica Chimica Acta* 513(1): 229–237.
- del Alamo M, Nevares I and Merino S. (2004b). Influence of different aging systems and oak woods on aged wine color and anthocyanin composition. *European Food Research and Technology* 219(2): 124–132.
- del Alamo M, Nevares I, Gallego L, et al. (2009). Envejecimiento de vinos con productos alternativos de rebollo (*Q. pyrenaica* Willd.) Parametros basicos y color. In: *XXX Jornadas de Viticultura y Enología Tierra de Barros*. Badajoz: Cultural Santa Ana, pp.37–51.
- del Álamo M, Nevares I, Gallego L, et al. (2010). Micro-oxygenation strategy depends on origin and size of oak chips or staves during accelerated red wine aging. *Analytica Chimica Acta* 660(1–2): 92–101.
- del Alamo M, Nevares I, Gallego L, et al. (2008). Aging markers from bottled red wine aged with chips, staves and barrels. *Analytica Chimica Acta* 621(1): 86–99.
- del Alamo Sanza M. (2006a). Effet des techniques de vieillissement accéléré dans la composition phénolique des vins rouges. *Revue des Oenologues* 33(122): 21–26.
- del Alamo Sanza M (2006b). Sistemas alternativos al envejecimiento en barrica. *ACE Revista de Enología* 74(Octubre). Available at: [http://www.acenologia.com/ciencia76\\_03.htm](http://www.acenologia.com/ciencia76_03.htm) (accessed 17 February 2012).
- du Toit WJ, Marais J, Pretorius IS, et al. (2006). Oxygen in must and wine: A review. *South African Journal of Enology and Viticulture* 27(1): 76–94.
- EEC (1990). *Community methods for the analysis of wines*. Commission Regulation no. 2676/90, 17 September 1990. Brussels, Belgium: European Union.
- Fernández de Simón B, Cadahia E, Muino I, et al. (2010). Volatile composition of toasted oak chips and staves and of red wine aged with them. *American Journal of Enology and Viticulture* 61(2): 157–165.
- Fernández de Simón B, Cadahia E, Sanz M, et al. (2008). Volatile compounds and sensorial characterization of wines from four Spanish denominations of origin, aged in Spanish rebollo (*Quercus pyrenaica* willd.) oak wood barrels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56(19): 9046–9055.
- Fernández de Simón B, Sanz M, Cadahia E, et al. (2006). Chemical characterization of oak heartwood from Spanish forests of *quercus pyrenaica* (Wild.). ellagitannins, low molecular weight phenolic, and volatile compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54(21): 8314–8321.
- Folin O and Ciocalteu V. (1927). On tyrosine and tryptophane determination in proteins. *Journal of Biological Chemistry* 73(2): 627–650.
- Glories. (1984). The colour of red wines. Part II. Measurement, derivation and interpretation. *Connaissance de la Vigne et du Vin* 18(4): 253–271.
- Masquelier J, Michaud J and Triaud J. (1965). Fractionnement des leucoanthocyanones du vin. *Bulletin de la Société de Pharmacie de Bordeaux* 104(2): 81–85.
- Ministerio de Medio Ambiente (2002). *III inventario forestal español*. Madrid: Ministerio de Medio Ambiente.
- Moutounet M and Mazauric JP. (2001). L'oxygène dissous dans les vins: Les gaz en oenologie. Dissolved oxygen in wines. *Revue française d'oenologie* 186: 12–15.
- Nevares I and del Alamo M. (2008). Measurement of dissolved oxygen during red wines tank aging with chips and micro-oxygenation. *Analytica Chimica Acta* 621(1): 68–78.
- Nevares I, del Alamo M and Gonzalez-Muñoz C. (2010). Dissolved oxygen distribution during micro-oxygenation. Determination of representative measurement points in hydroalcoholic solution and wines. *Analytica Chimica Acta* 660(1–2): 232–239.
- Norms I. (1997). Sensorial analysis. In: Aenor NA (ed) *Compilation of UNE Norms*. Madrid, Spain: AENOR, vol. 1. p.71, 970.
- Paronetto L. (1977). *Polifenoli e Tecnica Enologica*. Bologna: Edagricole, 115–116.
- Piracci A, Bucelli P, Faviere V, et al. (2001). Frammenti legnosi e vino: alcune specifiche tecniche di chips e staves di rovere. *L'Enologo* 7-8: 97–106.
- Ribèreau-Gayon P and Stonestreet E. (1966). Dósaage des tanins du vin rouges et détermination du leur structure. *Chimica Acta* 48: 188–196.
- Somers TC and Evans ME. (1977). Spectral evaluation of young red wines: Anthocyanin equilibria, total phenolics, free and molecular SO<sub>2</sub>, chemical age. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 28(3): 279–287.
- Sullivan P. (2002). *The Effects of Microoxygenation on Red Wines*. Los Angeles, CA: California State University.
- Swain T and Hillis W. (1959). The phenolic constituents of “*Prunus domestica*”. I-The quantitative analysis of phenolic constituents. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 10(1): 63–68.
- Zamora Marín F. (2003). *Elaboración y Crianza del Vino Tinto: Aspectos Científicos y Prácticos*. Madrid: Antonio Madrid Vicente, 57–66.



## Micro-oxygenation strategy depends on origin and size of oak chips or staves during accelerated red wine aging

María Del Álamo<sup>a</sup>, Ignacio Nevares<sup>a,\*</sup>, Laura Gallego<sup>a</sup>, Brígida Fernández de Simón<sup>b</sup>, Estrella Cadahía<sup>b</sup>

<sup>a</sup> E.T.S. Ingenierías Agrarias, Universidad de Valladolid, Avda. Madrid 44, 34071 Palencia, Spain

<sup>b</sup> Departamento de Productos Forestales, Centro de Investigación Forestal (CIFOR), Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA), Apdo. 8111, 28080 Madrid, Spain

### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received 1 October 2009

Received in revised form

13 November 2009

Accepted 14 November 2009

Available online 26 November 2009

#### Keywords:

Aging

Chips

Colour

*Q. alba*

*Q. petraea*

*Q. pyrenaica*

Microoxygenation

Oxygen

Phenolic compounds

Red wine

Staves

### ABSTRACT

The practice of wine aging in stainless steel tank involves storing wine in contact with wood and dosing it with small oxygen quantities in order to obtain a final wine more stable in time and with the same characteristics of barrel-aged wines. Oxygen dosing is a key factor and, to achieve a correct development of wine, needs to be applied according to wine necessities and to the kind of wood chosen. This paper shows the results obtained from the study of oxygen required by a same wine aged in tanks with different alternative products (chips and staves) made of American (*Q. alba*), French (*Q. petraea*) and Spanish oak (*Q. pyrenaica*), with a strategy of micro-oxygenation as required. The results indicate that the size and origin of the wood used determine the oxygen management during the process. In fact, wine treated with big pieces (staves) consumes more oxygen and, with regard to wood origin, wine aged with French oak (*Q. petraea*) products needs of a higher oxygen dosage.

© 2009 Elsevier B.V. All rights reserved.

### 1. Introduction

Wine aging in barrels needs a thoughtful consideration of the species of wood to be used. The barrel is usually chosen depending on wood origin and the processes used in its manufacturing (seasoning and toasting). Botanic and geographic origin of wood define its structure (density, porosity, permeability, etc.), i.e. parameters that determine the kind of wood grain chosen, term used in barrel-making to refer to the distance between tree rings. Furthermore, the abundance of tyloses, which causes the impermeabilization of oak wood to liquids and the oxygen permeability through the tyloses, decides the suitability of each oak wood for barrel-making as well as the manufacturing process that will be used [1,2]. Since oxygen contribution, essential in wine aging [3–5], depends heavily on the tylosis of wood, then, the species of wood the barrel is made of will allow a different and particular oxygen contribution [6–8]. Therefore, two aspects related to barrels have to be considered in the aging process. On one hand, the oak wood composition result-

ing after barrel-making processes (drying, bending and toasting) because wood compounds transference into wine will vary depending on the wood chosen [9,10]. On the other hand, the oxygen contribution to wine happening during the aging process defines wine and it will be quite different according to the kind of wood and manufacturing techniques used in the barrel [6,11].

According to what has been set out above, when a wine is aged in systems alternative to barrels, using alternative oak products (AOP) and small oxygen doses (MOX), it follows that oxygen management would be individually tailored to suit each kind of product (chips or staves or cubes) and each botanic wood origin. If we consider the different ways of adding oxygen to tank aging systems, we come across two completely different strategies. The first one (usual MOX management) consists on a continuous adding small fixed doses of oxygen ( $\text{mg L}^{-1} \text{month}^{-1}$ ) called micro-oxygenation (MOX), which is not precisely controlled. The doses added have to be similar to the quantity of the oxygen contributed to the wine through the barrel wall which in previous studies has been estimated in values ranging between 2 and 4  $\text{mL L}^{-1} \text{month}^{-1}$  [12], which generally no precisely controlled [3,13]. For new barrels Hidalgo Togores [14] proposes 2–4  $\text{mg L}^{-1} \text{month}^{-1}$  as an average value of oxygen contributed by diffusion through the barrel. Kelly and Wollan [15]

\* Corresponding author. Tel.: +34 979 108355; fax: +34 979 108302.  
E-mail address: [inevares@iaf.uva.es](mailto:inevares@iaf.uva.es) (I. Nevares).

have calculated the barrel's own oxygen diffusion potential to be less than  $2.5 \text{ mL L}^{-1} \text{ month}^{-1}$ . Further, it has been estimated that diffusion from the headspace surface can account for a very low oxygenation rate of  $0.4 \text{ mL L}^{-1} \text{ month}^{-1}$ . Considering all these values, it has been established that the incorporation of oxygen to the wine through the barrel is of  $1 \text{ mg L}^{-1} \text{ month}^{-1}$ . It must be added the quantity of oxygen contributed during the initial filling of barrels which varies between 1 and  $6 \text{ mg L}^{-1}$ . Clearly, different values are considered but since the aim of any aging process is to improve wine characteristics, then the appropriate quantity of oxygen to add is the one that can be consumed by wine without producing oxidation problems [16]. The use of this strategy involves a fixed dose of oxygen that does not consider the type of AOP (size, origin, toast, etc.). However it would be interesting to better manage the red wine aging process, controlling its exposure to oxygen [3]. A particular dosing is essential to adjust the aging process to the different oak wood used in barrel-making such as it happens naturally in barrel aging.

According to the natural differences derived from wood origin, we propose a second strategy in order to consider them. This second strategy consists on an oxygenation adapted to the demands of the different species of oak wood, and we know it as floating dosage micro-oxygenation (FMOX). The importance of the differentiation between oak's origins based on wood characteristics, which determine the amount of oxygen reaching the barrel, disappears when the wood is submerged into the wine. In this case, this differentiation can be reached by the micro-oxygenator device, carry out through different work conditions. It is an adaptative dosage up to the level of dissolved oxygen desired in wine and to be kept during the aging process to ensure the best integration wood–wine [17]. In this strategy, it is essential to mark a level of dissolved oxygen as a setpoint, i.e. the content of dissolved oxygen that has to be available to wine during the whole process.

The main goal of this paper is to analyze the oxygen consumption of a same wine aged in alternative systems and its final characteristics. It focuses on a new micro-oxygenation strategy (FMOX) considering the origin and wood size used. This strategy has been used in a same wine aged in tanks with chips or staves made of different oak wood (*Q. alba*, *Q. petraea*, *Q. pyrenaica*) and it has been studied how each one relates with wine composition.

## 2. Materials and methods

### 2.1. Wine and wood samples

A red young wine made from a red single-variety grape (cv. Tinta del País) belonging to Spanish appellation of origin Ribera del Duero was treated in different aging systems for a period of 6 months. The wine with the given aging quality level (total acidity  $4.9 \text{ g L}^{-1}$ , volatile acidity  $0.47 \text{ g L}^{-1}$ , sugars  $1.3 \text{ g L}^{-1}$ , alcoholic degree 13.6%, colour intensity 13, and total polyphenol  $2.1 \text{ g L}^{-1}$ ) was sulphited with  $35 \text{ mg L}^{-1}$  of potassium metabisulphite ( $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_5$ ). These parameters were evaluated before the wine was transferred into tanks and also during aging, according to EEC methods [18]. Over the course of the investigation further additions of  $\text{SO}_2$  were made similarly in all the tanks after every sampling in order to maintain the level as low as possible ( $25 \text{ mg L}^{-1}$ ) avoiding the interference in the MOX processes [19,20].

The oak heartwood used in this work comes from staves of *Q. petraea* trees grown in Central region (France), from *Q. alba* trees grown in Missouri (USA), and from *Q. pyrenaica* trees (also called "Rebollo") grown in Salamanca (Spain), provided by Tonelería Intona, SA (Navarra, Spain). The seasoning of the wood was carried out in the open air for 3 years, at cooperage, in the usual way. After seasoning the wood was cut in two sizes: chips ( $1 \text{ cm} \times 0.5 \text{ cm}$ , approximately) and fine staves ( $100 \text{ cm} \times 8 \text{ cm} \times 1 \text{ cm}$ ), and toasted

at medium intensity level ( $200^\circ\text{C}$  for 35 min), in an industrial-scale convection oven, with supports specially adapted to staves or special oven trays for chips. All woods were manufactured (seasoning and toasting) at the same time by the same cooperage.

The wine was stored into two different aging systems: stainless steel 225-L tanks with oak chips and MOX and stainless steel 225-L tanks with oak staves and MOX. Every aging system has been used in duplicate way. The relation surface/volume of 225-L barrels was calculated in order to determine the quantity of chips and staves necessary to reproduce the same relation in 225-L stainless steel tanks [21]. The staves used were measured individually and numbered in order to use the exact wood surface. The chips dosage was determined by the weight of chips distributed in a known surface. The wines were aged at the same wine cellar where humidity and temperature conditions were controlled at 65–75% and  $15\text{--}16^\circ\text{C}$  in order to MOX in the best way [13,16] over the aging period. The wines were sampled periodically from each aging system and from control system during 195 days.

### 2.2. MOX device and MOX regimes

All tanks with wood were micro-oxygenated using Eco2 device (Oenodev, France) and ceramic diffusers. A floating MOX strategy, with a DO setpoint of  $20 \mu\text{g L}^{-1}$ , was chosen [22]. This dosage was checked with each dissolved oxygen measurement and then increased or decreased according to the DO level of each reading.

### 2.3. Oxygen determination

The DO measurement system used was able to measure oxygen concentrations at  $\mu\text{g L}^{-1}$  (ppb) level. An Electrochemical system was selected, model 3650/111 Micrologger O2 (Orbisphere Laboratories, Geneva, Switzerland) and it was equipped with a sensor of measure range from  $0.1 \mu\text{g L}^{-1}$  (ppb) to  $80 \text{ mg L}^{-1}$  (ppm) with an accuracy  $\pm 0.001 \text{ mg L}^{-1}$  and a detection limit from  $0.1 \mu\text{g L}^{-1}$  using the most sensitive membrane. It was fitted in a stainless steel flow chamber. The conditions of micro-oxygenated wines were not altered because it was used a non-intrusive pumping system based on a small peristaltic reversible turn pump equipped with Tygon® tube. A flow rate of  $10 \text{ mL min}^{-1}$  was used in order to avoid the influence of oxygen consumption by the probe and the oxygen diffusion when low oxygen concentrations of samples should be measured at very low flow rates ( $\leq 0.1 \text{ mL min}^{-1}$ ). This enabled the use of a tangential flux, fundamental to carry out a correct measure of the DO [23]. All the system was argon inerted and equipped with quick-connectors that linked all tanks with non-permeable flexible tubing in order to avoid interferences. Wine samplings were taken mid-height in each tank. Wine was returned to tanks impelled with argon, in order to guarantee the no oxygenation of the system at any time. This procedure was previously tested to verify the absence of oxygen permeability through the walls of the tubing or the fittings [16].

The electrochemical equipment was calibrated in air as valid option before every reading, besides zero calibration was performed in electrochemical systems between every tank reading when the installation was purged with argon to return the wine to the tank. The sensors were chemically reconditioned and the membranes replaced if the zero calibration was above  $2 \mu\text{g L}^{-1}$  [24]. A detailed calibration in air-saturated water at constant temperature as related in other works was done monthly [25].

### 2.4. Consumed oxygen determination

The oxygen consumed by the wine aged in stainless steel tanks was calculated by difference among the oxygen dosage and the remaining dissolved oxygen at every moment. Additionally, it was

considered the additional oxygen introduced during the filling of the containers as well as the typical air content of AOP. The quantity of oxygen contributed during the initial filling of tanks, which varies between 0.3 and 6 mg L<sup>-1</sup>, needs to be added [14,16,26]. AOP have certain quantities of air in their interior which mean an additional oxygen contribution that can be estimated in 8.67 mg of oxygen per each 100 g of staves and 13.33 mg of oxygen per each 100 g of chips (modified from Piracci) [27,28].

Consumed oxygen was calculated every reading day, and oxygen doses readjusted when necessary. Also it was made in mL L<sup>-1</sup> time<sup>-1</sup> for inter-period between sampling and in mg L<sup>-1</sup> for accumulated data. The sampling periods were set at 35, 45, 70, 90, 110, 130, 150 and 195 accumulated days.

## 2.5. Wine analysis

### 2.5.1. Extraction and analysis of volatile wood compounds

Volatile compounds were extracted from wines with dichloromethane [29]. Three internal standards were used: 3,4-dimethylphenol (20 mg L<sup>-1</sup> in 95% ethanol), for volatile phenols, *o*-vanillin (1 mg mL<sup>-1</sup> in 95% ethanol), for phenolic aldehydes, and  $\gamma$ -hexalactone (2 mg mL<sup>-1</sup> in 95% ethanol), for the remaining compounds. In all cases, the samples were analyzed in duplicate. Analyses were performed using an Agilent 6890N gas chromatograph (Palo Alto, CA) equipped with a quadrupole mass spectrophotometer Agilent 5975B inert. Samples were injected in split mode (30:1), and volatiles were separated using a fused silica capillary column (Supelcowax-10) (30 m  $\times$  0.25 mm id, and 0.25  $\mu$ m film thickness), supplied by Supelco (Madrid, Spain), and under the working conditions described in other works [30]. Quantitative determinations were carried out by the internal standard method, using peak areas obtained from selected ion monitoring (SIM). The selected ions for each one of the evaluated compounds were: **107/122**, 3,4-dimethylphenol; **152**, *o*-vanillin; **85**,  $\gamma$ -hexalactone; **109/124**, guaiacol; **123/138**, 4-methylguaiacol; **137/152**, 4-ethylguaiacol; **137/166**, 4-propylguaiacol; **135/150**, 4-vinylguaiacol; **94**, phenol; **107/122**, 4-ethylphenol; **91/120**, 4-vinylphenol; **107/108**, *o*-cresol, *p*-cresol, and *m*-cresol; **164**, eugenol and *cis*- and *trans*-isoeugenol; **139/154**, 2,6-dimethoxyphenol (syringol); **194**, 4-allyl-2,6-dimethoxyphenol (4-allylsyringol); **95/96**, furfural; **109/110**, 5-methylfurfural (5MF); **97/126**, 5-hydroxymethylfurfural (HMF); **97/98**, 2-furanmethanol; **99**, *cis*- and *trans*- $\beta$ -methyl- $\gamma$ -octalactone (W lactone); **126**, maltol; **112**, cyclotene; **85/128**, furaneol, **128**, dihydromaltol; **124**, 2,5-furandicarboxaldehyde, **95**, 1-*H*-pyrrolcarboxaldehyde, **151/152**, vanillin; **151/166**, acetovanillone; **181/182**, syringaldehyde; **181/196**, acetosyringone; **178**, coniferaldehyde; and **208**, sinapaldehyde. The *m/z* ion in boldface was used for quantification. The concentrations of each substance were measured by comparison with calibrations made with pure reference compounds analyzed under the same conditions. The corresponding calibration was made for each compound, and linear regression coefficients between 0.98 and 0.999 were obtained.

### 2.5.2. Phenolic parameter and colour determination

Total anthocyanins (ACY, as mg L<sup>-1</sup> of Malvidin-3-O-glucoside) were analyzed by means of colour changes according to the pH of the medium [31], tannins (TAN as mg L<sup>-1</sup> of chloride of cyanidin) by method of Ribereau-Gayon and Stonstreet [32] and finally catechins (CAT as mg L<sup>-1</sup> of D catechin) were analyzed following the method described by Swain and Hillis [33]. Ionization index (I index), gelatin index (G index), ethanol index (Et index) were analyzed according Zamora methods [34]. Anthocyanin analyzed according to del Álamo and Nevares [35] were Delphinidin-3-O-glucoside (Df-3-Gl); Cyanidin-3-O-glucoside

(Cy-3-Gl); Petunidin-3-O-glucoside (Pt-3-Gl); Peonidin-3-O-glucoside (Pn-3-Gl); Malvidin-3-O-glucoside (Mv-3-Gl); vitisin A (vitA), acetyl derivatives: Delphinidin-3-O-acetylglucoside (Df-3-Gl-Ac); Cyanidin-3-O-acetylglucoside (Cy-3-Gl-Ac); Petunidin-3-O-acetylglucoside (Pt-3-Gl-Ac); Peonidin-3-O-acetylglucoside (Pn-3-Gl-Ac); Malvidin-3-O-acetylglucoside (Mv-3-Gl-Ac) and sum of coumaryl derivatives (Scum): Delphinidin-3-O-p-coumarylglucoside (Df-3-Gl-Cm); Cyanidin-3-O-p-coumarylglucoside (Cy-3-Gl-Cm); Petunidin-3-O-p-coumarylglucoside (Pt-3-Gl-Cm); Peonidin-3-O-p-coumarylglucoside (Pn-3-Gl-Cm) and Malvidin-3-O-p-coumarylglucoside *cis*-C and *trans*-T (Mv-3-Gl-Cm).

Chemical age was defined as (i) and (ii) using Somers and Evans' method [36]: (i) indicates the relation between polymeric pigments and wine anthocyanin content; while (ii) reflects the relation between polymeric pigments and wine anthocyanin ion flavilium form. Polymeric pigment (Ep) was determined according the method proposed by Boulton [37].

### 2.5.3. Colour analysis

Colour density was determined by measuring absorbance at 420, 520 and 620 nm in a 1 mm cell [38]. Other variables calculated were red, yellow and blue percentages, according to Glories (1984). Spectral readings – transmittance every 10 nm over the visible spectrum, 380–770 nm, and absorbance measurements at 420, 520 and 620 nm – were performed with a Shimadzu Spectrophotometer (Japan), using cells of 1 mm path length. This spectrophotometer has the necessary software to calculate the CIELAB parameters directly. CIELAB parameters were calculated for the CIE illuminant D65 and 10° standard observer conditions. These parameters are *L\** describing light to dark, *b\** for blue to yellow, and *a\** for red to green, *C\** (chroma or saturation), and *h* (hue angle) [39,40]. All the parameters were measured by duplicate in every sample.

## 2.6. Statistical analysis

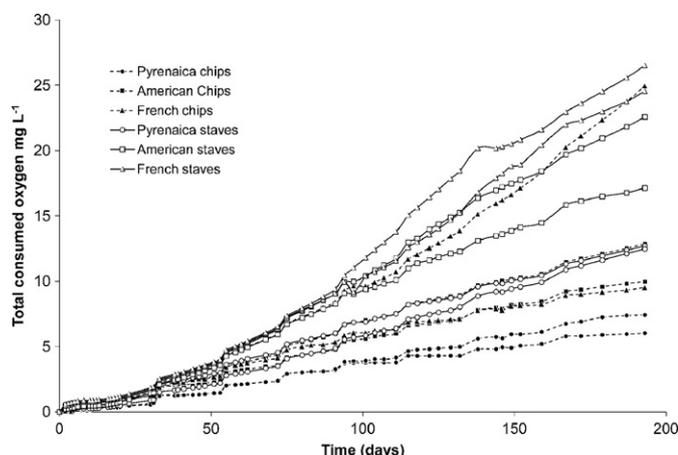
Regression analysis was carried out using the Statgraphics Centurion XV statistical program (version XV; StatPoint, Inc., VA, USA) and STATISTICA (StatSoft, 2004).

## 3. Results and discussion

### 3.1. Micro-oxygenation strategy and evolution of oxygen consumption in wine

Fig. 1 depicts the average trends in the evolution of oxygen consumption in wine treated with alternative products of American, French and Spanish oak wood with FMOX and chips or staves. It is clearly visible the strategy of a demand dosing in which the setpoint has been set at 20  $\mu$ g L<sup>-1</sup> (ppb), typical DO levels of firstly used barrels as established in previous studies by the group [25,41,42]. In all the studied systems, the oxygen levels decreased quickly during the first 10 days of wine and wood contact, then a MOX was started with initial levels of 1.5 mL L<sup>-1</sup> month<sup>-1</sup> and every 2 days, after an exhaustive measurement as described previously in materials and methods, it was adjusted to reach the fixed setpoint. From then on, it starts a slow differentiation of the aging systems according to both the wood origin and the alternative product used. The most evident difference happens in wines treated with different wood origin for each of the two studied systems. The wines in contact with *Q. pyrenaica* wood chips need a smaller oxygen quantity to keep the setpoint levels and, therefore, the average dosage during the whole process was of 0.50 mg L<sup>-1</sup> month<sup>-1</sup> for chips, but it more than doubled for staves 1.34 mg L<sup>-1</sup> month<sup>-1</sup> (Table 1).

Wines treated with *Q. alba* wood needed a higher quantity of oxygen to meet the setpoint levels of dissolved oxygen fixed in



**Fig. 1.** Graphic representation of FMOX total consumption of oxygen (TCO,  $\text{mg L}^{-1}$ ) in wines with chips and staves made from American, French and Spanish oak wood. (●) Spanish chips, (■) American chips, (▲) French chips, (○) Spanish staves, (□) American staves and (△) French staves.

the study. In fact, wines treated with *Q. alba* chips were found to consume higher values ( $1.23 \text{ mg L}^{-1} \text{ month}^{-1}$ ) than those in contact with *Q. pyrenaica* wood, and again, wines treated with *Q. alba* staves doubled that dosage, consuming an average quantity of  $2.45 \text{ mg L}^{-1} \text{ month}^{-1}$ .

French oak wood immersed in wines influenced their oxygen consumption which was higher than the rest of the oak woods studied. It has been detected that wines aged with staves need more oxygen than those treated with chips to reach the same aging stage. The results in chips wines were so heterogeneous that the differences are not very evident (Fig. 1). However, it is easy to see that the average dosages needed to keep the DO set levels were always higher than in wines treated with *Q. pyrenaica*. Thus, the average dosage needed to keep the DO setpoint levels in wines treated with French oak wood (*Q. petraea*) were of  $2.13 \text{ mg L}^{-1} \text{ month}^{-1}$  for chips and of  $3.30 \text{ mg L}^{-1} \text{ month}^{-1}$  for staves. These results agree with Piracci et al. who pointed out that wood, in their case the American one (*Q. alba*), transfers  $8.67 \text{ mg}$  of oxygen per each  $100 \text{ g}$  of staves and  $13.33 \text{ mg}$  of oxygen per each  $100 \text{ g}$  of chips to wine, so it is logical that stave-aged wine should demand more oxygen.

### 3.2. Correlations between consumed oxygen and wine compounds

Table 2 depicts the correlation value ( $r$ ) found between oxygen consumed by wine and each analyzed variable in aged wine. The correlations were calculated with the values of accumulated consumed oxygen (TCO) and the variation of each analyzed parameter with regard to the initial value of each studied period

(Delta). Correlation values typed in bold are significant at  $p < 0.05$  ( $r > 0.52$  or  $r < -0.52$ ). Positively correlation indicates an increase in compounds concentration and negatively correlation indicates a decrease. It has to be stressed out that the high correlations found between consumed oxygen and many wine compounds depend exclusively on the kind of wood used to age wine since it is the same wine and therefore, all other factors are common. As for the wood compounds, it is necessary to mention that, even if each oak species has a different composition [43], the correlations show the relations between the evolution of components in wine and the wine consuming oxygen.

Regression lines among TCO and each parameter have been obtained for American, French and Spanish oak wood when chips and staves are used. The regressions have been compared and Table 2 also shows the significance degree in the comparison of the regressions ( $*p < 0.05$ ,  $**p < 0.01$  and  $***p < 0.001$ ), some regressions are shown in Figs. 2–4. Delta is the variation of each analyzed parameter with regard to the initial value of each studied period. Table 2 also includes the concentration ranges of analyzed compounds.

Because the influence of aging time is very important in wood components release, all studied wines have been aged the same time. The final wines differences might be explained attending to aging conditions (oak origin, oxygen dosage, wood size and wood dosage). It has been found significant correlations ( $p < 0.05$ , correlation in bold in Table 2) between consumed oxygen and a lot of wood components in wines aged with chips + MOX and with staves + MOX, and especially with American and Spanish oak. Table 2 shows positive correlations between 2-furanmethanol, W lactone C and T, maltol, 4 ethyl fenol and vanillin and total consumed oxygen (TCO) in wines aged with American and Spanish oak chips. However, when wines are aged with staves + MOX the oxygen they consume is very positively related to 5 MF (American, French and Spanish oak), furfural, guaiacol and eugenol (American and Spanish oak) and with maltol (American and French oak). Therefore, wine oxygen demand is closely related to wood components transference into wine and therefore wood origin is a key factor in the management of wine aging in tank. A hypothesis to explain these results is that the higher demand of oxygen in wines stored with French, American and, lastly, Spanish oak to reach the setpoint is due to the different wood structure (density, porosity). The oak wood *Q. pyrenaica* Willd. used is the densest one followed by the American oak (*Q. alba*) while the *Q. petraea* oak wood is the less dense of all. As regards to porosity and following the same sequence, the French oak wood is the most porous one, followed by the American one while the *Q. pyrenaica* oak comes last [44]. These characteristics are related to the impregnation capacity of wood, so that a higher impregnation means a higher infiltration of wine into wood, that is, a higher absorption of wine that brings about a higher interaction wine-wood. Fernández et al. [45] analyzed the capacity of impregnation of different woods used in barrel-making for 144

**Table 1**  
Summary of dosages carried out during the FMOX in the aging tanks tested.

Oak wood	Spanish ( <i>Q. pyrenaica</i> )				American ( <i>Q. alba</i> )				French ( <i>Q. petraea</i> )			
	Chips		Staves		Chips		Staves		Chips		Staves	
	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD
MOX dosage ( $\text{mL L}^{-1}$ )	2.37	0.83	6.37	0.15	5.87	1.48	11.70	2.73	10.14	8.07	15.71	0.97
MOX dosage ( $\text{mL L}^{-1} \text{ month}^{-1}$ )	0.37	0.13	0.99	0.02	0.91	0.23	1.82	0.42	1.04	0.50	2.44	0.15
Total $\text{O}_2$ inputs ( $\text{mg L}^{-1}$ )	6.70	1.12	12.11	0.20	11.43	2.00	19.29	3.68	17.19	10.90	24.71	1.31
MOX dosage ( $\text{mg L}^{-1}$ )	3.20	1.12	8.61	0.20	7.93	2.00	15.79	3.68	13.69	10.90	21.21	1.31
MOX dosage ( $\text{mg L}^{-1} \text{ month}^{-1}$ )	0.50	0.17	1.34	0.03	1.23	0.31	2.45	0.57	2.13	1.69	3.30	0.20
Dosage relationship staves/chips	2.69				1.99				1.55			

Total  $\text{O}_2$  inputs include MOX +  $\text{O}_2$  other estimated inputs. Mean and standard deviation (SD).

**Table 2**  
Correlation coefficients between analyzed parameters and oxygen consumed by wine in each aging system (bold typed indicates \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$ ). Concentration ranges are in brackets.

	Chips (correlation values (r))			$p^a$	Staves (correlation values (r))			$p^a$
	Spanish	American	French		Spanish	American	French	
<b>Wood components</b>								
Furfural (15–35,360)	0.28	0.30	0.22	***	<b>0.66</b>	<b>0.57</b>	0.22	***
5-methylfurfural (1–2500)	0.43	0.39	0.41	**	<b>0.87</b>	<b>0.84</b>	<b>0.67</b>	**
HMF (24–7500)	–0.14	0.26	–0.13		0.30	0.46	0.33	***
2-furanmethanol (80–4365)	<b>0.72</b>	<b>0.54</b>	<b>0.62</b>	***	<b>0.74</b>	0.34	<b>0.57</b>	***
W lactone T (0–153)	<b>0.65</b>	<b>0.65</b>	<b>0.52</b>	***	0.20	<b>0.65</b>	0.07	***
W lactone C (0–678)	<b>0.66</b>	<b>0.59</b>	0.46	***	0.49	<b>0.63</b>	–0.52	***
Maltol (28–533)	<b>0.53</b>	<b>0.54</b>	0.31	***	0.24	<b>0.74</b>	<b>0.72</b>	***
Guaiacol (4–49)	0.28	<b>0.63</b>	0.28	**	<b>0.72</b>	<b>0.53</b>	0.48	***
4-methylguaiacol (1–58)	0.44	<b>0.66</b>	0.40	*	0.52	0.38	0.48	*
4-ethylguaiacol (0.32–7)	–0.55	–0.24	–0.36		–0.46	–0.22	–0.23	
4-ethylphenol (5–18)	<b>0.74</b>	<b>0.78</b>	<b>0.53</b>	***	<b>0.62</b>	0.39	<b>0.55</b>	*
4-vinylguaiacol (12–249)	–0.44	–0.29	–0.43		–0.29	–0.21	–0.18	
4-vinylphenol (1940–23,823)	–0.52	–0.32	–0.43		–0.41	–0.26	–0.21	
Eugenol (6–46)	–0.15	0.10	–0.29	**	<b>0.79</b>	<b>0.58</b>	0.32	***
cis- and trans-isoeugenol (7–186)	–0.13	0.16	–0.14		0.22	0.17	0.07	
Syringol (21–293)	0.16	<b>0.73</b>	0.13	***	0.28	–0.11	0.19	
Vanillin (14–1319)	<b>0.54</b>	<b>0.66</b>	0.39	***	0.31	0.21	0.28	***
Syringaldehyde (23–8000)	0.52	<b>0.58</b>	0.46	***	<b>0.69</b>	0.35	0.34	**
Cycloten (0–80)	<b>0.60</b>	<b>0.56</b>	0.49	***	<b>0.89</b>	<b>0.89</b>	<b>0.88</b>	***
<b>Anthocyanin and tannin compounds</b>								
ACY (409–660)	–0.87	–0.94	–0.82	***	–0.96	–0.92	–0.94	***
I index (15–40)	<b>0.59</b>	<b>0.73</b>	<b>0.63</b>	***	<b>0.79</b>	<b>0.69</b>	<b>0.78</b>	***
Df-3-Gl (22–67)	–0.81	–0.87	–0.85	***	–0.96	–0.94	–0.98	***
Cy-3-Gl (1–5)	0.23	0.19	0.17		–0.97	–0.92	–0.95	***
Pt-3-Gl (21–70)	–0.92	–0.90	–0.84	***	–0.96	–0.94	–0.98	***
Pn-3-Gl (2–14)	–0.91	–0.87	–0.81	***	–0.94	–0.93	–0.97	***
Mv-3-Gl (70–234)	–0.94	–0.89	–0.83	***	–0.96	–0.82	–0.99	***
Vitisin A (Mv-3-Gl Py) (0–9)	–0.18	–0.13	–0.26		–0.61	–0.63	–0.48	
Pe-3-Gl-Ac (0–1)	–0.77	–0.67	–0.56	***	–0.61	–0.53	–0.62	***
Df-3-Gl-Cum + Mv-3-Gl-Ac (0–18)	–0.89	–0.87	–0.78	***	–0.91	–0.89	–0.93	**
Cy-3-Gl-Cum (0–2)	–0.61	–0.53	–0.62	**	–0.65	–0.67	–0.58	***
Mv-3-Gl-Cm C (0–3)	–0.83	–0.86	–0.75	***	–0.88	–0.83	–0.86	***
Pt-3-Gl-Cum (0–6)	–0.87	–0.85	–0.76	***	–0.87	–0.86	–0.88	***
Mv-3-Gl-Cum T (0–33)	–0.86	–0.88	–0.80	***	–0.95	–0.92	–0.96	***
Scum (0–40)	–0.87	–0.88	–0.80	***	–0.95	–0.92	–0.96	***
Ep (2–3)	0.45	<b>0.76</b>	0.47	**	<b>0.89</b>	<b>0.83</b>	<b>0.69</b>	***
CAT (441–1439)	–0.46	–0.46	–0.33		–0.39	–0.51	–0.42	
TAN (2–4)	0.46	0.42	0.31		<b>0.59</b>	0.46	0.27	
Et Index (7–70)	–0.57	–0.41	–0.21		–0.47	–0.43	–0.35	
G Index (35–100)	–0.43	–0.10	–0.22		–0.54	–0.66	–0.56	**
<b>Colour and chemical age</b>								
CI (10–15)	0.29	<b>0.66</b>	<b>0.54</b>	***	<b>0.74</b>	<b>0.67</b>	<b>0.69</b>	***
%A420 (33–37)	–0.05	–0.25	–0.17		–0.19	–0.15	–0.19	
%A520 (49–53)	–0.13	–0.07	–0.11		–0.39	–0.32	–0.32	
%A620 (11–15)	0.19	0.27	0.25		0.48	0.47	0.48	*
L (59–70)	–0.52	–0.73	–0.59	***	–0.75	–0.75	–0.74	***
$a^*$ (30–39)	–0.06	0.46	0.40		<b>0.55</b>	0.43	<b>0.60</b>	**
$b^*$ (–3.6 to 3.3)	<b>0.63</b>	<b>0.66</b>	0.38	**	0.11	0.36	0.21	
H (0–25)	–0.74	–0.72	–0.45	***	–0.42	–0.41	–0.40	
$C^*$ (31–39)	–0.07	0.45	0.39		<b>0.55</b>	0.43	<b>0.60</b>	**
i (0.2–0.4)	<b>0.86</b>	<b>0.82</b>	<b>0.81</b>	***	<b>0.98</b>	<b>0.97</b>	<b>0.99</b>	***
ii (0.06–0.14)	<b>0.61</b>	<b>0.64</b>	<b>0.63</b>	***	<b>0.93</b>	<b>0.71</b>	<b>0.95</b>	***
i/ii (2.7–4.5)	–0.23	–0.14	–0.18		–0.61	–0.09	–0.60	**

Significant correlation values ( $r > 0.51$  or  $r < -0.51$ ) are typed in bold. Parenthesis includes the parameters range expressed according to Section 2.

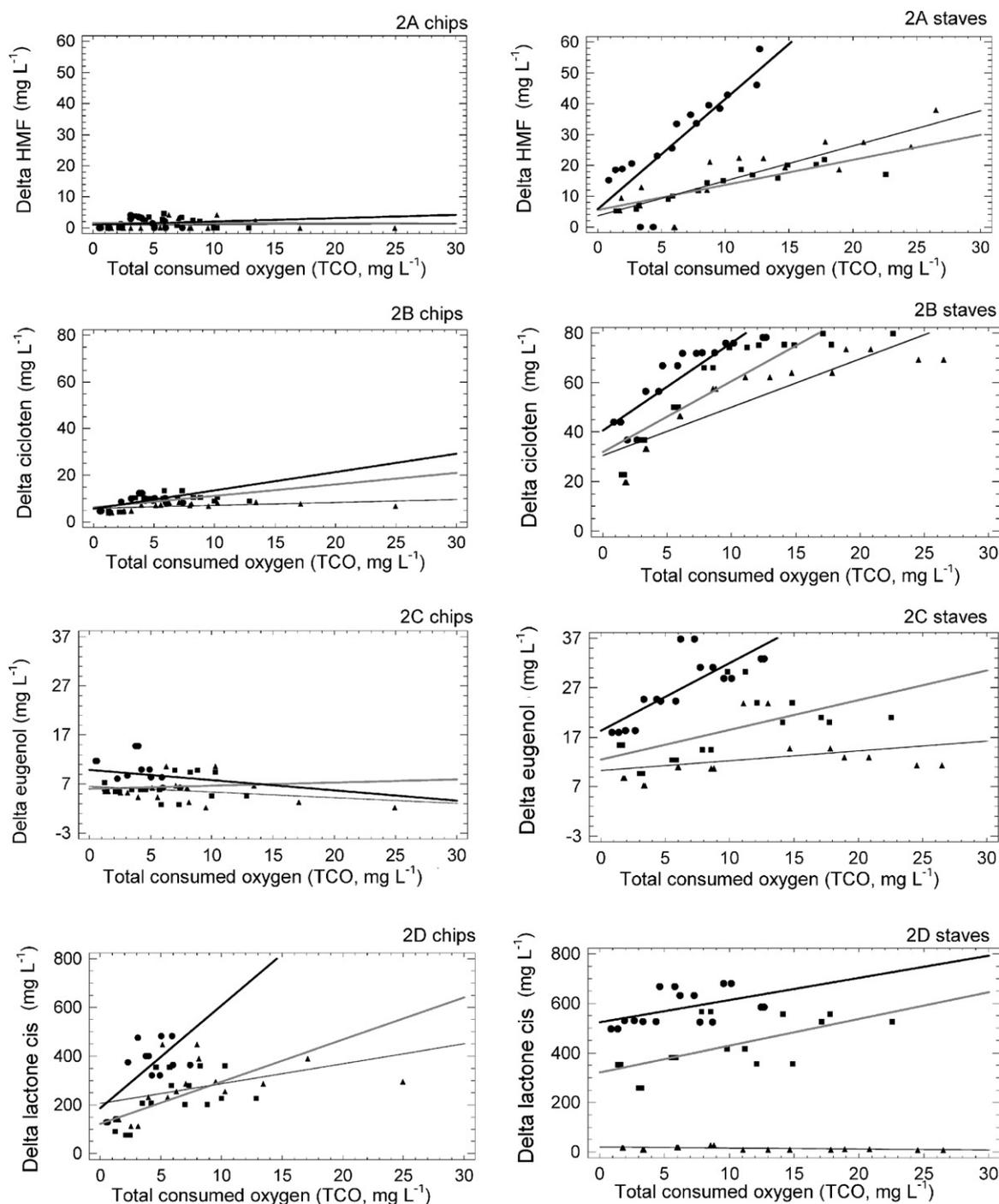
<sup>a</sup>  $p$ -value for comparison of regression lines: \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$ .

days and established that French wood (*Q. petraea*) has the highest impregnation capacity while *Q. pyrenaica* has the lowest because it is the densest and thus prevents wine infiltration.

It was noticed that HMF, related to caramel descriptor, increases more significantly in wines stored with staves (Fig. 2A staves) than in that stored with chips (Fig. 2A chips), and that this increase is closely related with oxygen consumption, being significantly different the regressions obtained in wines treated with Spanish, French and American oak wood ( $p < 0.001$ ). At the end of the studied period, wines treated with Spanish oak wood are the ones with the highest levels in HMF and the less oxygen consuming ones, while the

wines aged with French staves are the most oxygen consuming ones. This trend has also been found in others furanic derivatives (2-furanmethanol, 5MF), whose increase in wines treated with Spanish oak is significantly higher when American or French oak is used, and besides, this tendency is also related to lower increases in oxygen consumption that are significantly different to those appreciated in wine aged with American and French oak (Table 2,  $p < 0.001$ ).

Taking into account that these compounds come from the degradation (hydrothermolysis and pyrolysis) undergone by wood hemicellulose during the toasting process, it can be deduced that



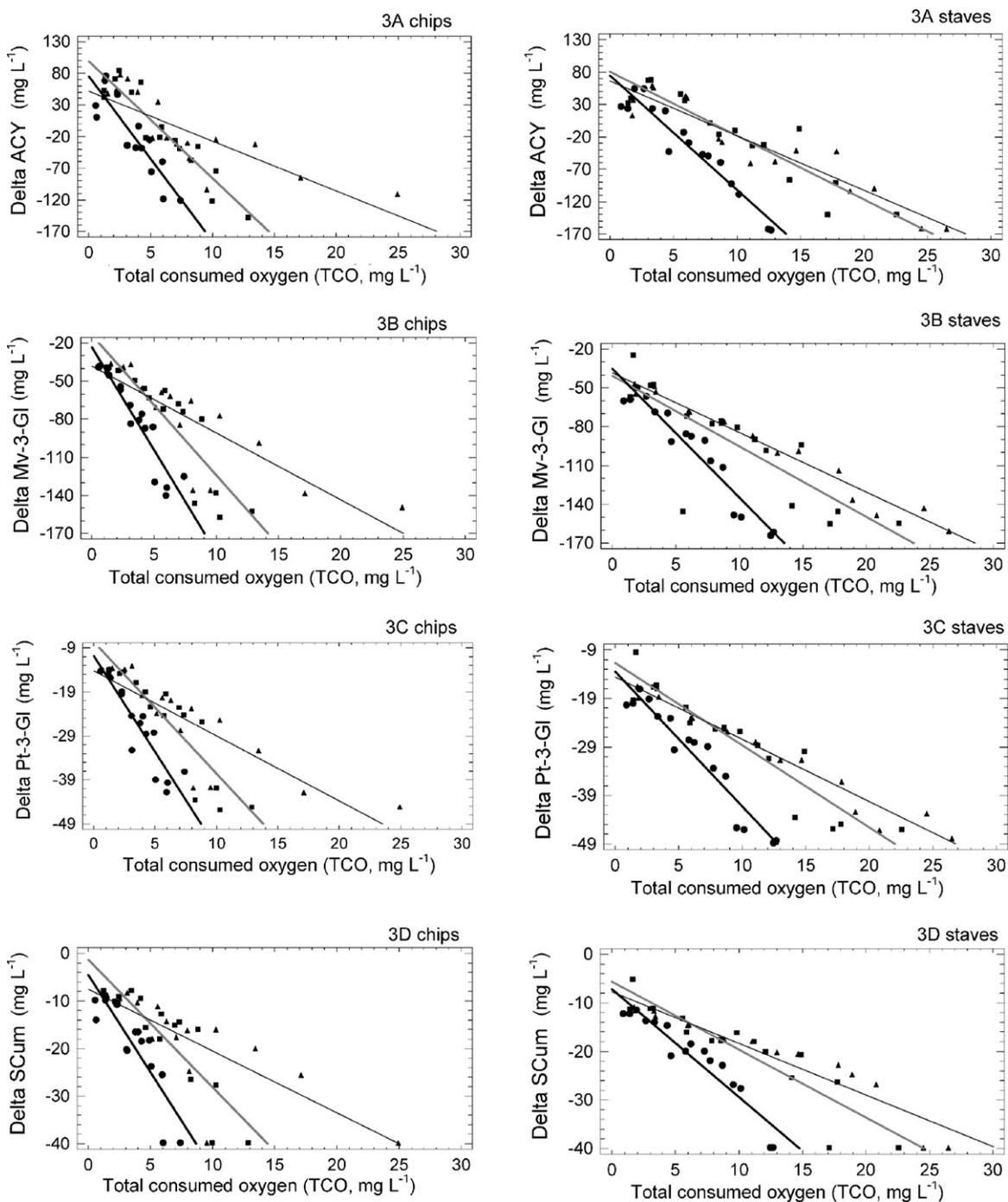
**Fig. 2.** Graphic representation of the regression equations obtained between the accumulative consumed oxygen correlation and HMF, cicloten, eugenol and W lactone *cis*-variations in wine aged with chips + FMOX (A) and staves + FMOX (B) made from Spanish (●), French (▲) and American (■) oak wood.

the different toasting systems of staves (conduction) and chips (conduction plus convection) is the cause of the higher concentration of many compounds in wood shaped as staves.

As for the 2-furanmethanol, its increase is significantly related to the oxygen consumption in wine treated with Spanish oak chips ( $r=0.72$ ) or staves ( $r=0.74$ ) in contrast to wine treated with American ( $r=0.54$  and  $0.34$ ) or French ( $r=0.62$  and  $0.57$ ) oak (Table 2), being the three tendencies significantly different ( $p < 0.001$ ). It was found that the increase of maltol in wine is significantly related to oxygen consumption in wines treated with American ( $0.54$ ) and Spanish ( $0.53$ ) oak chips, and specially those treated with American ( $0.74$ ) and French ( $0.72$ ) oak staves, being significantly different the

regressions obtained in all cases. The oxygen consumption is also closely related to cicloten increase, compound that, with a concentration ranging between  $4$  and  $80 \mu\text{g L}^{-1}$ , participates in the caramel aroma of wines and that has the highest correlation value in Spanish ( $0.89$ ), American ( $0.89$ ) or French ( $0.88$ ) oak staves. However, when chips are used this correlation coefficient is lower and it is significant only in wine treated with Spanish ( $0.56$ ) and American ( $0.60$ ) oak chips, in both cases the differences between the obtained regressions (Fig. 2B) are significantly different ( $p < 0.001$ , Table 2).

It was noticed that both guaiacol and 4 methyl guaiacol have a higher relation to the increase of oxygen consumption in wine stored with American oak chips ( $0.63$  and  $0.66$ , respectively). When

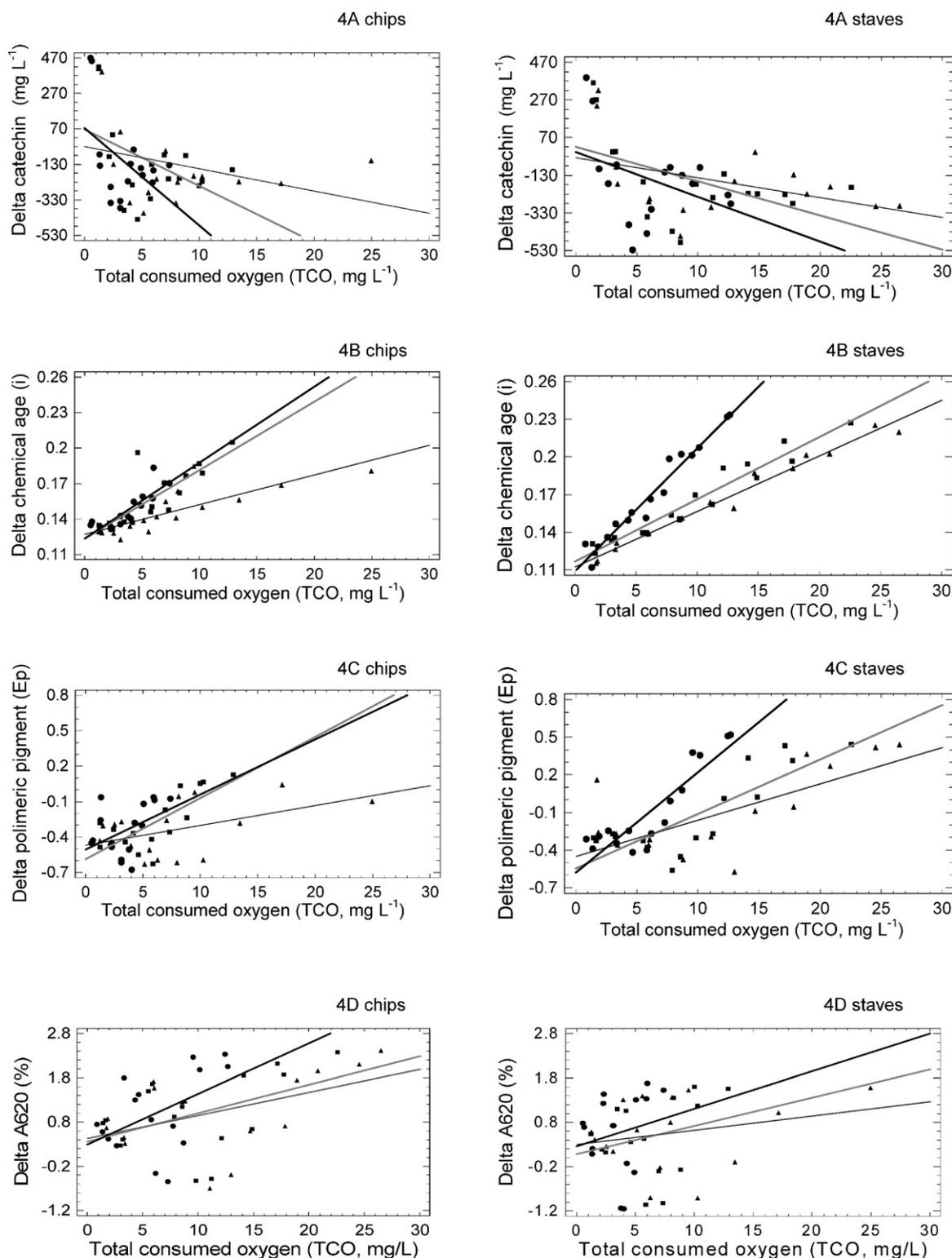


**Fig. 3.** Graphic representation of the regression equations obtained between the accumulative consumed oxygen correlation and total anthocyanins (ACY), Mv-3-Gl, Pt-3-Gl and SCum variations in wine aged with chips + FMOX (A) and staves + FMOX (B) made from Spanish (●), French (▲) and American (■) oak wood.

staves are used, the correlation between the oxygen consumed by wine and guaiacol is higher for Spanish oak (0.72) than for the American one (0.53) (Table 2). However, it was found that oxygen does not seem to affect other guaiacol derivatives since there are no significant differences between oxygen consumption in wine and the evolution of 4 ethyl and 4 vinyl guaiacol in wines treated with the different kinds of oak chips or staves (Table 2).

Eugenol, compound related to spices (clove), increases in wine in a proportional and significant way with the oxygen consumption in wines stored with American oak staves (0.58) and even more with Spanish ones (0.79) (Fig. 2C), while its evolution in wine treated with chips is not significantly related to oxygen consumption.

As regards to lignine derivatives, it was found out that wines stored with chips are richer in these components. The increase of W lactone T is more important in wines aged with chips than in those aged with staves (Table 2), and besides it is closely related to the oxygen consumed by wine. The correlations are higher when the wine has been treated with Spanish or American oak chips (0.65) than with French ones (0.52) and besides the regressions obtained are significantly different ( $p < 0.001$ ). This result is quite similar to that of W lactone C (Fig. 2D). Depolymerization and thermal-oxidation of wood lignin during the manufacturing of the alternative products affect wood differently according to its origin so that their properties are already different before being used with



**Fig. 4.** Graphic representation of the regression equations obtained from the accumulative consumed oxygen correlation and CAT, Ep, (i) and (A620%) variations in wine aged with chips + FMOX (a) and staves + FMOX (b) made from Spanish (●), French and (▲) American (■) oak wood.

wines and it can be concluded that the oxygen consumed by wine during the aging period varies according to wood origin. As a whole, it was established that the wine consuming more oxygen is that aging with French oak products, followed by the American ones, while the less oxygen demanding one is that aging with *Q. pyrenaica* which is the one that has the highest quantities of compounds coming from wood.

The evolution of phenolic compounds coming from wine, such as anthocyanins and tannins, is also closely related to oxygen consumption, since a great number of their reactions during wine storing are determined by DO level [3,46]. The anthocyanins decrease is one of the most important processes happening during wine storage. These processes are oxidation, condensation, and polymerization with the transformation into other compounds

which have an evident effect in the modification of colour in wine. Numerous papers have proved the importance oxygen has in red wine colour stabilization [47–50] and all of them praise the properties of oxygen addition. In this paper, it was established that anthocyanins loss (Fig. 3) as well as tannins and polymeric pigment increase (Fig. 4C) in wine are closely related to oxygen consumption in wine aged with chips and staves (Table 2). Given the relation between the negative slope of the obtained straight line and the loss of compounds, it could be said that anthocyanins loss is quicker in wines treated with Spanish oak wood (since it has the highest slope), slower in wines treated with French oak and medium in wines aged with American oak wood. This position agrees with the oxygen consumption in wines. It was noticed that this loss is quicker with the use of chips than with staves, tendency which is quite similar in wines treated with American and French oak staves (Fig. 3A). This result agrees with that obtained in previous works [35], the smaller the size of the alternative product used is, the quicker the anthocyanins loss becomes, i.e. the more important is the evolution undergone by wine. This result could be explained by the “geometric form index” that states the relation between volume and surface of the wood used and that is specific for each alternative product (del Álamo et al. 2009, unpublished data).

Monoglucosides anthocyanins content in wine decreases in a very similar way in wines aged with American, French and Spanish oak wood whether with chips or staves. In all cases, it has been found statistically significant differences ( $p < 0.05$ ) between the increase of oxygen consumption and the anthocyanins decrease, that are even more significant when staves are used ( $-0.82 < r^2 < -0.99$ ). There was a gradual loss of Mv-3-Gl (Fig. 3B) in all studied wines, which finishes the aging period with very similar values. However, French oak staved-aged wine consumes twice more oxygen than the Spanish one during the same period. As for chips + FMOX, the results are quite similar although wine consumes less oxygen than with staves (Spanish oak chips consumed a 63% less oxygen than the staves, the American ones a 50% less and the French ones a 36% less, Table 1). Similarly, in compounds such as Pt-3-Gl (Fig. 3C) and coumaryl derivatives the lower the oxygen consumption is, the more pronounced the decrease becomes (Fig. 3D).

Statistically significant differences ( $p < 0.01$ ) have been found between the correlation slopes of oxygen consumption for chip wines and the loss of anthocyanins in wine except for vitisin A and Cy-3-Gl. The anthocyanins loss brings about the formation of new compounds, more stable pigments formed by the union of anthocyanin with another molecule from wine or wood. It is well-known that aldehydes such as acetaldehyde, propionaldehyde, benzaldehyde, furfural, hydroxymethylfurfural, and glyoxylic acid react with flavanol compounds and also with catechins and anthocyanins, giving rise to several compounds such as catechin-alkyl-anthocyanin adducts, catechin adducts, and xanthylum salts in acidic conditions [51–53]. Thus, it was expected that oak-derived aldehydes could also react with flavanol compounds yielding new compounds for example syringylcatechinpyrylium pigment and sinapaldehyde or syringylcatechinpyrylium and coniferaldehyde or guaiacylcatechinpyrylium and coniferaldehyde/sinapaldehyde [54,55]. In the alternative aging systems, the oxygen combines with wood compounds, components that interact with compounds transferred by wood giving rise to those oak-derived called oaklin. They are pigments thought to result from the reaction between catechin and oak-derived aldehydes, and constituting a new class of related brick-red pigments as proposed by Sousa et al. [54]. Oaklins may differ between them by the presence of an aromatic group (e.g., syringyl and guaiacyl) as well as by the presence of catechin moieties.

During the present work it was found out that catechins decrease has certain correlation with oxygen consumption, both in wine treated with chips ( $-0.46$  Spanish,  $-0.46$  American and  $-0.33$

French) and with staves ( $-0.39$  Spanish,  $-0.51$  American and  $-0.42$  French) (Table 2), where the only significant case is the American oak staved-aged wine ( $-0.51$ ). Chip-aged wine suffered quicker loss of catechins than the stave-aged one (Fig. 4A). This catechin decrease is positively and significantly related with the loss of 4 ethyl in wine (0.31 staves and 0.58 chips average of used wood), also of 4 vinyl guaiacol in wine (0.28 staves and 0.46 chips) and for 4 vinyl phenol of wine (0.34 staves and 0.51 chips). Sousa et al. [54] found that, after only 1 day, the reaction between the aldehyde rich oak extract and catechin at pH 1.5 led to the formation of several new compounds. Therefore, it could be thought that these oaklins were created by the union of catechin with 4 ethyl guaiacol, 4 vinyl guaiacol and 4 vinyl phenol during the aging process studied. They are compounds that influence the increase of colour in wines. Sousa et al. [54] pointed out that the catechinpyrylium-derived pigment present maximum absorption in the visible range between 480 and 520 nm, which confer on them an orange/red colour. Pyranoanthocyanins also may have participated in the higher Cl. A lot of these pigments are formed with the anthocyanins participation, thus, the increase of parameters (i) and (ii) in wine, and related with anthocyanins modifications, has a very significant correlation with oxygen consumption. It was found out relation between polymeric pigments and chemical age parameters (i and ii) which reflect the relation between polymeric pigments and wine anthocyanin ion flavilium (Fig. 4B). At the end of the aging period wines treated with chips have a value of (i) lower than 0.2, while those aged with staves have values of 0.23 (a 13% higher) due to a higher oxygen consumption. This result shows that wine treated with Spanish oak staves needs less oxygen than the one aged with French oak to obtain a level similar to the polymeric pigment, since the French one needs almost a 50% more oxygen dosing. The assessment of polymeric pigment through Ep parameter (Fig. 4C), established that American or Spanish oak chip-treated wine has very similar characteristics, but they become very different when wine is treated with American or Spanish oak staves.

It was established that oxygen consumption is more significantly correlated with the increase of colouring intensity (CI) in wines treated with staves than with chips (Table 2), hence the importance of parameters  $a^*$ ,  $b^*$  and  $C^*$  that show wine colour. As in previous papers, it was found out an increase of the importance of blue colour (%A620, Fig. 4D) in wines treated with alternatives + MOX. This result shows the importance of oxygen dosing in the formation of new pigments, such as ethyl linked pigments, whose absorbency at 620 nm is higher to that of the original anthocyanins [35]. This effect is more evident in wines treated with staves, since there are higher correlations with the oxygen consumed by wine (TCO) when American (0.47), French or Spanish (0.48) oak staves are used than when American (0.27), French (0.25) or Spanish (0.19) oak chips are (Table 2). The hue (H) is negatively related to oxygen consumption, so that the decrease throughout the study indicates the lack of browning in wines aged with alternatives + MOX.

#### 4. Conclusions

The study of the effect the origin of the oak product used has on red wine aging with AOP (chips or staves) shows that wines treated with French wood staves need more oxygen to reach the same aging point than those treated with chips. The experiments carried out show that wines treated with French oak (*Q. petraea*) need more oxygen than those treated with American (*Q. alba*) and Spanish (*Q. pyrenaica*) oak wood. In fact the wines that required less oxygen dosing were those aged with *Q. pyrenaica*, both with chips and staves. This result was true in all studied cases. The biggest the size of alternative product used in aging was, the higher the demand of oxygen in wine became. It was established that oxygen consump-

tion is closely related with the evolution of compounds transferred into wine by wood as well as with the evolution of those typical of wine. Therefore, it becomes obvious the role oxygen plays in these compounds reactions and, thus, in wine traits. Wines aged with *Q. pyrenaica* require less quantities of oxygen during their aging with alternatives and have the highest levels of wood compounds and the lowest ones of anthocyanins and tannins. These wines present the higher levels of polymeric pigments which in turn lead to wines with more colour and bluish hues than those aged with American and French oak wood. Consequently, the use of floating micro-oxygenation systems is a feasible and useful technique to control objectively the aging process in tank. It can be adapted specifically to the kind of wine to be aged and AOP used. This way is possible to show off the potential of each botanic wood origin and thus to obtain final wines with very different and particular characteristics.

## Acknowledgements

Authors are grateful to Spanish Regional Government Project RTA-06-00078 and Junta de Castilla y León (CESEFOR and VA030/06 project) for financial support. University of Valladolid for fellowship to Laura Gallego and Tonelería Intona S.A. for its collaboration. Authors from University of Valladolid are academic members of O2inWines™ ([www.O2inWines.org](http://www.O2inWines.org)), an international nonprofit association, promotes scientifically based solutions for oxygen management challenges in wine.

## References

- [1] J.R. Mosedale, J.-L. Puech, F. Feuillat, *Am. J. Enol. Vitic.* 50 (1999) 503.
- [2] P. Chatonnet, D. Dubourdieu, *Am. J. Enol. Vitic.* 49 (1998) 79.
- [3] M. Castellari, L. Matricardi, G. Arfelli, A. Galassi, A. Amati, *Food Chem.* 69 (2000) 61.
- [4] M. Moutounet, P. Ducournau, M. Chassin, T. Lemaire, *Appareillage d'apport d'oxygène aux vins. Son intérêt technologique.*, in: T. Documentation (Ed.), *Oenologie 95: 5e. Symposium International d' Oenologie*, Ed. Lavoisier, Paris, 1995, p. 411.
- [5] P. Pontallier, G. Ribereau, *Connaiss. Vig. Vin.* (1983) 105.
- [6] N. Vivas, *Recherches sur la qualité du chêne français de tonnellerie (Q. petraea Liebl., Q. robur L.) et sur les mécanismes d'oxydoréduction des vins rouges au cours de leur élevage en barriques*, Université de Bordeaux II, Bordeaux, 1997.
- [7] F. Feuillat, *Study on interrelations between wood, wine and atmosphere using a model wooden cask. Relations with the anatomy of oak wood (\*Quercus robur\* L., \*Quercus petraea\* Liebl.)*, Ecole Nationale du Génie Rural des Eaux et des Forêts, Nancy, France, 1996.
- [8] F. Feuillat, R. Keller, *Am. J. Enol. Vitic.* 48 (1997) 502.
- [9] P. Chatonnet, *Enología* (2007) 2.
- [10] S. Buttica, A. Rawyler, *Rev. Suisse Vitic. Arboric. Hortic.* 39 (2007) 367.
- [11] L.J. Perez-Prieto, M.L.D.I. Hera-Orts, J.M. López-Roca, J.I. Fernández-Fernández, E. Gómez-Plaza, *J. Sci. Food Agric.* 83 (2003) 1445.
- [12] P.R. Jones, M.J. Kwiatkowski, G.K. Skouroumounis, I.L. Francis, K.A. Lattey, E.J. Waters, I.S. Pretorius, P.B. Høj, *Aust. N. Z. Wine Ind. J.* 19 (2004) 17.
- [13] W.J. du Toit, J. Marais, I.S. Pretorius, M.D. Toit, *S. Afr. J. Enol. Vitic.* 27 (2006) 76.
- [14] J. Hidalgo Togados, *Tratado de enología*. Tomo I, Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, 2002.
- [15] M. Kelly, D. Wollan, *Aust. N. Z. Grap. Wine* (2003) 29.
- [16] M. Castellari, B. Simonato, G.B. Torrielli, P. Spinelli, R. Ferrarini, *Ital. J. Food Sci.* 16 (2004) 387.
- [17] I. Nevares, M. del Álamo, L. Gallego, C. González, M. Vargas, R. Cre6po, L. Cárcel, in: *Gienol* (Ed.), *La medida del oxígeno disuelto en vinos tintos micro-oxygenados con alternativos de madera de roble*, X Congreso Nacional de Viticultura y Enología, 2009.
- [18] EEC, *Community Methods for the Analysis of Wines*, Commission Regulation, 1990.
- [19] C.T. Saucier, A.L. Waterhouse, *J. Agric. Food Chem.* 47 (1999) 4491.
- [20] A.L. Waterhouse, V.F. Laurie, *Am. J. Enol. Vitic.* 57 (2006) 306.
- [21] M. del Álamo, I. Nevares, L.M. Cárcel, L. Navas, *Anal. Chim. Acta* 513 (2004) 229.
- [22] M. Moutounet, J.-P. Mazauric, *Rev. Fran. D'Oenol.* (2001) 12.
- [23] A. Silva, M. Lambri, *Anal. Chim. Acta* 563 (2006) 391.
- [24] V.F. Laurie, R. Law, W.S. Joslin, A.L. Waterhouse, *Am. J. Enol. Vitic.* 59 (2008) 215.
- [25] I. Nevares, M. del Álamo, *Anal. Chim. Acta* 621 (2008) 68.
- [26] J. Boulet, M. Moutounet, in: C. Flanzky (Ed.), *Enología: Fundamentos Científicos y Tecnológicos*, MundiPrensa Ediciones, Madrid, España, 2000, p. 638.
- [27] A. Piracci, P. Bucelli, V. Faviere, F. Giannetti, R. Lo Scalzo, E. Novello, *L'Enologo* (2001) 103.
- [28] A. Piracci, P. Bucelli, V. Faviere, F. Giannetti, R. Lo Scalzo, E. Novello, *L'Enologo* (2001) 97.
- [29] B. Fernandez de Simon, E. Cadahia, M. Sanz, P. Poveda, S. Perez-Magariño, M. Ortega-Heras, C. Gonzalez-Huerta, *J. Agric. Food Chem.* 56 (2008) 9046.
- [30] B. Fernandez de Simon, E. Cadahia, J. Jalocho, *J. Agric. Food Chem.* 51 (2003) 7671.
- [31] L. Paronetto, *Polifenoli e tecnica enologica*, Edagricole, Bologna, 1977.
- [32] J. Ribereau-Gayon, E. Stonstreet, *Bull. Soc. Chim.* 9 (1965) 2649.
- [33] T. Swain, W.E. Hillis, *J. Sci. Food Agric.* 10 (1959) 63.
- [34] F. Zamora Marín, *Elaboración y crianza del vino tinto: aspectos científicos y prácticos*, Antonio Madrid Vicente, Madrid, 2003.
- [35] M. del Álamo, I. Nevares, *Anal. Chim. Acta* 563 (2006) 255.
- [36] T.C. Somers, M.E. Evans, *J. Sci. Food Agric.* 28 (1977) 279.
- [37] R.B. Boulton, *Methods for the assessment of copigmentation in red wines*, in: 47th Annual Meeting of the American Society for Enology and Viticulture, Reno, NV, 1996.
- [38] Y. Glories, *Connaiss. Vig. Vin.* (1984) 253.
- [39] F. Ayala, J.F. Echavarri, A.I. Negueruela, *Am. J. Enol. Vitic.* 50 (1999) 359.
- [40] CIE (Ed.), *Colorimetrie*, Viena, 1986.
- [41] I. Nevares, M. del Álamo, L.M. Cárcel, C. Martín, L. Gallego, R. Crespo, *La Microoxigenación Flotante En El Envejecimiento De Vinos Tintos En Depósito*, XI Congreso Latino Americano de Viticultura y Enología, Mendoza, Argentina, 2007.
- [42] I. Nevares, M. del Álamo, L. Cárcel, R. Crespo, C. Martín, L. Gallego, *Food Biotechnol.* (2008).
- [43] B. Fernández de Simón, E. Cadahia, P. Poveda, M. Del Álamo, I. Nevares, *Relationship between the volatile composition of toasted oak chips and staves and the evolution of the red wine treated with them*, *Am. J. Enol. Vitic.*, in press.
- [44] M. Casado, M.D. Álamo, L. Fernández, L. Acuña, V. Pando, in: *Gienol* (Ed.), *Caracterización físico química de la madera de algunas especies del género Quercus para su aplicación enológica*, VIII Jornadas Científicas de los Grupos de Investigación Enológica, Palencia, 2005.
- [45] L. Fernández, L. Acuña, M. Casado, V. Pando, in: *Gienol* (Ed.), *Estudio comparativo de la permeabilidad de la madera algunas especies del género Quercus de uso enológico*, VIII Jornadas Científicas de los Grupos de Investigación Enológica, Palencia, 2005.
- [46] V. Atanasova, H. Fulcrand, V. Cheynier, M. Moutounet, *Anal. Chim. Acta* 458 (2002) 15.
- [47] M. Cano-Lopez, F. Pardo-Minguez, G. Schmauch, C. Saucier, P.-L. Teissedre, J.M. Lopez-Roca, E. Gomez-Plaza, *J. Agric. Food Chem.* 56 (2008) 5932.
- [48] S. Pérez-Magariño, M. Sánchez-Iglesias, M. Ortega-Heras, C. González-Huerta, M.L. González-Sanjosé, *Food Chem.* 101 (2007) 881.
- [49] E. Sartini, G. Arfelli, A. Fabiani, A. Piva, *Food Chem.* 104 (2007) 1599.
- [50] A. Rudnitskaya, L.M. Schmidtko, I. Delgadillo, A. Legin, G. Scollary, *Anal. Chim. Acta* 642 (2009) 235.
- [51] N.E. Es-Safi, H. Fulcrand, V. Cheynier, M. Moutounet, *J. Agric. Food Chem.* 47 (1999) 2096.
- [52] N.E. Es-Safi, V. Cheynier, M. Moutounet, *J. Agric. Food Chem.* 50 (2002) 5586.
- [53] N.E. Es-Safi, V. Cheynier, M. Moutounet, *J. Agric. Food Chem.* 50 (2002) 5571.
- [54] C. Sousa, N. Mateus, J. Perez-Alonso, C. Santos-Buelga, V. de Freitas, *J. Agric. Food Chem.* 53 (2005) 9249.
- [55] J. Pissarra, N. Mateus, J. Rivas-Gonzalo, C.S. Buelga, V. Freitas, *J. Food Sci.* 68 (2003) 476.

## Composición tánica de los vinos envejecidos con productos alternativos de madera *Quercus pyrenaica* Willd. Influencia del tipo de curado y nivel de tostado

Gallego, L.<sup>1</sup>, Del Álamo, M.<sup>1</sup>, Nevares I.<sup>1</sup>, Rayo, J.<sup>1</sup>, Calles, Y.<sup>1</sup>, Cadahía, E.<sup>2</sup>, Fernández De Simón, B.<sup>2</sup>, Lizarralde, I.<sup>3</sup>,

<sup>1</sup>E.T.S. Ingenierías Agrarias, Universidad de Valladolid. Avda de Madrid 44. 34071 Palencia. [delalamo@qa.uva.es](mailto:delalamo@qa.uva.es)

<sup>2</sup>Centro de Investigación Forestal. INIA. Ctra. de La Coruña. km. 7,5. 28040 Madrid.

<sup>3</sup>CESEFOR. Pol. Ind. Las Casas C-4. 42005 Soría.

### Resumen

Existen una serie de etapas en el proceso de fabricación de las barricas y productos alternativos de madera de roble, como el secado y tostado, que influyen cualitativa y cuantitativamente en el aporte químico-sensorial de la madera al vino, de forma que durante el envejecimiento los vinos experimentan modificaciones en su composición debido a las reacciones que tienen lugar. Es importante perfeccionar estas fases para lograr una madera de *Quercus pyrenaica* Willd. (rebollo) con el potencial adecuado para el envejecimiento de los vinos. En este trabajo se presentan los resultados obtenidos al envejecer un mismo vino con astillas de roble de rebollo con dos tipos de secado (tradicional y acelerado) y tres niveles de tostado (ligero, medio y fuerte) y pequeñas dosis de oxígeno (MOX). El objetivo ha sido evaluar el efecto que presenta el tipo de secado y tostado sobre la composición tánica durante los cuatro meses en que el vino ha permanecido con la madera de rebollo.

**Palabras clave:** alternativos, *Quercus pyrenaica* Willd, secado, tostado, vino tinto.

### 1. Introducción

La capacidad para el envejecimiento de los vinos tintos está relacionada en gran medida con su composición fenólica, especialmente de antocianos responsables del color rojo, y de proantocianidinas responsables de parte del color amarillo y del gusto amargo, así como de la astringencia y cuerpo del vino. El empleo de madera de roble (*Quercus spp*) para el envejecimiento de los vinos tintos mejora la calidad del producto final, debido al aporte de sustancias procedentes de esta madera, como polifenoles, elagitaninos y compuestos volátiles [1-2], y de las reacciones que tienen lugar entre los compuestos del vino y la madera. Estas están favorecidas por la entrada de oxígeno a través de los poros de la madera, de forma que se desarrollan nuevas cualidades organolépticas, se reducen ciertos caracteres del vino, y se incrementa la complejidad y estabilidad del vino final.

Hay una serie de factores que influyen en las características sensoriales del vino final, como la especie y origen de roble empleado, tipo de tostado, secado y el tiempo de contacto del vino con la madera. El secado de la madera puede realizarse de forma natural o tradicional (al aire libre durante un tiempo variable) o de forma acelerada (artificial) mediante una estufa ventilada con condiciones de humedad y temperatura controladas durante menor tiempo. Cuando el secado se realiza de forma tradicional se produce un descenso de compuestos relacionados con características sensoriales negativas como el amargor y la astringencia [3]. El tostado de la madera también influye en la composición fenólica de la madera y por lo tanto en el vino envejecido, debido a que las características químicas cuantitativas y cualitativas del vino final están relacionadas con la intensidad y las condiciones del tostado de la madera utilizada. Muchas de las moléculas de la madera que se ceden al vino se producen o degradan durante el tostado.

Debido a la normativa publicada en octubre de 2006 en el Diario Oficial de la UE, donde se regula el empleo de trozos o virutas de madera de roble en la elaboración de vino, el uso de productos

alternativos de madera de roble en la industria enológica se está incrementando en los últimos años. Estas técnicas de envejecimiento suponen la adición de trozos de madera de roble y la adición de pequeñas cantidades de oxígeno (MOX) con el fin de imitar esa leve microoxigenación que sufre el vino en barrica y que es la clave del envejecimiento de los vinos [2].

Debido a la creciente necesidad de madera de roble para tonelería durante los últimos años, se hace necesaria la búsqueda de madera de calidad en otros países, como España. La aptitud de la madera de roble español para uso enológico ha sido estudiada [3,4], de forma que se ha puesto de manifiesto que la calidad enológica de *Quercus pyrenaica Willd.* es similar a las de otras maderas empleadas tradicionalmente en enología (*Quercus robur L.*, *Quercus petraea (Matt) Liebl* y *Quercus alba L.*), considerándose por tanto como una alternativa.

En este trabajo se presentan los resultados obtenidos del análisis de compuestos fenólicos relacionados con la tanicidad en un mismo vino tratado con astillas de *Q. pyrenaica* de Castilla y León con dos tipos de secado (tradicional y acelerado) y tres niveles de tostado (ligero, medio y fuerte) y pequeñas adiciones de oxígeno (MOX).

## 2. Material y Métodos

Se ha utilizado un vino perteneciente a la D.O. Ribera del Duero, que se ha envejecido en tanques de acero inoxidable con productos de madera de roble y pequeñas adiciones de oxígeno (microoxigenación: MOX). La madera utilizada en forma de astillas ha sido de roble (*Q. pyrenaica*) de Salamanca. Las astillas se fabricaron a partir de duelas secadas de forma natural o acelerada. El secado natural se realizó durante 3 años al aire libre en el parque de secado de la tonelería Intona, por tanto bajo las condiciones ambientales y de riegos habituales. El secado acelerado se realizó por CESEFOR, y consistió en sucesivos lavados de 10 minutos y centrifugados de 4 minutos, y posteriormente un secado en estufa a 50 °C durante 12 horas. Las astillas fueron tostadas en la E.T.S. Ingenierías Agrarias (Palencia) con tres intensidades diferentes, siendo aproximadamente el tostado ligero a 190 °C durante 10 min, medio a 200 °C durante 15 min y fuerte a 210 °C durante 20 min.

La cantidad de madera añadida ha sido la necesaria para conseguir la misma relación superficie /volumen que hay en una barrica de 225 litros. La microoxigenación se ha realizado con cerámicas (Oeno, AZ3) y la cantidad de oxígeno dosificada ha variado entre 1,5 y 2 mL/L/mes [5-6]. Todas las experiencias de envejecimiento se han realizado por duplicado en la sala de crianza de la bodega experimental de la E.T.S. de Ingenierías Agrarias de Palencia (Universidad de Valladolid), bajo condiciones controladas de humedad y de temperatura que varían entre el 75-85% y los 15-16 °C respectivamente. El vino se ha muestreado de cada depósito cada mes a lo largo de los cuatro meses de contacto del vino con la madera. Se han analizado taninos condensados o proantocianidinas, y los índices de etanol, HCL y gelatina según los métodos propuestos por Zamora [7] para evaluar la calidad de los taninos.

El tratamiento estadístico de datos se realizó aplicando el programa estadístico Statistica 7.0 (2004) para Windows.

## 3. Resultados y Conclusiones

Las siguientes figuras muestran los valores medios de taninos condensados e índices de etanol, HCL y gelatina que han presentado los vinos con astillas de *Q. pyrenaica* y pequeñas adiciones de oxígeno (MOX) a lo largo de todo el envejecimiento. La figura 1 presenta los resultados obtenidos de

taninos durante los cuatro meses que ha estado el vino con la madera, la figura 2, el porcentaje de etanol, es decir los taninos combinados con polisacáridos, la figura 3, el porcentaje de taninos muy polimerizados y la figura 4, el porcentaje de taninos que son capaces de reaccionar con las proteínas, es decir los taninos astringentes.

Los resultados indican que los vinos tratados con astillas de rebollo tienen mayor contenido en taninos cuando la madera ha sido secada de forma acelerada y este efecto aumenta con el grado de tostado, encontrándose que los vinos con mayor carga tánica son los envejecidos con astillas de curado acelerado y tostado alto (Fig. 1). Los polisacáridos tienen la capacidad de unirse a los taninos más pequeños impidiendo la formación de taninos de gran peso molecular, que precipitan a las proteínas de la saliva y causan la sensación astringente. Por ello, cuando se unen a los taninos ejercen una labor protectora de precipitación de taninos suavizando la astringencia de los taninos. El nivel de taninos asociados a polisacáridos se evaluó mediante el índice de etanol y se ha encontrado que los vinos envejecidos con astillas secadas tradicionalmente presentan mayor porcentaje de taninos combinados con polisacáridos (Fig. 2). Este efecto es más claro cuando la madera tiene un tostado ligero y por lo tanto cabe esperar en estos vinos mayor volumen y suavidad en boca.

La astringencia de los taninos se evalúa con la medida del índice de gelatina, ya que los taninos que precipitan las proteínas salivares, secando la boca, son similares a los que precipitan la gelatina (muy polimerizados y galoilados). Los vinos resultantes del experimento están cargados de taninos de gran tamaño, muy astringentes, es decir no precipitables con proteínas del tipo globulinas. Destacan de forma especial los envejecidos con astillas de secado tradicional que son los vinos con mayor tanino secante (Fig. 3). Otra de las características de los taninos, es su grado de polimerización, evaluado mediante el índice de clorhídrico. Se ha encontrado que los taninos que presentan los vinos tratados con astillas secadas de manera artificial presentan mayor grado de polimerización que los encontrados en los vinos envejecidos con astillas de secado tradicional (Fig. 4). Según aumenta el grado de tostado de las astillas se observa un aumento en taninos polimerizados, gracias a estas polimerizaciones se mejoran las propiedades sensoriales del vino, debido a la disminución de la astringencia y amargor.

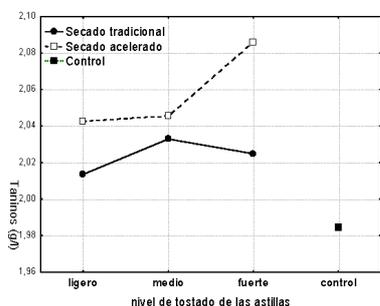


Figura 1. Contenidos medios de taninos en el vino envejecido con astillas de *Q. pyrenaica* según el tostado.

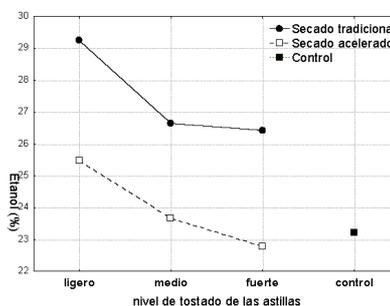


Figura 2. Contenidos medios de índice de etanol en el vino envejecido con astillas de *Q. pyrenaica* según el tostado.

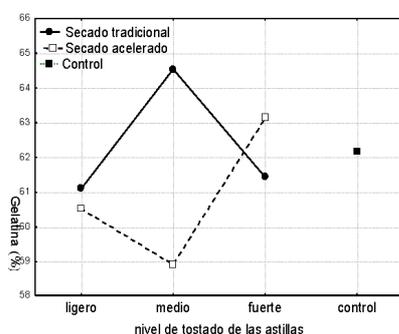


Figura 3. Contenidos medios de índice de gelatina en el vino envejecido con astillas de *Q. pyrenaica* según el tostado

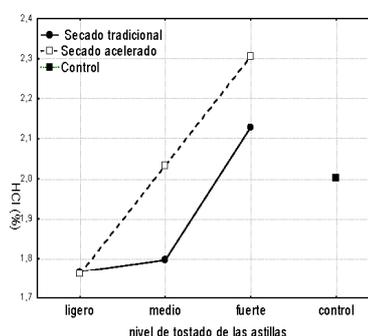


Figura 4. Contenidos medios de índice de HCL en el vino envejecido con astillas de *Q. pyrenaica* según el tostado.

En resumen, los procesos que se realizan en tonelería para la fabricación de las astillas, son críticos ya que repercuten directamente en las propiedades de los vinos envejecidos. Teniendo en cuenta la importancia de los taninos en la apreciación organoléptica de los vinos, es necesario evaluar no sólo su contenido tánico, sino también la calidad de los taninos. En las condiciones estudiadas, se ha encontrado que el uso de astillas con secado acelerado produce vinos envejecidos con mayor contenido en taninos y con mayor grado de polimerización que en el caso de usar astillas con secado tradicional, efecto que aumenta con el grado de tostado. Por lo tanto, habrá que evaluar la evolución de estos vinos en botella para adecuar el proceso de secado acelerado de forma que la calidad de los taninos presentes en la madera permita obtener vinos de calidad.

#### 4. Bibliografía

- [1] Del Álamo, M.; Castro, R.; Casado, L.; Nevares, I. & Cárcel, L.M. 2002. **Influencia del tipo de bodega en el envejecimiento del vino tinto D.O. Cigales: compuestos fenólicos y color.** *Vit. Enol. Profes.* 82, 41-48.
- [2] Del Álamo M. 2006. **Sistemas alternativos al envejecimiento en bodega.** *ACE, Revista de enología.* Nº. 74.
- [3] Cadahía, E., Muñoz, L Varea, S.; Fernández de Simón, B. & García Vallejo, C. 2001. **Evolution of Ellagitannins in Spanish, French and American Oakwood During Natural Seasoning and Toasting.** *J. Agric. Food Chem.* 49, 3677-3684.
- [4] Fernández de Simón, B.; Cadahía, E.; Sanz, M.; Poveda, P.; Pérez-Magariño, S.; Ortega-Heras, M. & González-Huerta, C. 2008. **Volatile Compounds and Sensorial Characterization of wines from four Spanish denominations of origin, aged in Spanish rebollo (*Quercus pyrenaica* Willd.) oak wood barrels.** *J. Agric. Food Chem.* 56,9046-9045
- [5] Nevares, I. & Del Álamo, M. 2008. **Measurement of dissolved oxygen during red wines tank aging with chips and micro-oxygenation.** *Anal. Chim. Acta,* 621(1), 68-78.
- [6] Del Álamo, M.; Nevares, I.; Gallego, L.; Cadahía, E. & Fernández De Simón, MB. 2008. **Envejecimiento de vinos tintos con productos alternativos de rebollo (*Quercus Pyrenaica* Willd.). Parámetros básicos y color.** *XXX Jornadas de Viticultura y Enología de Tierra de Barros.* (en prensa)
- [7] Zamora, F. 2003. **Elaboración y crianza del vino tinto: aspectos científicos y prácticos.** Mundí-Prensa. 84-8476-130-4.

#### 5. Agradecimientos

Trabajo financiado por Junta de Castilla y León VA030A06, CESEFOR y Ministerio de Educación y Ciencia (Proyecto RTA-FEDER0600078). Los autores agradecen la colaboración de la tonelería INTONA y CESEFOR en el procesado de las maderas.

**Efecto del tipo de curado y nivel de tostado de las astillas de madera *Quercus pyrenaica* sobre las características organolépticas de los vinos envejecidos**

Del Álamo, María<sup>1</sup>; Gallego, Laura<sup>1</sup>; Nevares Ignacio<sup>1</sup>; Parra, Juanjo<sup>1</sup>; Fernández de Simón, Brígida<sup>2</sup>,  
Cadahía, Estrella<sup>2</sup>; Lizarralde, Iñigo<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>E.T.S. Ingenierías Agrarias, Universidad de Valladolid. Avda de Madrid 44, 34071 Palencia. [del\\_Álamo@qa.uva.es](mailto:del_Álamo@qa.uva.es)

<sup>2</sup>Centro de Investigación Forestal. INIA. Ctra. de La Coruña, km. 7,5. 28040 Madrid.

<sup>3</sup>CESEFOR. Pol. Ind. Las Casas C-4. 42005 Soria.

**Resumen**

El curado y tostado de la madera de roble son etapas muy importantes en el proceso de producción de las barricas, y por ello también en la fabricación de productos como astillas, tablonos, cubos...llamados alternativos de madera de roble (AOP). En estas fases la madera adquiere las propiedades que posteriormente, durante el proceso de envejecimiento, van a definir las características de los vinos. Por ello se hace necesario optimizar estos procesos con el fin de asegurar que la madera de rebollo *Q. pyrenaica* se adecúa perfectamente al vino que envejece. En este trabajo se presentan los resultados obtenidos del estudio del envejecimiento del mismo vino tinto con productos de roble *Q. pyrenaica* fabricados con dos sistemas de curado y tres niveles de tostado, además también se han dosificado pequeñas cantidades de oxígeno al vino (MOX). Los resultados obtenidos indican que los vinos envejecidos con productos alternativos de madera de rebollo *Q. pyrenaica*, autóctono de Castilla y León, cuentan con caracteres propios de tratados con roble americano y también con roble europeo, presentando además características peculiares que han sido muy bien valoradas por los expertos.

**Palabras clave:** características organolépticas, curado, *Quercus pyrenaica*, tostado, vino tinto, microoxigenación.

**1. Introducción**

Los sistemas alternativos al envejecimiento en barrica son métodos que imitan el proceso de envejecimiento en barricas de roble, mediante la adición de madera y oxígeno al vino. En el mercado nos encontramos con una gran variedad de productos que consisten en "llevar la madera al vino", se trata de trozos de roble de diferentes tamaños, tipos de madera y grados de tostado, algunos de ellos para introducir directamente en el depósito y otros para aprovechar las barricas usadas [1-3]. Las especies más utilizadas son *Q. petraea* y *Q. alba*, sin embargo la gran demanda de madera para tonelería hace necesario el estudio de otras especies. Estas técnicas de envejecimiento suponen la adición de trozos de madera de roble y la adición de pequeñas cantidades de oxígeno (MOX) con el fin de imitar esa leve microoxigenación que sufre el vino en barrica y que es la clave del envejecimiento de los vinos. Las pequeñas cantidades de oxígeno se deben dosificar de forma continua y lenta, siendo imprescindible que la velocidad de aporte de oxígeno inferior a su consumo, de modo que se evite su acumulación. Con el control y gestión del oxígeno se logra integrar de forma equilibrada en el vino el aporte de sustancias de la madera de roble (con la adición de productos alternativos AOP) y los componentes propios del vino (con la microoxigenación o microaireación) [4-6].

Los estudios de los últimos años del equipo de investigación del C.I.FOR.-INIA, han puesto de manifiesto que la madera de *Q. pyrenaica*, autóctona de la península Ibérica, tiene una composición química similar a la de las especies *Q. robur* y *Q. petraea* y presenta unas propiedades adecuadas para la fabricación de barricas [7-8]. Sin embargo, ante la escasez de madera apta para la obtención de duelas se está trabajando en la obtención de productos alternativos (astillas, tablonos, cubos...) y por ello se hace necesario adecuar los procesos en tonelería. La fabricación de los productos alternativos es clave e influye de manera decisiva en las características de los vinos envejecidos. El curado y el secado participan directamente de la formación de compuestos con un papel organoléptico muy importante, por ello son etapas a definir en el proceso de fabricación de alternativos.

En este trabajo se presentan los resultados correspondientes a una de las experiencias de las realizadas en la Universidad de Valladolid en colaboración con CESEFOR y CIFOR-INIA centradas en el estudio del envejecimiento de vinos tintos con productos de roble *Quercus pyrenaica*. Los resultados obtenidos indican que los vinos envejecidos con productos alternativos de madera de rebollo *Q. pyrenaica*, autóctono de Castilla y León están muy bien valorados por los expertos ya que cuentan con características destacables e intermedias entre los obtenidos con los robles tradicionales (Americano y Francés). Concretamente este trabajo se ha centrado en estudiar el efecto del sistema de curado y nivel de tostado de las astillas en las características organolépticas del vino tinto envejecido.

## 2. Material y Métodos

Se ha contado con vino perteneciente a la D.O. Ribera del Duero elaborado en Castilla y León, que se ha envejecido en tanques de acero inoxidable con productos de madera de roble y pequeñas adiciones de oxígeno (microoxigenación: MOX). La madera utilizada en forma de astillas ha sido de roble Español (*Q. pyrenaica* Willd.) de Salamanca, Castilla y León. Las astillas se fabricaron a partir de duelas que sufrieron el secado tradicional. Este se realizó durante 2-3 años al aire libre en el parque de secado de la tonelería Intona, por tanto bajo las condiciones ambientales y los riegos habituales. El secado acelerado de las astillas realizado por CESEFOR consistió en varios lavados de 10 minutos y centrifugado de 4 minutos, y posteriormente un secado en estufa a 50 °C durante 12 horas. Las astillas se tostaron Finalmente, las astillas procedentes del secado tradicional y secado acelerado fueron tostadas en la E.T.S. Ingenierías Agrarias (Palencia) en las mismas condiciones en horno de alimentación, a tres intensidades diferentes siendo aproximadamente el tostado ligero a 190°C durante 10 min, medio a 200 °C durante 15 min y fuerte a 210°C durante 20min.

La cantidad de madera añadida ha sido la necesaria para conseguir la misma relación superficie de madera/volumen de vino que hay en una bodega de 225 litros. La microoxigenación se ha realizado con cerámicas (Oeno, AZ3) y la cantidad de oxígeno dosificada ha variado entre 1,5 y 2 mL/L/mes [4-6,9]. Todas las experiencias de envejecimiento se han realizado por duplicado en la sala de crianza de la bodega experimental de la E.T.S. de Ingenierías Agrarias de Palencia (Universidad de Valladolid), bajo condiciones controladas de humedad y de temperatura que varían entre el 75-85% y los 15-16 °C respectivamente.

Se ha muestreado el vino de cada depósito para realizar el análisis organoléptico, que ha sido realizado por un panel de 10 catadores expertos. Los catadores fueron entrenados específicamente para este tipo de muestras con el fin de familiarizarlos con los atributos evaluados. La ficha de cata se compone de atributos divididos en fase visual (Intensidad, Limpidez, Azulados, Rojos, Amarillos) olfativa (Intensidad, Complejidad, Afrutados, Reducción, Acetaldehído, Lácticos, Maderizado, Tostado, Balsámico, Vainilla, Coco, Pimienta, Clavo, canela, Cacao, Ahumados, Café, Regaliz, Cuero) y fase gustativa (Volumen/Grasa, Acidez, Intensidad Tánica, Tanino Dulce, Tanino Verde, Tanino Secante) y valoración global (Armonía, Persistencia/Postgusto, Valoración Final).

## 3. Resultados

Las siguientes figuras muestran las características organolépticas que presentan los vinos envejecidos con astillas junto a pequeñas dosis de oxígeno (MOX). Se presentan los resultados promedios, de los atributos valorados por los catadores en los vinos, cuando el vino lleva cuatro meses en contacto con las astillas tostadas con distintos grados tras sufrir un proceso de secado tradicional o acelerado. La figura 1 recoge lo obtenido en fase olfativa 1 (intensidad aromática, complejidad, maderizado, tostado, balsámico, ahumados, tabaco y café), la figura 2 lo correspondiente a la fase olfativa

2 (vainilla, coco, pimienta, clavo, canela, cacao, y regaliz) y la figura 3 lo relacionado con la fase gustativa (volumen, acidez, intensidad tánica, tanino redondo, tanino verde y tanino secante) y valoración global (valoración, armonía, postgusto).

Los resultados indican que el grado de tostado de las astillas afecta a las características finales de los vinos, siendo el tostado fuerte de las astillas el que imparte a los vinos mayor complejidad, intensidad aromática, maderizados y ahumados, tanto en astillas con secado tradicional como acelerado. Indicar que se han encontrado diferencias entre los distintos grados de tostado, para estos atributos, cuando los vinos se envejecen con astillas de secado tradicional y secado acelerado (figura 1).

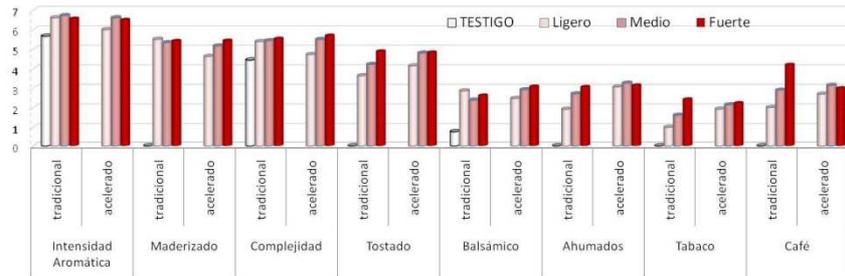


Figura 1. Características organolépticas FASE OLFATIVA 1 del vino tinto envejecido durante 4 meses con *Q. pyrenaica* en forma de astillas con distintos grados de tostado y secado tradicional o acelerado.

Destacar las notas a tostados, tabaco, y ahumados encontradas en los vinos guardados con astillas de secado tradicional, aspectos que aumentan según el nivel de tostado (figura 1), y en menor medida regaliz, pimienta y cacao (figura 2), más destacable en las astillas con secado tradicional.

Los vinos envejecidos con rebollo presentan notas dulzanas de vainillas y cocos propias de los vinos envejecidos con roble americano, que son más evidentes en los vinos tratados con astillas de menor nivel de tostado, tanto con curado acelerado como tradicional. En los vinos guardados con astillas de secado acelerado no se aprecian diferencias tan claras para regaliz, clavo, canela cuando se emplean astillas con tostado medio o fuerte (figura 2), aunque son estos vinos los que han mostrado mayores notas de ahumados, tabaco, café y regaliz, lo que indica que el efecto de la temperatura es mayor en la madera con este tipo de curado. Cabe destacar que son precisamente las notas a pimienta, regaliz, balsámicos y cacao presentes en los vinos envejecidos con *Q. Pyrenaica*, las responsables de una peculiaridad aromática muy valorada por los catadores [9].

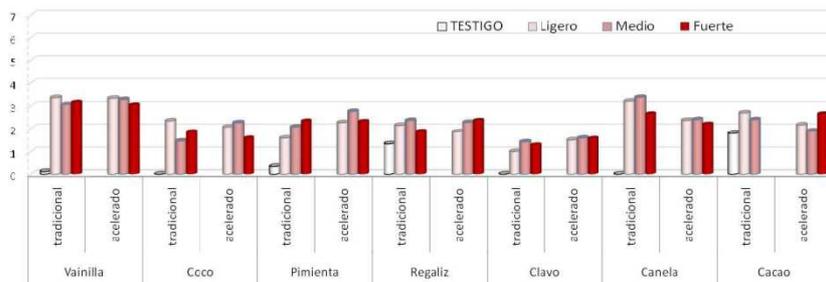


Figura 2. Características organolépticas FASE OLFATIVA 2 del vino tinto envejecido durante 4 meses con *Q. pyrenaica* en forma de astillas con distintos grados de tostado y secado tradicional o acelerado.

Respecto a la fase gustativa, se ha encontrado que no hay diferencias significativas en las características de los vinos debido al tipo de secado realizado a las astillas (figura 3). Se ha obtenido que los vinos con más intensidad tánica son los envejecidos con astillas de secado acelerado que también presentan mayor tanino verde y tanino secante, independientemente del grado de tostado de la madera. En el caso de los vinos tratados con astillas de curado tradicional, se ha observado que la tanicidad aumenta con el nivel de tostado, lo que va unido al aumento del tanino secante detectado en estos vinos.

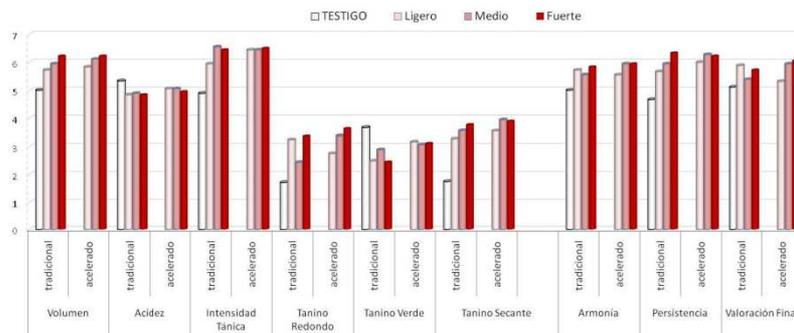


Figura 3. Características organolépticas FASE GUSTATIVA del vino tinto envejecido durante 4 meses con *Q. pyrenaica* en forma de astillas con distintos grados de tostado.

El efecto de los procesos de curado y tostado sobre las características globales de los vinos nos indica que están mejor valorados los vinos con tostados más altos, tanto si las astillas han sufrido curado tradicional como acelerado. Se han valorado como más persistentes los vinos envejecidos con astillas de tostado fuerte y curado tradicional, mientras que en la valoración global son los vinos tratados con astillas de tostado ligero (curado tradicional) y tostado fuerte (curado acelerado) los mejor valorados.

#### 4. Bibliografía

- [1] Del Álamo M., Nevares I., L.M. Navas, Cárcel Lm., Fernández J.A., Merino S. 2006 **Envejecimiento de vinos tintos en sistemas alternativos a las barricas de roble: parámetros básicos y edad química.** *Vitic. Enol. Prof.* 104,27-33.
- [2] Del Álamo M. 2006. **Sistemas alternativos al envejecimiento en barrica.** *ACE, Revista de enología*, Nº. 74.
- [3] Del Álamo M. 2007. **Effet des techniques de vieillissement accéléré dans la composition phénolique des vins rouges.** *Rev.Oenol*, 122: 21-26.
- [4] Nevares I.; Del Álamo M.; Cárcel Lm.; Crespo R.; Martín C.; Gallego L. 2007 **Measure the dissolved oxygen consumed by red wines in aging tank.** *Food Bioproc. Tech.* DOI 10.1007/s11947-008-0109-3.
- [5] Nevares, I. Y Del Álamo, M. 2008. **Measurement of dissolved oxygen during red wines tank aging with chips and micro-oxygenation.** *Anal. Chim. Acta*, 621(1), 68-78.
- [6] Nevares I.; Merino S.; Gallego L.; Martín C. 2008 **Evolution of red wine composition during aging tank with oak chips and microoxygenation.** *J.Food Bever Techn* Abril:16-22
- [7] Cadahía, E.; Fernández de Simón, B.; Poveda, P. & Sanz, M. 2008. **Utilización de *Quercus pyrenaica* Willd. De Castilla y León en el envejecimiento de vinos. Comparación con roble francés y americano.** *Monografías INIA: serie forestal nº 18.* INIA. ISBN 978-84-7498-525-2
- [8] Fernández de Simón, B.; Cadahía, E.; Sanz, M.; Poveda, P.; Pérez-Magariño, S.; Ortega-Heras, M. & González-Huerta, C. 2008. **Volatile compounds and sensorial characterization of wines from four Spanish Denominations of Origin aged in Spanish rebollo (*Quercus pyrenaica* Willd.) oak wood barrels.** *J. Agric. Food Chem.*, 56, 9046-9055.
- [9] Del Álamo, M.; Nevares I.; Gallego, L.; Cadahía E, Fernández De Simón MB. 2008. **Envejecimiento de vinos tintos con productos alternativos de rebollo (*Q.pyrenaica* Willd.). Parámetros básicos y color.** *XXX Jornadas de Viticultura y Enología de Tierra de Barros.* (en prensa)

**5. Agradecimientos.** Trabajo financiado por Junta de Castilla y León VA030A06 y CESEFOR. Los autores agradecen la colaboración y CESEFOR en el procesado de las maderas.

## La medida del oxígeno disuelto en vinos tintos micro-oxigenados con alternativos de madera de roble

Ignacio Nevares\*<sup>1</sup>, María del Álamo, Laura Gallego, Carlos González, Miguel Vargas, Raúl Crespo y Luis Miguel Cárcel.

*Escuela Técnica Superior de Ingenierías Agrarias. Universidad de Valladolid. Avda. de Madrid 44, 34004 Palencia.  
Tel. 979108384. Fax 979108302. [inevares@iaf.uva.es](mailto:inevares@iaf.uva.es) [www.uvamox.es](http://www.uvamox.es)*

### Resumen

El oxígeno está presente en diversos momentos del proceso de vinificación y es un parámetro importante que es necesario conocer, ya sea porque queremos evitar su presencia o porque es parte fundamental del proceso. Durante el proceso de vinificación de tintos los niveles de oxígeno disuelto a medir se pueden clasificar en dos grandes grupos. En primer lugar se sitúan aquellas operaciones en las que el oxígeno disuelto (OD) se encuentra en concentraciones de mg/L (ppm) y aquellas otras en las que, por el contrario, el nivel de OD se encuentra en niveles varios órdenes de magnitud por debajo, en µg/L (ppb). De entre todos éstos es el proceso del envejecimiento con madera el que presenta niveles más bajos, entre 30 y 50 ppb.

Los equipos necesarios para realizar la determinación de OD deben de ser cuidadosamente seleccionados, ya que de otro modo no permitirán realizar su seguimiento con las garantías suficientes. La existencia en el mercado de tecnologías electroquímicas y luminiscentes permite al usuario seleccionar la más adecuada a cada situación. En este trabajo se analizan las diferentes opciones existentes y se destacan aquellos condicionantes que permitirán realizar la mejor elección para el seguimiento de los procesos de envejecimiento de vinos tintos con micro-oxigenación y alternativos.

**Palabras clave:** oxígeno disuelto, luminiscente, electroquímico, alternativos.

### 1. Introducción

La oxigenación se utiliza en diferentes momentos del proceso de vinificación en muchas de las bodegas de la mayoría de los países productores de vino [1]. El oxígeno es muy importante en la evolución fenólica de los vinos tintos, en especial durante su envejecimiento, y por eso se utiliza el roble para su almacenamiento durante este proceso a causa de su permeabilidad al oxígeno [2]. Si a los vinos almacenados en depósitos de material impermeable al oxígeno, como es el caso del acero inoxidable, se les provoca una ligera oxidación mejoran su calidad [3], mientras que por el contrario una fuerte oxigenación supone oxidación. Así pues, el nivel de oxigenación es muy importante para obtener el efecto deseado. Las reacciones químicas producidas pueden inducir algunas modificaciones polifenólicas dando lugar a compuestos altamente coloreados [4] que reducen la astringencia e influyen tanto en el color como en el sabor del vino [5].

La técnica de envejecimiento en tanque busca mediante una micro-oxigenación (MOX) reproducir los procesos que se producen en una bodega de roble durante la crianza de los vinos tintos. Esta oxigenación se hace a dosis muy bajas y la herramienta que se utiliza para analizar el resultado y por consiguiente el control de este proceso es el análisis sensorial de los vinos. Esta solución no deja de ser una forma subjetiva de controlar la operación de MOX. Si se quiere controlar de forma objetiva este proceso, la medida del nivel de oxígeno disuelto (OD) en el vino es fundamental, ya que permite conocer la cinética del consumo del oxígeno, puesto que la dosificación ha sido elegida por el enólogo. En los procesos de MOX, el OD reacciona con los componentes del vino y progresivamente es consumido hasta llegar a valores muy bajos de concentración (10 µg/L). En los procesos de envejecimiento tradicional, la cinética de consumo es mayor que la cinética de difusión del oxígeno y por lo tanto los niveles de OD en el vino también llegan a niveles muy bajos, entre 10 y 40 µg/L [2]. Para la medida del OD, tradicionalmente se han venido utilizando sistemas electroquímicos de medida del oxígeno disuelto basados en el electrodo de Clark y existen en el mercado equipos con las prestaciones necesarias para garantizar una correcta

medida, lo que permite realizar el seguimiento de la evolución del OD. El problema de este tipo de equipos reside en que normalmente son sistemas con sensibilidad a otras especies químicas [6] y necesitan del consumo de oxígeno para realizar la medida. Ante esta situación se hace necesario que estos sistemas estén diseñados para medir con el vino en movimiento [7], lo que requiere celdas de medida exteriores al tanque de proceso, con el consiguiente peligro de oxigenaciones involuntarias. En los últimos años han aparecido en el mercado nuevas soluciones ópticas, todas ellas basadas en el principio del amortiguamiento dinámico de la luminiscencia con diferentes estrategias y distintos tipos de sensores [8]. Las soluciones de medida pueden estar basadas en el descenso de la intensidad o en el desfase de la señal luminiscente recibida, ambas son inversamente proporcionales al contenido en OD presente en el vino. Los sensores de oxígeno disuelto luminiscentes son de los sensores ópticos mejor conocidos y estudiados [9] y a diferencia de los electroquímicos basados en Clark, no consumen oxígeno [10].

El objetivo de este trabajo es comprobar qué sistema ofrece las mejores características para realizar un seguimiento del OD en vinos tintos durante un proceso de MOX en tanque con alternativos.

## 2. Material y Métodos

Se han seleccionado para este trabajo equipos comerciales basados en el principio electroquímico y en el luminiscente. Se han clasificado los sistemas en equipos de baja resolución, con un coste de adquisición aproximadamente de 600-1800 €, y equipos de alta resolución de ambas tecnologías con un coste de entre 6000-9000€. Una vez escogidos los equipos se han utilizado para el seguimiento de procesos de MOX de vinos tintos con alternativos. En todos los casos se ha realizado la medida del oxígeno en un circuito externo al depósito convenientemente inertizado y con el vino en movimiento para garantizar la no contaminación por un lado y por otro, la no interferencia de los sistemas electroquímicos en la medida del oxígeno producida por su consumo. Se han realizado mediciones durante todas las fases del proceso de tratamiento con MOX+alternativos con todos los equipos, con un rango de OD entre 1500 y 10 ppb. Se han aprovechado las fases de inertizado y barrido del circuito de medida con N<sub>2</sub> para realizar medidas de 0 ppb y conocer el comportamiento de los sistemas de medida estudiados en ausencia de oxígeno.

Tabla 1. Características de los equipos de medida utilizados

Pondría todo igual, o ppb o mg/L

	ElectroQuímica-A	Luminiscente-A	ElectroQuímica-B	Luminiscente-B
Límite de detección	0.1µg/L (ppb)	1µg/L (ppb)	0.01 mg/L (ppm)	0.01 mg/L (ppm)
Precisión	± 1 µg/L	± 0.3 µg/L	± 0.2 mg/L	± 0.2 mg/L
Rango de medida	0.1 µg/L a 20mg/L	1 a 1800 µg/L y 1 µg/L a 20mg/L	0 a 20.0 mg/L	0.05 a 20.0 mg/L

## 3. Resultados y Conclusiones

Los resultados del seguimiento del contenido de oxígeno disuelto durante diferentes momentos del proceso de MOX de vinos tintos en contacto con alternativos han sido variados. En general el comportamiento de los equipos de alta resolución (tipo A) ha sido muy bueno. Los equipos de baja resolución se han comportado de una forma similar a los de alta resolución en la mayoría de las situaciones en las que el contenido en oxígeno disuelto de los vinos estaba por encima de 1500 ppb. Cuando el nivel de OD ha comenzado a disminuir y se sitúa en valores por debajo de 1 mg/L (aproximadamente a los 2-5 días del comienzo del proceso) empiezan a aparecer lecturas discordantes con las ofrecidas por los equipos de alta resolución. En la figura 1 se puede apreciar el comportamiento de las sondas electroquímicas, en la parte izquierda cuando se realizaron las inertizaciones del circuito de

medida, y en la parte derecha cuando se realizaron medidas en vinos. La capacidad de los equipos de baja resolución de medir cero ppm es nula, algo que debería no extrañarnos si nos atenemos a sus características. Esto no tiene la menor importancia cuando se realizan medidas de OD en operaciones habituales de bodega como pueden ser bombeos, fermentaciones, filtraciones, pero adquiere especial consideración en procesos en los que los valores se sitúan por debajo de las 100 ppb. En la medida en vinos el sistema electroquímico de alta resolución es capaz de determinar con mucha exactitud y gran estabilidad niveles muy bajos. Por el contrario el equipo de baja resolución no es capaz de realizar una medida de OD con la precisión necesaria en los procesos de MOX con alternativos. El error medio cometido se sitúa en torno a las 50 ppb, algo que impide su uso al ser 30-40 ppb el contenido habitual en vinos micro-oxigenados.

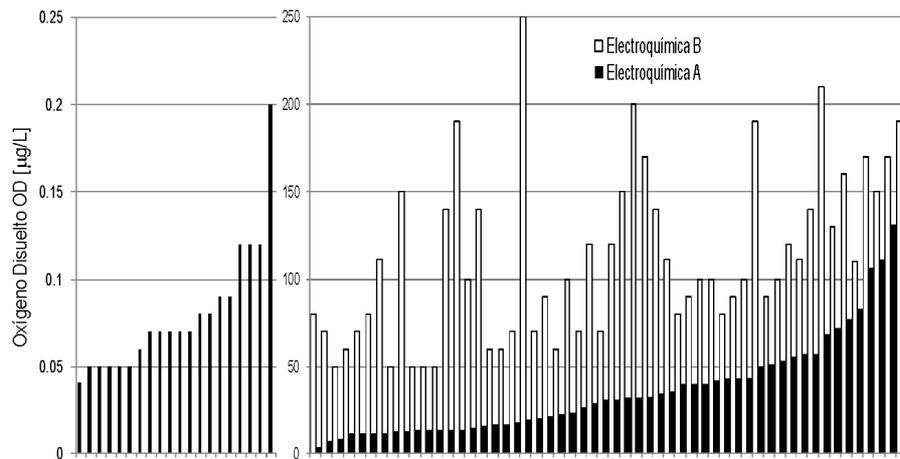


Figura 1. Comparación de lecturas de OD ordenadas por valores de los sistemas electroquímicos A: de alta resolución y B: de baja resolución. Izquierda con nitrógeno, derecha en vinos

En la figura 2 se presentan los resultados de las medidas del OD en vinos con MOX con alternativos ordenadas de forma creciente. En este caso no es necesario mostrar los valores del equipo luminiscente de baja resolución cuando se miden el OD en una corriente de nitrógeno ya que han dado siempre lecturas con valores negativos. En su comportamiento en vino, el equipo luminiscente de baja resolución muestra nuevamente su falta de capacidad de ofrecer lecturas fieles al contenido en OD por debajo de 200 ppb y lecturas negativas por debajo de 50 ppb. Este comportamiento es el esperado al ser la precisión de los equipos testados de baja resolución de  $\pm 200$  ppb. El equipo de alta resolución luminiscente se comportó de forma similar al electroquímico, aportando lecturas acordes con el contenido real en OD, tanto en vinos como en corriente de nitrógeno, ofreciendo una muy buena estabilidad de medida incluso en valores muy bajos de OD ( $\leq 30$  ppb).

En la comparación de medidas de OD en vinos entre los equipos luminiscentes y electroquímicos, ambas soluciones muestran un comportamiento muy similar dentro de cada una de las categorías (alta y baja resolución), si bien cada tecnología ofrece ventajas e inconvenientes que se ven más acentuadas en los sistemas de alta resolución.

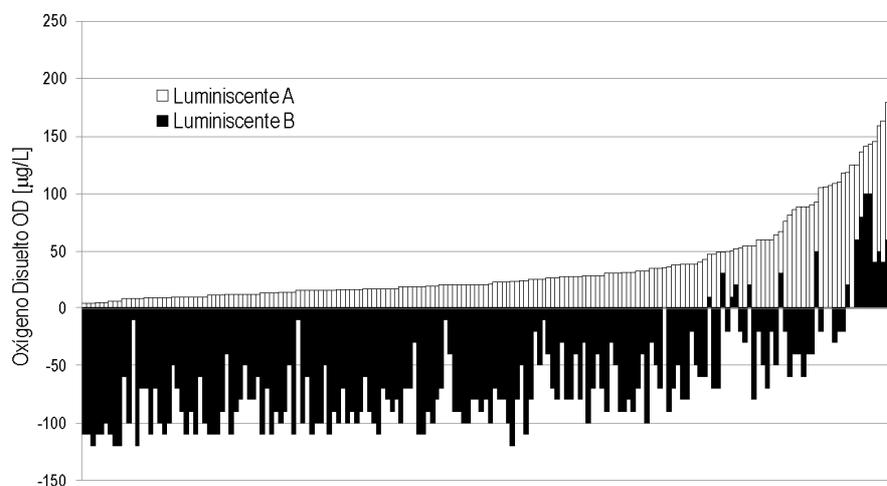


Figura 2. Comparación de lecturas de OD en vinos ordenadas por valores de los sistemas luminiscentes A: de alta resolución y B: de baja resolución

Como conclusión, se puede afirmar que los equipos de baja resolución no permiten realizar un seguimiento de la concentración de oxígeno disuelto en procesos de envejecimiento con MOX y alternativos, aunque se trata de equipos muy utilizados en bodegas. Estos equipos están destinados al seguimiento del OD en operaciones de estabilización, trasiegos, embotellado, e incluso en operaciones de filtración y bombeo. Para realizar el seguimiento de los procesos de MOX tanto tradicional en barricas como inducido en tanques es necesario disponer de equipos de alta resolución, que permitan realizar un control preciso y un conocimiento real del oxígeno disuelto.

#### 4. Bibliografía

- [1] T. Cottrell, **Micro-oxygenation, A Modern Tool for Red Wines**, (2004) Wine business online, <http://www.winebusiness.com/ReferenceLibrary/webarticle.cfm?dataId=30476>
- [2] Vivas, N. (2000). **Apports récents à la connaissance du chêne de tonnellerie et à l'élevage des vins rouges en barriques**. Bulletin de l'OIV, 73(827-828), 79-108.
- [3] Moutounet, M., Ducournau, P., Chassin, M., & Lemaire, T. (1996). **Appareillage d'apport d'oxygène aux vins. Son intérêt technologique**. In A. Lonvaud-Funel (Ed.), *Oenologie 95. 5e symposium international d'oenologie* (pp. 411-414). Paris: Lavoisier Technique & Documentation
- [4] Riberéau-Gayon and Glories, **Phenolics in grapes and wines**, Proc. Of the sixth Aust.W.Indus.Tech.Conf., (1986) 247-256
- [5] Moutonet M., Mazauric J.P., Saint-Pierre B., Hanocq J.F. **Gaseous Exchange in Wines Stored in Barrels** J. Sci. Tech.Tonnellerie, 1998, 4 131-145
- [6] Lippitsch M.E., Pusterchofer J., Leiner M.J.P. and Wolfbeis O.S. (1988) **Fibre-optic oxygen sensor with the fluorescence decay time as the information carrier**, Anal.Chim.Acta, 205, 1.
- [7] HS Voraberger, H Kreimaier, K Biebernik and W Kern.(2001) **Novel oxygen optrode withstanding autoclavation: technical solutions and performance** Sens. and Act. B 74, 179.
- [8] W. Xu, RC McDonough, B Langsdorf, JN Demas and B A DeGraff,(1994) **Oxygen Sensors Based on Luminescence Quenching: Interactions of Metal Complexes with the Polymer Supports** Anal.Chem., 66 (23) 4133.
- [9] DB Papkovsky, GJ Mohr and OS Wolfbeis, **New polar plasticizers for luminescence-based sensors** (1997) Anal.Chim.Acta, 337 (2), 201-205
- [10] MP Xavier, D García-Fresnadillo, MC Moreno-Bondi and G Orellana,(1998) **Oxygen Sensing in Nonaqueous Media Using Porous Glass with Covalently Bound Luminescent Ru(II) Complexes** Anal.Chem., 70 (24) 5184.

**5. Agradecimientos** Trabajo financiado por Junta de Castilla y León VA030A06, CESEFOR y Ministerio de Educación y Ciencia (Proyecto RTA-FEDER0600078).

**Envejecimiento de vinos tintos con productos alternativos de rebollo  
(*Q.pyrenaica Willd.*). Parámetros básicos y color.**

Del Alamo M., Nevares I., Gallego, L., Cadahía E., Fernández de Simón MB

**RESUMEN**

En este trabajo se presentan algunos de los resultados obtenidos con el empleo de productos de madera de rebollo (*Quercus pyrenaica Willd.*) para el envejecimiento de vinos tintos. Se compara la evolución del mismo vino cuando es sometido a este tipo de envejecimiento con los productos de madera de rebollo (*Quercus pyrenaica Willd.*) y con los de madera de roble Americano (*Quercus alba*) y roble Francés (*Quercus petraea*). En todos los casos se realiza la adición de pequeñas cantidades de oxígeno, microoxigenación (MOX). Los resultados obtenidos en todos los parámetros analizados, indican claramente que los productos de madera de rebollo aportan a los vinos tintos características similares o incluso mejores que las maderas tradicionalmente utilizadas en tonelería. Por lo tanto, en base a los datos obtenidos se puede decir la madera de *Quercus pyrenaica Willd.* es perfectamente apta para el envejecimiento en tanque de los vinos tintos y por lo tanto, a corto plazo la fabricación de los productos alternativos supondría el aprovechamiento de la masa forestal arbolada disponible en la actualidad (260.000 Ha).

**Palabras clave:** chips, envejecimiento, productos alternativos, *Quercus pyrenaica Willd.*, *Quercus alba*, *Quercus petraea*, vino tinto.

**INTRODUCCION**

El uso de astillas o chips de madera de roble en la industria enológica se está incrementando en los últimos años. El interés es creciente desde que el 12 de octubre de 2006 se publicó, en el Diario Oficial de la Unión Europea, la normativa que regula la utilización de trozos o virutas de madera de roble en la elaboración del vino, aunque esta práctica enológica ya estaba autorizada en la UE desde el 28 diciembre de 2005 por un reglamento del Consejo. El posible uso de astillas de roble en vinos de Denominación de Origen está supeditado a lo que decida cada consejo regulador dentro del ámbito de su propia denominación. En España, únicamente en la Rioja la ORDEN APA/3332/2007 de 2 de noviembre de 2007 que modifica el Reglamento de la DOC Rioja ha prohibido su uso en la elaboración y posteriores procesos, incluido el

almacenamiento, de los vinos protegidos por la denominación. (BOE del 16 de Noviembre de 2007).

El envejecimiento oxidativo de los vinos en barrica, llevar el vino a la barrica y complementarlo con un período de reducción en botella, es una práctica tradicional en zonas elaboradoras de vinos de calidad, práctica extendida a la mayor parte de las regiones vitivinícolas mundiales. El vino en barrica mejora sus características organolépticas debido a los fenómenos de clarificación espontánea, eliminación de CO<sub>2</sub>, difusión lenta y continua de oxígeno a través de los poros de la madera, cesión de compuestos propios del roble al vino y reacciones entre diversos compuestos. Algunas especies de madera de roble poseen las características necesarias para favorecer la correcta evolución del vino, de forma que la entrada de oxígeno en la barrica favorece las reacciones entre ciertos compuestos de los vinos. Estos fenómenos físico-químicos provocan una estabilidad y mejora organoléptica de los vinos tintos. El tiempo de contacto entre vino-madera, el origen de la madera de roble, tipo de secado, tostado y volumen de la barrica de envejecimiento son factores que determinan las propiedades finales del vino y por ello, deben seleccionarse para cada vino de forma que no sea eclipsado por la madera. (BOIDRON y CHATONNET, 1988, CHATONNET y col. 1989, CHATONNET y col., 1991, MILLER y col, 1992, FEUILLAT y col. 1999, CHATONNET y col. 1994, MASSON y col. 1995, DEL ALAMO y col. 2002).

Las maderas comúnmente utilizadas en tonelería son roble Americano (*Quercus alba*) y roble Francés (*Quercus petraea* y *Quercus robur*), sin embargo la creciente demanda de madera que el sector enológico lleva realizando los últimos años, hace necesario buscar otras fuentes en países del este de Europa o España. Nuestro país cuenta con *Quercus petraea*, *Quercus robur* y *Quercus pyrenaica*, especies de roble válidas para su uso enológico. Los estudios realizados en los últimos años por el CIFOR-INIA (CADAHÍA y col., 2001a,b, FERNÁNDEZ DE SIMÓN y col. 1996 a,b,2003) han puesto de manifiesto que las propiedades químicas y estructurales de la madera de *Quercus pyrenaica*, su evolución durante las diferentes etapas del proceso de fabricación de barricas, y su influencia en las características del vino hace que esta madera de origen ibérico tenga una calidad enológica comparable o incluso superior a las maderas de *Q. robur* y *Q. petraea* de origen Francés o *Quercus alba* de origen Americano. La mayor parte de las masas forestales de *Q. pyrenaica* no han tenido en los últimos años ningún tipo de tratamiento silvícola debido al abandono del aprovechamiento tradicional de su madera para traviesas de tren, barcos, etc. Esto ha llevado a una degradación progresiva de las masas, que presentan un alto porcentaje de los pies con diámetros inferiores a 40 cm, árboles con gran número de nudos, heridas y otro tipo de defectos,

lo que reduce notablemente su rendimiento final en madera de calidad. Esta situación ha provocado un incremento importante del trabajo selvícola en estas masas forestales con el fin de obtener, a largo plazo, madera de calidad para las duelas necesarias en la fabricación de barricas. Sin embargo, teniendo en cuenta el auge de los sistemas alternativos al envejecimiento en barrica y con el fin de obtener un rendimiento económico a corto plazo de la masa existente, se plantea el aprovechamiento de estas masas destinando la madera obtenida a la fabricación de estos productos alternativos para envejecimiento de vinos.

Los sistemas alternativos al envejecimiento en barrica se emplean de forma habitual en los llamados países del nuevo mundo en el ámbito vitivinícola USA, Chile, Sudáfrica y Australia, se trata de métodos de envejecimiento que imitan el proceso de envejecimiento en barricas de roble. Este sistema permite reducir costes en la obtención de vinos similares, y suponen un importante beneficio económico. En el mercado nos encontramos con una gran variedad de sistemas que consisten en "llevar la madera al vino": trozos de roble de diferentes tamaños, tipos de madera y grados de tostado, algunos de ellos para introducir directamente en el depósito y otros para aprovechar las barricas usadas. Como ejemplo, las astillas de roble se ofrecen en distintos formatos: las conocidas como virutas "*oak chips*", las porciones de madera cortadas formando cubos llamados "*cubes*" o "*oak beans*", también encontramos polvo de roble "*oak powder*", trozos de madera granulada llamados "*pencil shavings*" o "*granulates*", la madera de roble cortada como piezas de dominó "*dominoes*", o también en pedazos cuadrados "*blocks*" o "*segments*". También se encuentran productos de roble de mayor tamaño para introducir en el depósito se pueden encontrar los llamados "*tank staves*", se trata de travesaños de madera también mencionados como "*winewood*" o "*infusion staves*", o incluso ya se encuentran en el mercado depósitos de acero inoxidable de paredes con grandes trozos de madera (DEL ALAMO 2006). El tamaño del trozo de madera que se emplea es un aspecto muy importante, que define las características finales de los vinos. Así, numerosos estudios indican que cuanto menor es el trozo de madera mayor evolución sufre el vino y más diferente es del envejecido en barricas (PIRACCI y col. 2001a,b, Del ALAMO y col. 2004a,b, 2006). El empleo de estas prácticas alternativas a las barricas con el uso de "alternativos" hace necesario que cada zona elaboradora establezca las normas de utilización, ya que nos encontraremos simultáneamente en el mercado vinos producidos por el sistema tradicional de envejecimiento y por el sistema de envejecimiento alternativo.

Estas técnicas de envejecimiento acelerado implican no sólo la adición de trozos de madera de roble, sino que también se debe imitar esa leve microoxigenación que sufre

el vino en barrica y que es sin duda alguna la clave del envejecimiento de los vinos. Con la técnica de la microoxigenación se intenta reproducir la estabilización del color y la suavización de la astringencia que se produce durante el contacto vino-madera. Para ello, es necesario un aporte de pequeñas cantidades de oxígeno de forma continua y lenta, siendo la velocidad de aporte de oxígeno inferior a su consumo, de modo que se evite su acumulación. Estas técnicas de envejecimiento acelerado para simular la barrica de roble, pretenden integrar el aporte de sustancias aromáticas de la madera de roble (con la adición de astillas) y la continua difusión de aire a través de los poros de la madera (con la microoxigenación o microaireación). (NEVARES y DEL ALAMO 2007, NEVARES y col, 2008).

En este trabajo se presentan algunos de los resultados obtenidos con el empleo de productos de madera de rebollo (*Quercus pyrenaica Willd.*) para el envejecimiento de vinos tintos. Se compara la evolución del mismo vino cuando es sometido a este tipo de envejecimiento con los productos de madera de rebollo (*Quercus pyrenaica Willd.*) y con los de madera de roble Americano (*Quercus alba*) y roble Francés (*Quercus petraea*). En todos los casos se realiza la adición de pequeñas cantidades de oxígeno, microoxigenación (MOX). Los resultados obtenidos en todos los parámetros analizados, indican claramente que los productos de madera de rebollo aportan a los vinos tintos características similares o incluso mejores que las maderas tradicionalmente utilizadas en tonelería. Por lo tanto, en base a los datos obtenidos se puede decir la madera de *Quercus pyrenaica Willd.* es perfectamente apta para el envejecimiento en tanque de los vinos tintos y por lo tanto, a corto plazo la fabricación de los productos alternativos supondría el aprovechamiento de la masa forestal arbolada disponible en la actualidad (260.000 Ha).

## MATERIALES Y METODOS

### *Vinos y sistemas de envejecimiento.*

Se ha contado con vino de la variedad Tinta del País perteneciente a la D.O. Ribera del Duero que se ha envejecido en tanques de acero inoxidable elaborado en Castilla y León, y se ha envejecido simultáneamente en 12 depósitos de acero inoxidable con productos de madera de roble y pequeñas adiciones de oxígeno. La madera utilizada ha sido de roble Americano (*Quercus alba*), roble Francés (*Quercus petraea*) y roble Español (*Quercus pyrenaica Willd.*) de Salamanca, Castilla y León. Todos los productos

(astillas y travesaños) han sido fabricados por la tonelería Intona (Navarra) y tras un secado natural han sufrido un tostado medio.

La cantidad de madera añadida ha sido la necesaria para conseguir la misma relación superficie de madera/volumen de vino que hay en una barrica de 225 litros. La microoxigenación se ha realizado con cerámicas (Oeno, AZ3) y la cantidad de oxígeno dosificada ha variado entre 1,5 y 2 mL/L/mes, manteniéndose en todos los casos unos niveles aproximados de oxígeno disuelto de 0,03 mg/L.

Todas las experiencias se han realizado por duplicado en la sala de crianza de la bodega experimental de la E.T.S. de Ingenierías Agrarias (Universidad de Valladolid), bajo condiciones controladas de humedad y de temperatura que varían entre el 75-85% y los 15-16 °C respectivamente.

Se ha muestreado el vino de cada depósito cada 25 días a lo largo de los 6 meses de permanencia del vino en contacto con la madera, estableciéndose 3 períodos de envejecimiento: período 1 (tras 45 días), período 2 (115 días) y período 3 (180 días).

Métodos de análisis

Los azúcares reductores (Az, g/l), el extracto seco (ES, g/l), el grado alcohólico (Grado % v/v), la densidad relativa (Dens) y el potasio (K, mg/l) fueron determinados según los métodos de la OIV (OIV, 1990). La acidez volátil (AV, g/l de ácido acético), la acidez total (AT, g/l de ácido tartárico) y el ácido tartárico (Tartárico g/l) se analizaron siguiendo los métodos CEE, 1990. El ácido málico (Málico, g/l) y glicerol (Glicerol, g/l) analizados por métodos enzimáticos. La medida del pH se realizó con un pHmetro CRISON, SO<sub>2</sub> libre y combinado (SO<sub>2</sub>-L y SO<sub>2</sub>-C, mg/l) determinados por el método de Paul (OIV, 1990), y SO<sub>2</sub> total, se ha considerado como la suma del libre y combinado (SO<sub>2</sub>-T, mg/l). Los polifenoles totales (PT, mg/l de ácido gálico) y los antocianos totales (Ant, mg/l de malvidina 3-glucosido) se analizaron por el método de Paronetto (PARONETTO, 1977).

Los parámetros de edad química se determinaron siguiendo el método propuesto por Somers y Evans: i (relación de los pigmentos poliméricos con respecto a los antocianos del vino) y ii (relación de los pigmentos poliméricos con respecto a los antocianos del vino en forma flavilium) (SOMERS y EVANS, 1977).

La intensidad de color (IC), la tonalidad (T), el porcentaje de amarillo (% Am), el rojo (% R) y el azul (% Az), dA (%) se determinaron siguiendo el método de Glories (GLORIES, 1984a y b). La medida del color se realizó con un espectrofotómetro Shimadzu 1700 UV-visible, usando cubetas de vidrio de 1mm de paso óptico.

*Análisis estadístico.* Se ha empleado el programa STATISTICA 5.5 (1997 Inc., USA) para el análisis estadístico.

## RESULTADOS Y DISCUSION

A continuación se presentan los resultados cuando al mismo vino se le envejece con astillas y travesaños de roble Americano, Francés y Español. Se ha realizado un análisis de varianza de medidas repetidas (MANOVA) donde los factores son el sistema de envejecimiento (astillas y travesaños), el tiempo de envejecimiento (6 meses) y el origen de la madera (Americano, Francés y Español). La tabla 1 presenta la importancia de cada uno de estos factores así como las interacciones entre ellos (el nivel de significación) en la evolución del mismo vino guardado en distintos sistemas.

El tiempo de contacto con la madera es el factor que define la variación de la mayoría de las variables estudiadas durante el envejecimiento en el vino, con una significación superior al 95% (Tabla 1).

	Formato	Tiempo	FxT
PT			
Ant		***	
Tan		**	*
IC	**		
T		***	
%A420		*	
%A520		***	
%A620	*	*	
%dA		***	
i		***	
ii	***	***	*
i/ii	**	***	
Tartárico		***	
Glicerol			
K		**	
Grado		***	
AV	*		
SO <sub>2</sub> -T		***	
SO <sub>2</sub> -L		***	
pH		***	
Az		***	

Se han encontrado diferencias significativas (significación superior al 99.9%(\*\*\*), al 99% (\*\*), al 95% (\*)) entre el vino tratado con astillas o el tratado con travesaños en lo que se refiere a las variables siguientes: IC, %620, ii, i/ii, AV. La interacción entre formato y tiempo sólo influye de forma significativa (95%) en la variación de los taninos y de la acidez volátil.

Por lo tanto, cabe pensar que en lo que se refiere a los parámetros enológicos básicos, los resultados obtenidos en cada uno de los sistemas estudiados son muy semejantes.

La densidad del vino durante el envejecimiento baja, ya que la clarificación espontánea que se produce implica la pérdida de sustancias en suspensión. El vino guardado con roble Español es el que mantiene la mayor densidad durante el estudio del vino guardado con astillas + MOX o con travesaños + MOX. También se ha encontrado en los vinos tratados con rebollo el mayor extracto seco, por ello cabe pensar que se trata de vinos que sufren una mayor interacción con la madera (Figura 1). Esta mayor interacción puede deberse a que el tratamiento térmico que sufren las maderas en tonelería afecta en mayor medida a la madera de rebollo que a la madera de roble Americano o roble Francés, y por lo tanto, el vino se ve más modificado por la madera de rebollo. Es importante recordar que todas las maderas han sufrido el mismo proceso en tonelería.

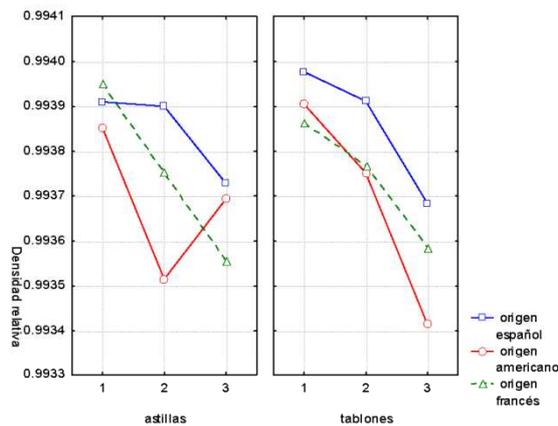


Figura 1

Este resultado también se ha observado en la cantidad de azúcares que aumentan ligeramente en todos los casos estudiados, y de forma más significativa en el vino tratado con travesaños de roble Español (Figura 2). Este resultado se explica por la cesión de monosacáridos de la madera hacia el vino, fenómeno que ha sido descrito durante el envejecimiento en vinos tintos en barricas (DEL ALAMO 1997, DEL ALAMO y col. 2000). Estas pentosas (arabinosa, xilosa, ribosa...) proceden de la degradación de la hemicelulosa de la madera, y se puede decir que los vinos con alternativos de

madera de roble Francés presentan menor cantidad de azúcares, posiblemente debido a su menor degradación.

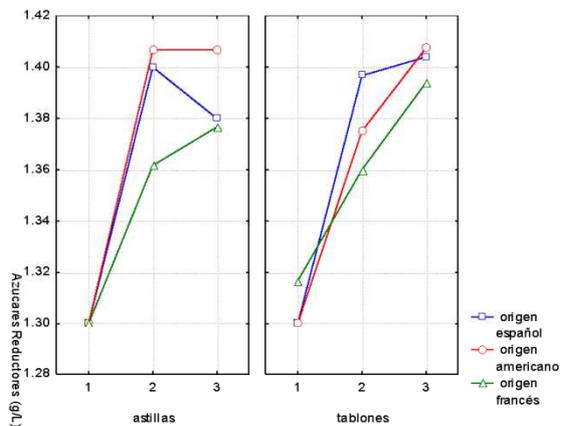


Figura 2

Otro parámetro que aumenta progresivamente durante la crianza de los vinos es la acidez volátil. Su evolución en el vino de los diferentes sistemas se presenta en la figura 3). Este resultado está de acuerdo con lo obtenido por numerosos autores (MARTINEZ y col, 1999, HIDALGO, 2003) y otros trabajos previos del grupo (DEL ALAMO y col. 2002, 2006, 2008). Los mayores niveles pertenecen a los vinos tratados con travesaños, siendo significativamente superiores a los de los vinos guardados con astillas (Tabla 1). Estas diferencias se pueden explicar porque los travesaños ceden mayor cantidad de grupos acetilo procedente de la hemicelulosa (CHATONNET, 1993) que las astillas. Este resultado ya se ha observado en otros trabajos en los que ha envejecido vino tinto sin microoxigenación (Del ALAMO y col. 2008). Los vinos tratados con alternativos de madera de roble Americano junto a pequeñas dosis de oxígeno (MOX) presentan mayor acidez volátil que los tratados con madera de roble Francés o rebollo Español (*Q. pyrenaica Willd.*)

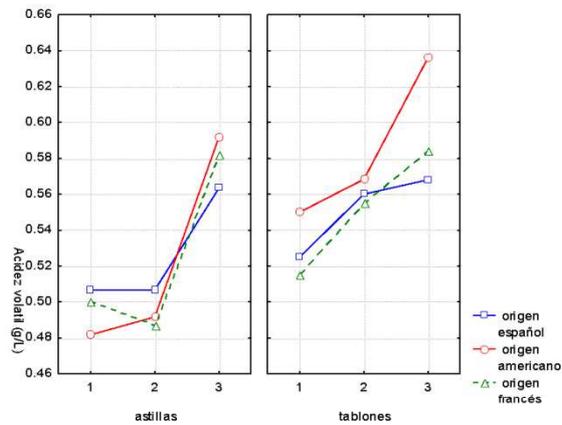


Figura 3

Los compuestos fenólicos del vino se ven modificados durante el envejecimiento, en primer lugar por los cambios propios del paso del tiempo, y por otro lado, debido a las interacciones entre los componentes fenólicos del vino y los aportados por la madera. Los antocianos son los compuestos flavonoideos más importantes del vino tinto, ya que son los responsables de su color y sus modificaciones definen las características cromáticas de los vinos.

La figura 4 recoge la evolución de antocianos en el vino, se observa que el contenido de los vinos tratados con roble Francés es muy semejante al encontrado en los vinos envejecidos con roble Español. En ambos casos la pérdida de antocianos es más acusada que cuando se envejecen los vinos con roble Americano, especialmente si se emplean travesaños de madera. Este resultado se refleja en los cambios percibidos en el color rojo (figura 5), tanto con el empleo de astillas como con travesaños, los vinos tratados con alternativos de roble Americano son los que mantienen más el color rojo propio de los vinos jóvenes. Estas modificaciones debidas a las reacciones de polimerización y condensación entre antocianos y taninos modifican y estabilizan el color del vino, y se producen con menor intensidad cuando los vinos se tratan con roble Americano+MOX.

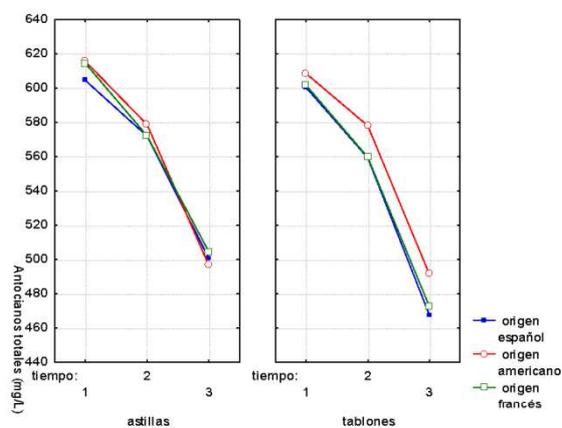


Figura 4

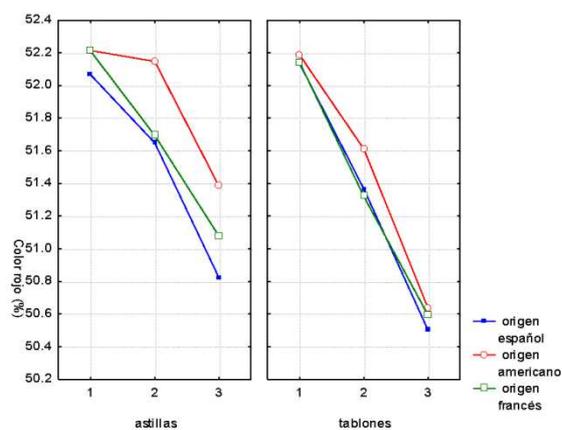


Figura 5

En los vinos tratados con astillas o travesaños de madera francesa y rebollo Español se ha observado una evolución muy semejante hacia las tonalidades pardas, propias de los vinos envejecidos. Además, y como se observa en la figura 6, la tonalidad de los vinos tratados con astillas de roble Americano son los menos pardos, mientras que los vinos envejecidos con astillas de roble Español muestran una progresión más rápida hacia las tonalidades pardas. En el caso del empleo de travesaños, no se aprecian diferencias significativas entre en empleo de roble Francés o rebollo.

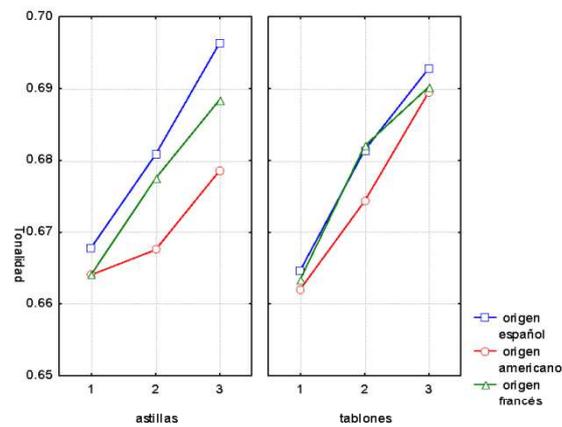


Figura 6

Es interesante destacar la evolución que el matiz azul del color de los vinos tintos durante su permanencia en contacto con astillas y travesaños de los 3 tipos de madera (Figura 7). Se ha observado que cuando se añaden travesaños+MOX los vinos mantienen mayores niveles de azulados que cuando se envejecen con astillas+MOX. En ambos casos los vinos envejecidos con madera de roble Americano presentan los niveles más bajos de azulados, siendo más destacado en los tratados con astillas. Este aumento del color azul ya ha sido observado en trabajos previos en los que envejecieron vinos con astillas y travesaños, pero sin microoxigenación. En este caso también se ha observado, que el aumento de la importancia de los tonos azulados de los vinos se detecta en mayor medida cuando el vino es tratado con productos alternativos con o sin MOX que cuando envejece de forma tradicional en barricas (Del ALAMO y col. 2002).

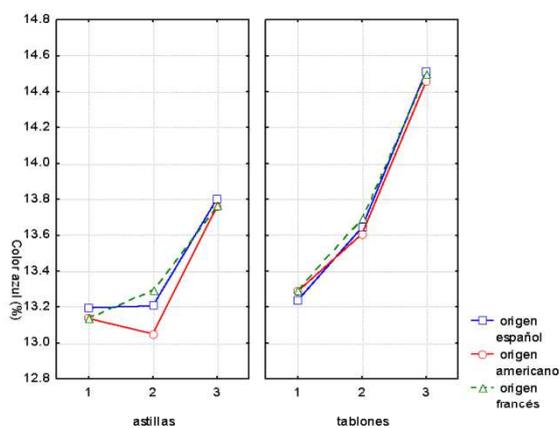


Figura 7

La edad de los vinos tratados con sistemas alternativos es un aspecto de gran interés, ya que se desconoce la vida a largo plazo de los vinos envejecidos de forma acelerada (Del ALAMO y col. 2008). La evolución de los parámetros de edad química, que nos indican el grado en que los pigmentos poliméricos reemplazan a los antocianos libres, se puede observar en la Figura 8 y 9.

La edad química de los vinos aumenta durante el tiempo de estudio, en menor medida en los vinos guardados con travesaños+MOX, que con astillas+MOX. Este resultado, en lo que se refiere a la relación de los pigmentos poliméricos con respecto a los antocianos del vino (parámetro i), es ligeramente superior en el caso de los vinos tratados con travesaños de roble Español. Sin embargo, cuando se emplean astillas los vinos tratados con roble Americano son los que mayor edad química presentan. Por lo tanto, cuando se emplean astillas de roble Español los vinos sufren menos polimerizaciones, adquiriendo características semejantes a los vinos guardados con roble Francés. Resultados muy semejantes se han obtenido al evaluar (ii) que la indica relación de los pigmentos poliméricos con respecto a los antocianos del vino en forma flavilium.

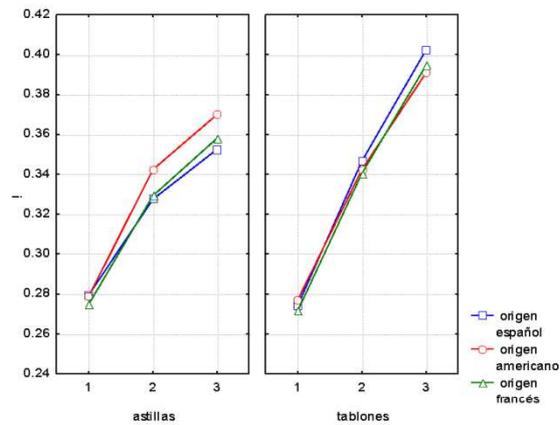


Figura 8

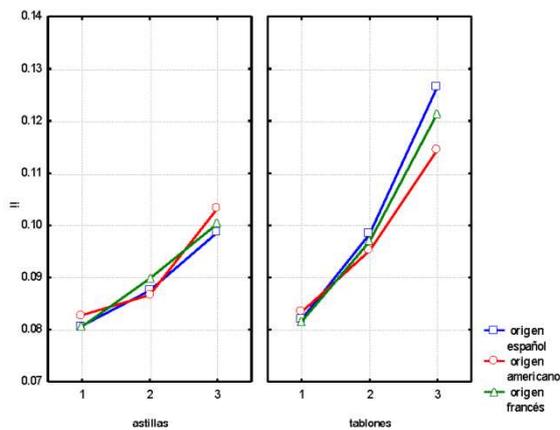


Figura 9

Los resultados obtenidos indican que los vinos obtenidos cuando se emplean productos de *Quercus pyrenaica* (astillas o travesaños) tienen características fenólicas muy semejantes a los elaborados con roble Americano (*Quercus alba*) o roble Francés (*Quercus petraea*), siendo más coincidentes con los envejecidos con roble Francés. Por lo tanto, en base a los datos obtenidos se puede decir la madera de *Quercus pyrenaica* Willd. es perfectamente apta para el envejecimiento en tanque de los vinos tintos y por lo tanto, a corto plazo la fabricación de los productos alternativos supondría el aprovechamiento de la masa forestal disponible en la actualidad.

## AGRADECIMIENTOS

Estos trabajos han sido financiados por el CESEFOR y por la Junta de Castilla y León (ref. VA030A06). Los autores agradecen la colaboración de Enrique Esteruelas de la Tonelería Intona (Navarra).

## REFERENCIAS

- BOIDRON, J. N., CHATONNET, P., PONS, M. (1988) Influence du bois sur certains substances odorant des vins. *Conn. Vigne Vin* 22, 275–294.
- CADAHIA, E., MUÑOZ, L., FERNANDEZ DE SIMON, B., GARCIA-VALLEJO, M.C. (2001a). Changes in low molecular weight phenolics in Spanish, French and American oak during natural seasoning and toasting. *J. Agric. Food Chem.*, 49, 1790-1798.
- CADAHIA, E., VAREAS, S., FERNANDEZ DE SIMON, B., GARCIAVALLEJO, M.C. (2001b). Evolution of Ellagitannins in Spanish, French and American oak wood during sesaoning and toasting. *J. Agric. Food Chem.*, 49, 3677-3684.
- CHATONNET, P. (1991). Incidences du bois de chene sur la composition chimique et les qualites organoleptiques des vins, applications technologiques. Thesis, Universite de Bordeaux II, UFR Institut.
- CHATONNET, P., BOIDRON, J. N., DUBOURDIEU, D., PONS, M. (1994) Evolution of oakwood volatile compounds during seasoning. First results. *J. Int. Sci. Vigne Vin*. 28, 359–380.
- CHATONNET, P., BOIDRON, J. N., PONS, M. (1989) Incidence du traitement thermique du bois de chêne sur sa composition chimique. 2e Partie, Evolution de certains composés en fonction de l'intensité de brûlage. *J. Int. Sci. Vigne Vin*. 23, 223–250.
- DEL ALAMO M. (1997). Envejecimiento en barricas de roble del vino tinto de la D.O. Ribera del Duero. Estudio de la evolución de los monosacáridos y de sus relaciones con los compuestos fenólicos y con los porcentajes de color, Tesis Doctoral, Universidad de Valladolid.
- DEL ALAMO, M., BERNAL, J.L., GOMEZ-CORDOVES, C. (2000). Influencia de la especie del roble de barricas nuevas y usadas en el envejecimiento de un vino tinto de la D.O. Ribera del Duero. *Food Sci. Tech. Int.*, 6 (6), 483-493.

DEL ÁLAMO M., FERNÁNDEZ J.A, CASTRO R. (2004) Changes in phenolic compounds and colour parameters of red wine aged with oak chips and in oak barrels *Food Sci.Tech.Int.* 10(4),233-242.

DEL ÁLAMO M., NEVARES I., L.M. NAVAS, CÁRCEL LM., FERNÁNDEZ J.A., MERINO S. (2006) Envejecimiento de vinos tintos en sistemas alternativos a las barricas de roble: parámetros básicos y edad química. *Vit. Enol. Prof.*104,27-33.

DEL ALAMO SANZA (2006) Sistemas alternativos al envejecimiento en barrica. ACE, Revista de enología, ISSN 1697-4123, N°. 74.

DEL ALAMO, M., CASTRO, R., CASADO, L., NEVARES, I., CÁRCEL, L.M. (2002). Influencia del tipo de barrica en el envejecimiento del Vino Tinto D.O. Cigales. *Compuestos fenólicos y color. Vític.Enol. Prof.*, 82, 41–48

DEL ALAMO, M., NEVARES, I., MERINO, S. (2004). Effect of aging system on wine anthocyanin and color composition during aging time in different oak woods. *Eur. Food Res. Tech.*, 219(2), 124–132

FERNANDEZ DE SIMÓN, B., CADAHÍA, E., CONDE, E., GARCÍA-VALLEJO, M.C. (1996a). Low molecular weight phenolic compounds in Spanish oak woods. *J. Agric. Food Chem.*, 44, 1507-1511.

FERNANDEZ DE SIMÓN, B., CADAHÍA, E., CONDE, E., GARCÍA-VALLEJO, M.C. (1996b). Les composés phénoliques de faible poids moléculaire dans les bois de chêne espagnol, français et américain. *J. Sci. Tech. Tonnellerie*, 2, 1-11.

FERNANDEZ DE SIMÓN, B., CADAHÍA, E., JALOCHA, J. (2003). Volatile compounds in a Spanish red wine aged in barrels made of Spanish, French, and American oak wood. *J. Agric. Food Chem.*, 51, 7671-7678.

FEUILLAT F, KELLER R, SUAVAGEOT F, PUECH JL (1999). Characterization of french oak cooperage (*Q. robur* L., *Q. petraea* Liebl.). research of study group on barrel-aging Burgundy wines. *Am. J. Enol. Vític.* 50, 513-517

GLORIES Y (1984a) La couleur des vins rouges. Les equilibres des anthocyanes et des tanins. *Conn. vigne vin*, 18 (3), 195-217.

GLORIES Y (1984a) La couleur des vins rouges. Mesure, origine et interpretation. 18 (4), 253-271.

- HIDALGO TOGORES, J. (2003). Tratado de Enología, Tomo II. Ediciones Mundi-Prensa.
- MARTINEZ, J. (1999). Envejecimiento en barrica de roble de vinos tintos de Rioja. Jornada Técnica "La barrica como factor de calidad en la crianza de los vinos tintos". Congresos y Jornadas, 3, 73-94. Ed. Gobierno de La Rioja
- MASSON, G., GUICHARD, C., FOURNIER, N., PUECII, L. (1995). Stereoisomers of  $\beta$ -methyl- $\delta$ -octalactone. Contents in the wood of French (*Quercus robur* and *Quercus petraea*) and American (*Quercus alba*) oaks. *Am. J. Enol. Vitic.*, 46, 424-428.
- MILLER, D. P., HOWELL, G. S., MICHAELIS, C. S., DICKMANN, D. I. (1992). The content of phenolic acid and aldehyde flavor components of white oak as affected by site and species. *Am. J. Enol. Vitic.*, 43, 137-150.
- NEVARES I, DEL ALAMO M., CÁRCEL LM, CRESPO R., MARTIN C, GALLEGO L. (2007) Measure the dissolved oxygen consumed by red wines in aging tank. *Food Bioproc. Tech.* DOI 10.1007/s11947-008-0109-3.
- NEVARES, I. Y DEL ALAMO, M. (2008). Measurement of dissolved oxygen during red wines tank aging with chips and micro-oxygenation. *Anal. Chim. Acta*, 621(1), 68-78.
- PARONETTO, L. (1977) *Polifenoli e tecnica enologica*. Italy. (ed) Selepress.
- PIRACCI, A., BUCELLI, P., FAVIERE, V., GIANNETTI, F., SCALZO, R., NOVELLO, E. (2001) Frammenti legnosi e vino. Alcune specifiche tecniche di chips e staves di rovere. *L'Oenologo*. N.7/8,97-104.
- PIRACCI, A., BUCELLI, P., FAVIERE, V., GIANNETTI, F., SCALZO, R., NOVELLO, E. (2001). Frammenti legnosi oak-chips e staves, contributo alla stabilizzazione del colore. *L'Oenologo*. N.10,103-109.
- Reglamento (CEE) N 2676/90 de la Comisión de 17 de Septiembre de 1990 por el que se determinan métodos de análisis comunitarios aplicables al sector del vino (Diario Oficial de las Comunidades Europeas).
- SOMERS y FVANS (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, 279-287.

V CONGRESO FORESTAL ESPAÑOL  
Avila, 2009



Resumen:

Autor:

MARIA DEL ALAMO

Título:

Aptitud enológica de los productos alternativos fabricados con rebollo (Q.pyrenaica Willd.).

Otros Autores:

Del Alamo M., Nevares I., Gallego L., Martín C. E.T.S. Ingenierías Agrarias. Universidad de Valladolid  
Cadañá E., Fernández de Simón MB. CIFOR-INIA. Madrid.  
Lizarralde I., Broto M. CESEFOR.Soria

Palabras Clave:

chips, envejecimiento, productos alternativos, Quercus pyrenaica Willd., Quercus alba, Quercus petraea, vino tinto.

Resumen:

En este trabajo se presentan la evolución del mismo vino cuando es sometido a envejecimiento con los productos de madera de rebollo (Quercus pyrenaica Willd.) y con los de madera de roble Americano (Quercus alba) y roble Francés (Quercus petraea) con la adición de pequeñas cantidades de oxígeno, microoxigenación (MOX). Los resultados obtenidos en todos los análisis realizados indican claramente que los productos de madera de rebollo aportan a los vinos tintos características similares o incluso mejores que las maderas tradicionalmente utilizadas en tonelería. Por lo tanto, en base a los datos obtenidos se puede decir la madera de Quercus pyrenaica Willd. es perfectamente apta para el envejecimiento en tanque de los vinos tintos y por lo tanto, a corto plazo la fabricación de los productos alternativos supondría el aprovechamiento de la masa forestal arbolada disponible en la actualidad.

Área:



5º Congreso  
Forestal Español  
Montes y sociedad: Saber qué hacer.  
21/25 septiembre 2009. Palacio de Congresos de Ávila.

9. Productos e industrias forestales: caracterización, transformación y nuevos usos.



**Reto:**

F. Innovación forestal.

**Aportación Como:**

B - Comunicaciones científicas o técnicas originales para ser presentadas como póster.

**Observaciones del Autor:**

...

**Tipo de Aportación Propuesta:**

B - Comunicaciones científicas o técnicas originales para ser presentadas como póster.

**Sugerencias al Autor:**

--

**Estado de la Aportación:**

ACEPTADA





# Composición tánica de los vinos envejecidos con productos alternativos de madera *Quercus pyrenaica* Willd. Influencia del tipo de curado y nivel de tostado.

Gallego, L.<sup>1</sup>, Del Álamo, M.<sup>1</sup>, Nevares I.<sup>1</sup>, Rayo, J.<sup>1</sup>, Calles, Y.<sup>1</sup>, Cadahía, E.<sup>2</sup>, Fernández De Simón, B.<sup>2</sup>, Lizarralde, I.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>E.T.S. Ingenierías Agrarias, Universidad de Valladolid. Avda de Madrid 44, 34071 Palencia. [lgallego@qa.uva.es](mailto:lgallego@qa.uva.es)

<sup>2</sup>Centro de Investigación Forestal. INIA. Ctra. de La Coruña, km. 7,5. 28040 Madrid.

<sup>3</sup>CESEFOR. Pol. Ind. Las Casas C-4. 42005 Soria.

## INTRODUCCIÓN

La especie y origen de roble empleado, nivel de tostado, secado y tiempo de contacto del vino son factores que influyen en las características sensoriales del vino final. El secado de la madera puede realizarse de forma natural (al aire libre) o acelerada mediante una estufa. Cuando el secado se realiza de forma tradicional se produce un descenso de compuestos relacionados con características sensoriales negativas como el amargor o astringencia. El tostado de la madera también influye en la composición fenólica de la madera y por lo tanto en el vino envejecido, debido a que las características químicas cuantitativas y cualitativas del vino final están relacionadas con las condiciones del tostado de la madera empleada. Muchas de las moléculas de la madera que se ceden al vino se producen o degradan durante el tostado.

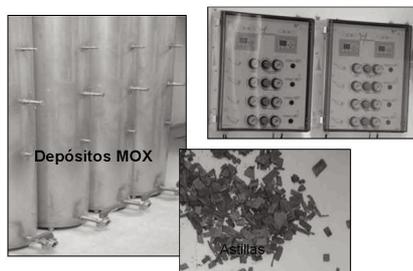
La aptitud del roble español para uso enológico ha sido estudiada, teniendo *Quercus pyrenaica* Willd. una calidad enológica similar a las otras maderas empleadas en enología (*Quercus robur*, L., *Quercus petraea* (Matt) Liebl y *Quercus alba* L.), considerándose por tanto como una alternativa.

En este trabajo se presentan los resultados obtenidos del análisis de compuestos fenólicos relacionados con la tanicidad en un mismo vino tratado con astillas de *Q. pyrenaica* de Castilla y León con diferentes tipos de secado y diferentes tostados y pequeñas dosis de oxígeno (MOX).

## MATERIALES Y MÉTODOS

Muestras: Vino tinto perteneciente a la D.O. Ribera del Duero, se ha envejecido durante cuatro meses en tanques de acero inoxidable con astillas de roble de Salamanca (*Q. pyrenaica*) y pequeñas adiciones de oxígeno (MOX). Se ha trabajado con dos tipos de secado (tradicional y acelerado) y tres niveles de tostado (ligero, medio y fuerte). Todas las experiencias se han realizado por duplicado, bajo condiciones controladas de humedad y temperatura.

Se han analizado taninos condensados y los índices de etanol, HCL y gelatina según Zamora (2003).



El empleo de astillas con secado acelerado produce vinos envejecidos con mayor contenido en taninos y mayor grado de polimerización, que al emplear astillas con secado tradicional, efecto que aumenta con el grado de tostado. Los vinos tratados con astillas de secado tradicional presentan mayores combinaciones con polisacáridos, que se traduce en mayor suavidad y volumen en boca. Se estudiará la evolución de estos vinos en botella para adecuar el proceso del secado acelerado, de forma que la calidad de los taninos presentes en la madera permita obtener vinos de calidad.

## BIBLIOGRAFÍA

- Del Álamo, M. y col (2002). Enol. Profes. 82, 41-48.
- Del Álamo, M. (2006). ACE, Revista de enología, nº 74.
- Fernández de Simón, B. y col. (2008). J. Agric. Food Chem. 56,9046-9045
- Zamora, F. (2003). Elaboración y crianza del vino tinto: aspectos científicos y prácticos.

## RESULTADOS:

Las siguientes figuras muestran los valores medios de taninos condensados y los índices de etanol, HCL y gelatina que han presentado los vinos tratados con astillas de *Q. pyrenaica* y pequeñas dosis de oxígeno (MOX) a lo largo de todo el envejecimiento. La figura 1 presenta los resultados obtenidos de taninos durante el tiempo que ha estado el vino en contacto con la madera, la figura 2, el porcentaje de etanol, es decir los taninos combinados con polisacáridos, la figura 3, el porcentaje de taninos muy polimerizados y la figura 4, el porcentaje de taninos que son capaces de reaccionar con las proteínas, es decir los taninos astringentes.

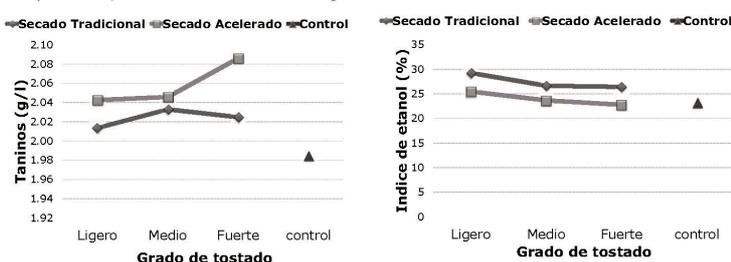


Figura 1 y 2. Contenidos medios de taninos e índice de etanol en el vino envejecido con astillas de *Q. pyrenaica* según el tostado

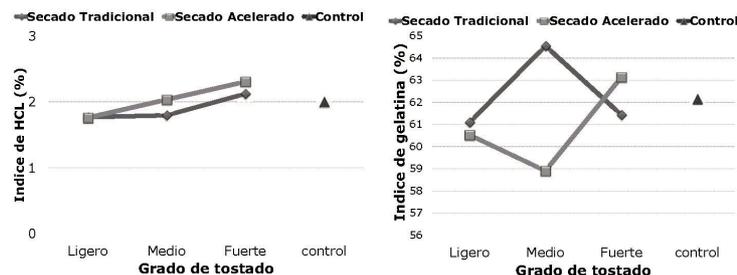


Figura 3 y 4. Contenidos medios de índices de HCL y gelatina en el vino envejecido con astillas de *Q. pyrenaica* según el tostado

## AGRADECIMIENTOS

Junta de Castilla y León CESEFOR y la Junta de Castilla y León (VA124/06) Tonelería INTONA y Ministerio de Educación y Ciencia (Proyecto RTA-FEDER0600078)



# EFFECTO DEL TIPO DE CURADO Y NIVEL DE TOSTADO DE LAS ASTILLAS DE MADERA *Quercus pyrenaica* Willd SOBRE LAS CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS DE LOS VINOS ENVEJECIDOS

Del Álamo<sup>1</sup>, M.; Gallego<sup>1</sup>, L.; Nevares I<sup>1</sup>, Parra, J<sup>1</sup>, Fernández JA<sup>1</sup>,  
Fernández de Simón, B<sup>2</sup>, Cadahía, E<sup>2</sup>, Lizarralde, I<sup>3</sup>.

(1) E.T.S. Ingenierías Agrarias, Universidad de Valladolid. Avda de Madrid 44, 34071 Palencia. delalamo@qa.uva.es

(2) Centro de Investigación Forestal. INIA. Ctra. de La Coruña, km. 7,5. 28040 Madrid.

(3) CESEFOR. Pol. Ind. Las Casas C-4. 42005 Soria.

## Introducción

Los sistemas alternativos al envejecimiento en barrica suponen la adición de trozos de madera de roble y la adición de pequeñas cantidades de oxígeno con el fin de imitar esa leve microoxigenación que sufre el vino en barrica y que es la clave del envejecimiento de los vinos. Con el control y gestión del oxígeno se logra integrar de forma equilibrada en el vino el aporte de sustancias de Los productos de roble (Alternative Oak Products: AOP) y los componentes propios del vino (con la microoxigenación o microaireación).

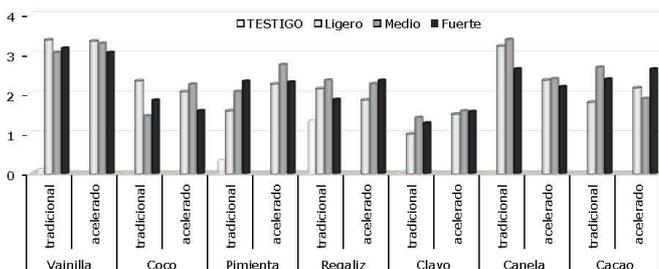
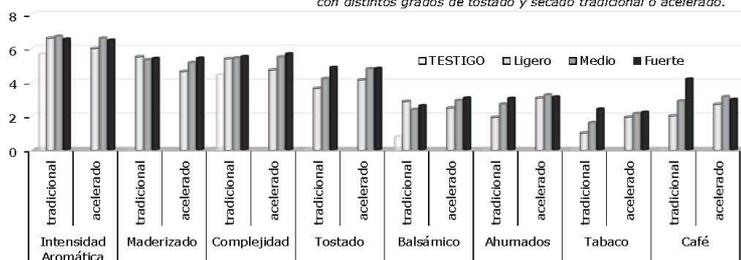
Las especies de madera más utilizadas son *Q. petraea* y *Q. alba*, sin embargo la gran demanda de madera para tonelería hace necesario el estudio de otras especies. Los estudios del equipo del C.I.FOR.-INIA, han puesto de manifiesto que la madera de *Quercus pyrenaica* Willd., autóctona de la península Ibérica, tiene una composición química similar a la de las especies *Q. robur* y *Q. petraea*. Sin embargo, ante la escasez de madera apta para la obtención de duelas se está trabajando en la obtención de productos alternativos (astillas, tablones, cubos...) y por ello se hace necesario adecuar los procesos en tonelería. La fabricación de los productos alternativos es clave e influye de manera decisiva en las características de los vinos envejecidos. El curado y el secado participan directamente en la formación de compuestos con un papel organoléptico muy importante, por ello son etapas a definir en el proceso de fabricación de alternativos.

## Materiales y métodos

Un vino D.O. Ribera del Duero se ha envejecido en tanques de acero inoxidable con astillas (chips) de roble Español (*Q. pyrenaica* Willd.) de Salamanca y pequeñas dosis de oxígeno (MOX). Las astillas se fabricaron a partir de duelas sometidas a secado tradicional, 2-3 años al aire libre en la tonelería Intona. El secado acelerado de las astillas realizado por CESEFOR consistió en lavados de 10 minutos y centrifugado de 4 minutos, y posteriormente un secado en estufa a 50 °C durante 12 horas. Todas las astillas fueron tostadas en la E.T.S. Ingenierías Agrarias (Palencia), a tres intensidades: tostado ligero a 190°C durante 10 min, medio a 200 °C durante 15 min y fuerte a 210°C durante 20min.

## Resultados y discusión

Figura 1. Características organolépticas FASE OLFATIVA del vino tinto envejecido durante 4 meses con astillas *Q. pyrenaica* con distintos grados de tostado y secado tradicional o acelerado.



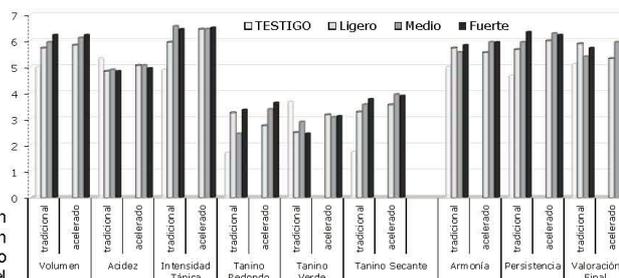
Los vinos envejecidos con rebollo presentan notas dulzonas de vainillas y cocos que son más evidentes en los vinos tratados con astillas de menor nivel de tostado, tanto con curado acelerado como tradicional. Los vinos guardados con astillas de secado acelerado han mostrado mayores notas de ahumados, tabaco, café y regaliz. Lo que indica que el efecto de la temperatura es mayor en la madera con este tipo de curado. Las notas a pimienta, regaliz, balsámicos y cacao son las responsables de la peculiaridad aromática de los vinos envejecidos con *Q. pyrenaica*.

El efecto de los procesos de curado y tostado sobre las características globales de los vinos nos indica que están mejor valorados los vinos con tostados más altos, tanto si las astillas han sufrido curado tradicional como acelerado. Se han valorado como más persistentes los vinos envejecidos con astillas de tostado fuerte y curado tradicional, mientras que en la valoración global son los vinos tratados con astillas de tostado ligero (curado tradicional) y tostado fuerte (curado acelerado) los mejor valorados.



La cantidad de madera añadida reproduce la relación superficie de madera/volumen de vino que hay en una barrica de 225 litros. La microoxigenación se ha realizado con cerámicas (Oeno, AZ3) y la cantidad de oxígeno dosificada ha variado entre 1,5 y 2 mL/L/mes. Todas las experiencias de envejecimiento se han realizado por duplicado en la sala de crianza de la bodega experimental de la E.T.S. de Ingenierías Agrarias de Palencia (Universidad de Valladolid). Se ha muestreado el vino de cada depósito para realizar el análisis organoléptico, que ha sido realizado por un panel de 10 catadores expertos.

Figura 2. Características organolépticas FASE GUSTATIVA del vino tinto envejecido durante 4 meses con astillas *Q. pyrenaica* con distintos grados de tostado y secado tradicional o acelerado.



## Referencias

- Nevares I. y del Álamo M. (2008) *Anal.Chim.Acta* 621(1), 68.
- Fernández de Simón, B (2008) *J. Agric. Food Chem.* 56,9046.
- Nevares y col (2007) *Food Bioproc. Tech.* DOI 10.1007/s11947-008-0109-3.
- Del Álamo y col. (2006) *Vitic. Enol. Prof.* 104,27.
- Del Álamo M y col. (2004). *Food Sci.Tech.Int.* 10(4):233.

Proyecto financiado por CESEFOR y la Junta de Castilla y León (VA124/06) Tonelería INTONA y Ministerio de Educación y Ciencia (Proyecto RTA-FEDER0600078)



X Congreso Nacional de Investigación Enológica, Orense (2009)



# La medida del oxígeno disuelto en vinos tintos micro-oxigenados con alternativos de madera de roble

Ignacio Nevares, María del Álamo, Laura Gallego, Carlos González, Miguel Vargas, Raúl Crespo y Luis Miguel Cárcel  
 ETSII Agrarias, Universidad de Valladolid, Avda. de Madrid 44, 34071 Palencia. 979108483, inevares@iaf.uva.es

## INTRODUCCIÓN

El oxígeno está presente en diversos momentos del proceso de vinificación y es un parámetro importante que es necesario conocer, ya sea porque queremos evitar su presencia o porque es parte fundamental del proceso. Durante el proceso de vinificación de tintos los niveles de oxígeno disuelto a medir se pueden clasificar en dos grandes grupos. En primer lugar se sitúan aquellas operaciones en las que el oxígeno disuelto (OD) se encuentra en concentraciones de mg/L (ppm) y aquellas otras en las que, por el contrario, el nivel de OD se encuentra en niveles varios órdenes de magnitud por debajo, en µg/L (ppb). De entre todos éstos es el proceso del envejecimiento con madera el que presenta niveles más bajos, entre 30 y 50 ppb.

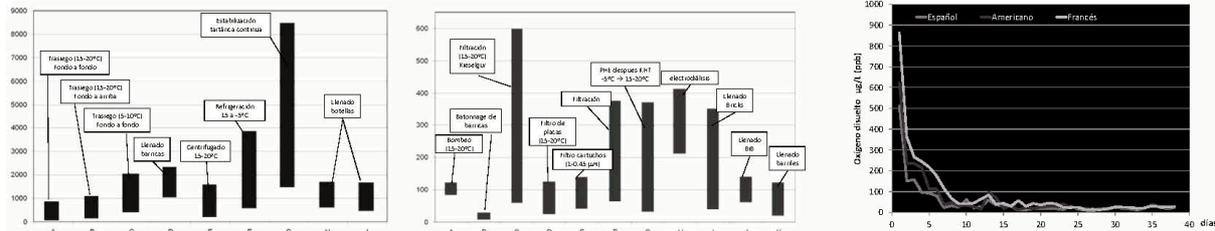
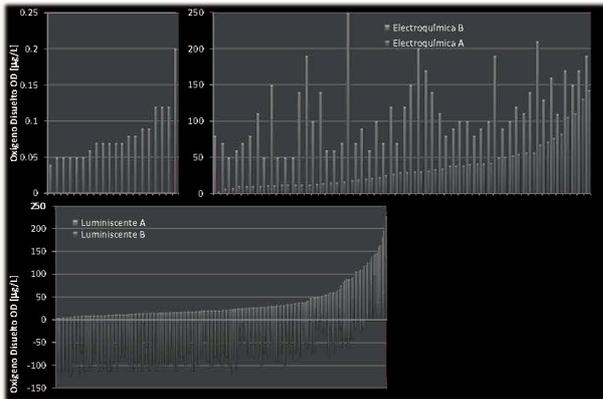


Figura 1. Comparación de los niveles de oxígeno disuelto de los procesos en bodega, a) procesos con niveles de OD medibles en ppm, hasta saturación, b) procesos con niveles de OD medibles en ppb. y c) niveles de oxígeno disuelto en barricas. (Castellari y col, 2004; del Álamo y Nevares, 2006)

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se han seleccionado para este trabajo equipos comerciales basados en el principio electroquímico y en el luminiscente. Se han clasificado los sistemas en equipos de baja resolución y equipos de alta resolución de ambas tecnologías.



## CONCLUSIONES

Los equipos de baja resolución no permiten realizar un seguimiento de la concentración de oxígeno disuelto en procesos de envejecimiento con MOX y alternativos, aunque se trata de equipos muy utilizados en bodegas. Estos equipos están destinados al seguimiento del OD en operaciones de estabilización, trasiegos, embotellado, e incluso en operaciones de filtración y bombeo. Para realizar el seguimiento de los procesos de MOX tanto tradicional en barricas como inducido en tanques es necesario disponer de equipos de alta resolución, que permitan realizar un control preciso y un conocimiento real del oxígeno disuelto.

Tabla 1. Equipos de medida analizados.

Equipo	ElectroQuímica-A	Luminiscente-A	ElectroQuímica-B	Luminiscente-B
Límite de detección	0.1µg/L (ppb)	1µg/L (ppb)	0.01 mg/L (ppm)	0.01 mg/L (ppm)
Precisión	± 1 µg/L	± 0.3 µg/L	± 0.2 mg/L	± 0.2 mg/L
Rango de medida	0.1 µg/L a 20mg/L	1 a 1800 µg/L y 1 µg/L a 20mg/L	0 a 20.0 mg/L	0.05 a 20.0 mg/L

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El comportamiento de los equipos de alta resolución (tipo A) ha sido muy bueno. Los equipos de baja resolución se han comportado de una forma similar a los de alta resolución en la mayoría de las situaciones en las que el contenido en oxígeno disuelto de los vinos estaba por encima de 1500 ppb. Cuando el nivel de OD ha comenzado a disminuir y se sitúa en valores por debajo de 1 mg/L (aproximadamente a los 2-5 días del comienzo del proceso) empiezan a aparecer lecturas discordantes con las ofrecidas por los equipos de alta resolución. En la figura 2a se puede apreciar el comportamiento de las sondas electroquímicas, en la parte izquierda cuando se realizaron las inertizaciones del circuito de medida, y en la parte derecha cuando se realizaron medidas en vinos. La capacidad de los equipos de alta resolución de medir cero ppm es nula, algo que debería no extrañarnos si nos atenemos a sus características. Esto no tiene la menor importancia cuando se realizan medidas de OD en operaciones habituales de bodega como pueden ser bombeos, fermentaciones, filtraciones, pero adquiere especial consideración en procesos en los que los valores se sitúan por debajo de las 100 ppb. En la medida en vinos el sistema electroquímico de alta resolución es capaz de determinar con mucha exactitud y gran estabilidad niveles muy bajos. Por el contrario el equipo de baja resolución no es capaz de realizar una medida de OD con la precisión necesaria en los procesos de MOX con alternativos. El error medio cometido se sitúa en torno a las 50 ppb, algo que impide su uso al ser 30-40 ppb el contenido habitual en vinos micro-oxigenados.



AGRADECIMIENTOS: Trabajo financiado por Junta de Castilla y León VA030A06, CESEFOR y Ministerio de Educación y Ciencia (Proyecto RTA-FEDER0600078).





# Phenolic compounds and sensorial characterization of wines aged with alternatives oak products made of Spanish rebollo (*Quercus pyrenaica* willd.) oak wood.

Gallego, L.<sup>1</sup>, Del Álamo, M.<sup>1</sup>, Nevares I.<sup>1</sup>, Cadahía, E.<sup>2</sup>, Fernández De Simón, B.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> University of Valladolid, Avda de Madrid 44, 34071 Palencia, Spain. [lgallego@qa.uva.es](mailto:lgallego@qa.uva.es)

<sup>2</sup> Centro de Investigación Forestal. INIA. Ctra. de La Coruña, km. 7,5. 28040 Madrid, Spain.

## INTRODUCTION

Spain is the country with the greater surface of *Q. Pyrenaica* in the world (1.000.000 ha). At the moment the forest population available presents defects and knots, but this forest population can be used for the manufacture of wood pieces for the wine aging, calls oak alternative products (OAP) (chips, cubes, blocks, stix, staves...).

This work presents the results obtained during the red wine aging with alternative products (chips and staves) made with Spanish oak wood (*Quercus pyrenaica*) and with other wood often used in cooperage, French oak (*Quercus sessilis*) and American oak (*Quercus alba*). Concretely the obtained results of the phenolic compounds and sensorial analysis of wines aged during 7 months with different wood are shown.

## RESULTS

The graphs shown above point out the organoleptic characteristics that have the wines aged during seven months with chips or staves and small doses of oxygen (MOX).

Wines with *Q. pyrenaica* chips show a higher degree in the toast, balsamic and spicy than wines with *Q. alba* and *Q. sessilis* chips. Using rebollo staves the resulting wines are more intense, showing wood and vanilla tints.

Regarding the tasting phase (graphs 2-4) there are not too many differences in the origin applied, but when using chips of *Q. pyrenaica* the wines obtained are more persistent and higher amount of green tannins with rebollo staves, for this reason it will be important to adapt the oak process.

## MATERIALS AND METHODS

A red wine made in the "Ribera del Duero" Appellation of Origin, was stored in twelve stainless-steel tanks with oak chips and staves with microoxygenation and a stainless-steel tank without wood. Ageing systems were manufactured with oak of three different origins, *Q. alba*, *sessilis* and *pyrenaica*.

Sample analysis was carried out during 14 months and were study by periods (period 1: initial wine, period 2: first 1,5 months in wood, period 3: three months in wood, period 4: five months with wood, period 5: first days in bottle, period 6: five months in bottle and period 7: Fourteen months bottled. In addition, a wine tasting has been carried out by a tasters' panel before bottle process.

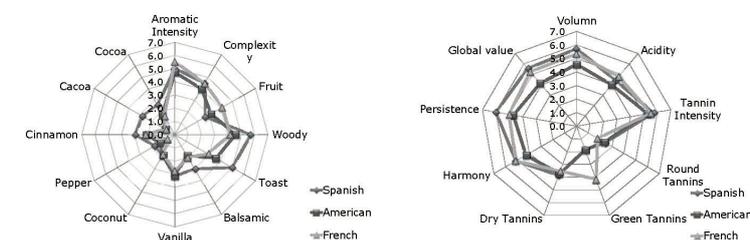
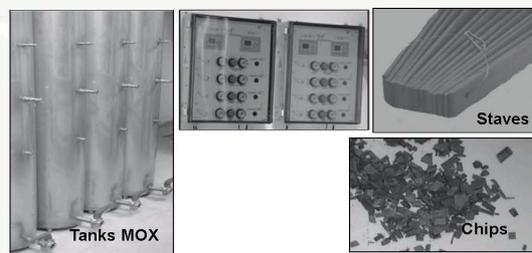


Figure 1-2: Sensorial analysis (aromatic and tasting phase) of wines aged with chips

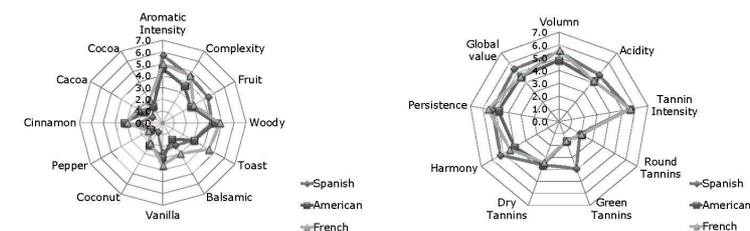


Figure 3-4: Sensorial analysis (aromatic and tasting phase) of wines aged with staves

Anthocyanins (Figure 5) experienced a decrease in its concentration along the studied periods, due to the reactions of polymerisation and condensation that took place during the aging process, this decrease was more marked because the staves usage. The wines with *Q. pyrenaica* and *Q. sessilis* present a very similar concentration. Due to the reactions that take place during the aging process new components with a yellow colour can be found, increasing in the course of time (Figure 6). Wines with chips + MOX show a more marked evolution towards the dun tonalities, among these wines those with rebollo are the most evolved. When using staves there are not differences about the origins used.

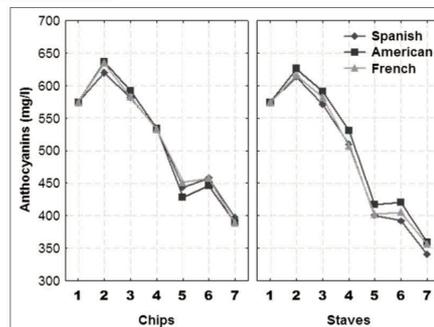


Figure 5: Evolution of anthocyanins content

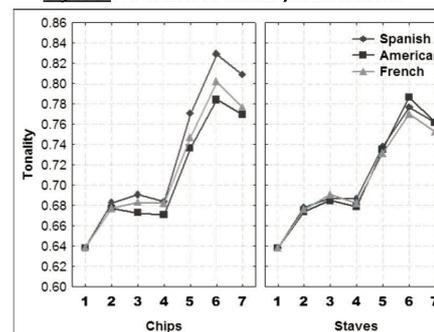


Figure 6: Evolution of tonality during studied periods

## REFERENCES:

- Del Álamo, M. and col (2002). *Vitic. Enol. Profes.* 82, 41.
- Del Álamo, M. (2006). *ACE, Revista de enología*, nº 74.
- Fernández de Simón, B. and col. (2008). *J. Agric.Food Chem.* 56,9046

ADKNOWLEGES. CESEFOR, Junta de Castilla y León (VA124/06) Tonelería INTONA and Ministerio de Educación y Ciencia (Proyecto RTA-FEDER0600078)



In Vino Analytica Scientia, Angers 2 - 4 July 2009

# EFFECTS OF DIFFERENT OAK ORIGIN ON DISSOLVED OXYGEN MANAGEMENT DURING RED WINE AGING TANK

Del Álamo<sup>1</sup>, M.; Gallego, L<sup>1</sup>; Nevares I., Fernández de Simón, B<sup>2</sup>, Cadahía, E<sup>2</sup>.

<sup>1</sup> E.T.S. Ingenierías Agrarias, Universidad de Valladolid. Avda de Madrid 44, 34071 Palencia. delalamo@qa.uva.es

<sup>2</sup> Centro de Investigación Forestal. INIA. Ctra. de La Coruña, km. 7,5. 28040 Madrid.

Universidad de Valladolid

## Introduction

The knowledge of wine DO levels allows to make a controlled micro-dosage in agreement with every moment of the phase in the accelerated aging. The oak wood origin is a very important factor which defines not only the evolution and final wine characteristics but also the oxygen management. The high resolution oxygen measurement allows the accomplishment of a floating or adaptative wine micro-oxygenation (FMOX).

This technology makes possible to carry out different profiles of oxygen micro-dosage and the winemaker have the possibility that the wine has different levels of dissolved oxygen. This form not only it is possible to carry out an "adaptative micro-oxygenation" to wine but in addition it allows to realize a dosage that answers to the size and origin of the wood with which the wine aging is realized in tank.

## Results and discuss

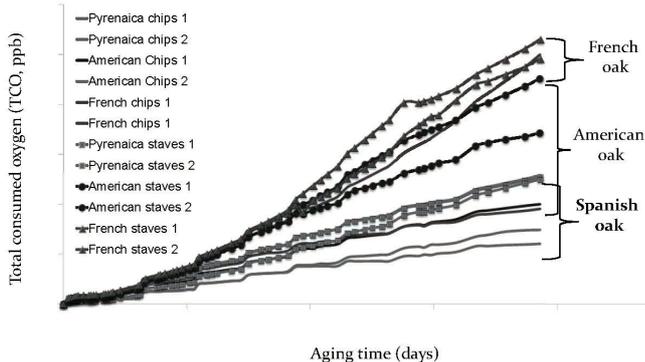


Figure 1 Graphic representation of the correlation between consumed oxygen and different parameters variations in wine aged in chips made from American, French and Spanish oak wood.

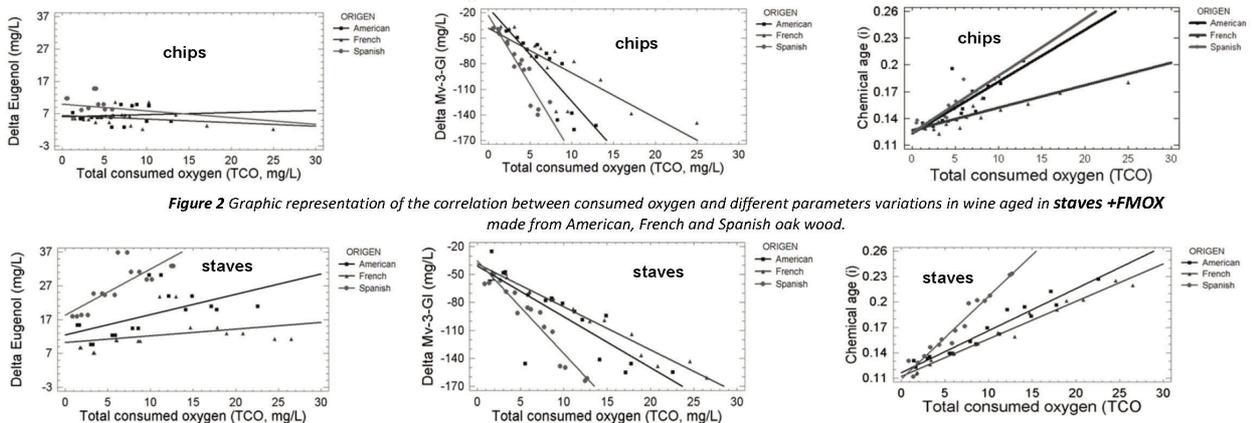
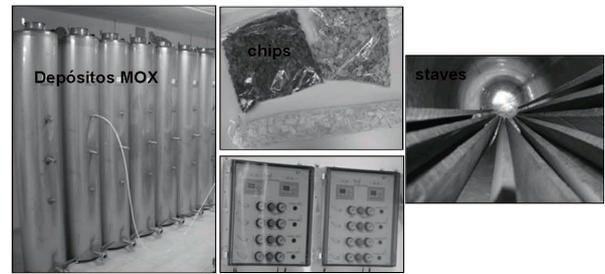


Figure 2 Graphic representation of the correlation between consumed oxygen and different parameters variations in wine aged in staves + FMOX made from American, French and Spanish oak wood.

It has been observed that the evolution of wine components presents high correlations with the consumed oxygen. The calculation of the correlations was made with the values of consumed oxygen and the variation of each parameter analyzed with regard to the initial value for each parameter monitored. Wine treated with staves+FMOX consumes more oxygen than that aged with chips+FMOX, thus, the final traits of the resulting wines are very different. According to wood origin, wines aged with French oak (chips and staves) consumed the highest oxygen levels and the lowest were presented by wines aged with oak made from Spanish oak (*Q.pyrenaica*).

## Experimental design and methods

The red wine was stored into stainless-steel 225-L tanks with oak chips and MOX; stainless-steel 225-L tanks with oak staves and MOX. The ageing systems were manufactured by the same cooperage from American oak wood (*Q.alba*), French (*Q.sessilis*) and Spanish (*Q.pyrenaica*) with medium toasting degree. The relation surface/volume of 225-L barrels was calculated in order to determine the quantity of chips and staves necessary to reproduce the same relation in 225-L stainless steel tanks.



The floating MOX (FMOX) was the strategy chosen, a DO level to be kept was set and used as set point in MOX procedure (20 µg/L). The dose was revised in each dissolved oxygen measurement and increased or decreased according to the fixed point of reference. Dissolved oxygen was measured and other wine components (phenolics, color and wood components) were analyzed during aging tank.

It has been detected that wines aged with staves need more oxygen than those treated with chips to reach the same ageing stage and oak origin. Therefore, it is essential to carry out a controlled micro-oxygenation by means of the dissolved oxygen measurement and to adjust it to each wine features in order to secure a floating micro-oxygenation fitted to the different alternative oak products formats.

## Referencies

- Nevares I. y del Álamo M. (2008) *Anal.Chim.Acta* 621(1), 68
- Nevares y col (2007) *Food Bioproc. Tech.* DOI 10.1007/s11947-008-0109-3.
- Del Álamo y col. (2006) *Vitic. Enol. Prof.* 104,27.
- Del Álamo M y col. (2004). *Food Sci.Tech.Int.* 10(4):233.

**Acknowledges:** CESEFOR, Junta de Castilla y León (VA124/06) Tonelería INTONA and Ministerio de Educación y Ciencia (Proyecto RTA-FEDER0600078)



In Vino Analytica Scientia 2009, Angers, France.