



**UNIVERSIDAD DE VALLADOLID**

ESCUELA TECNICA SUPERIOR DE INGENIERÍAS AGRARIAS  
Doctorado en Investigación en Ingeniería para el Desarrollo Agroforestal

**CRIANZA EN BARRICAS Y OTRAS ALTERNATIVAS. EFECTOS  
DE LA ADICIÓN DE ASTILLAS DE ROBLE Y OXIGENO EN LAS  
CARACTERISTICAS FENÓLICAS DE LOS VINOS TINTOS**

**SAGRARIO MERINO GARCÍA**

Palencia, 2015





---

**Universidad de Valladolid**

ESCUELA TECNICA SUPERIOR DE INGENIERÍAS AGRARIAS  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ANALÍTICA

TESIS DOCTORAL

**CRIANZA EN BARRICAS Y OTRAS ALTERNATIVAS.  
EFECTOS DE LA ADICIÓN DE ASTILLAS DE ROBLE Y  
OXIGENO EN LAS CARACTERÍSTICAS FENÓLICAS DE LOS  
VINOS TINTOS**

Presentada por SAGRARIO MERINO GARCÍA para optar al grado de doctora  
por la Universidad de Valladolid

Dirigida por:  
María del Álamo Sanza

Palencia 2015





Este trabajo se enmarca dentro de la línea de investigación del grupo UVaMOX de la Universidad de Valladolid centrada en la caracterización de los vinos tratados con productos alternativos, y ha sido posible gracias a la financiación del MCYT (Ministerio de Ciencia y Tecnología, VIN00-033, VIN03-034) y a la Consejería de Educación de la Junta de Castilla y León (VA030-01, VA03/02).



## AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer en primer lugar a todas aquellas personas que de alguna manera han hecho posible esta Tesis.

Agradezco a mi directora de Tesis Dra. María del Álamo Sanza la oportunidad que me ha brindado y la confianza que ha depositado en mí, esenciales para el desarrollo y el impulso que durante años he necesitado para que este trabajo haya sido posible.

Expresar también mi agradecimiento a todo el grupo UVaMOX y en especial al Dr. Ignacio Nevares Domínguez por el apoyo recibido durante todas las fases que ha durado este largo trabajo.

Dar mi más sincero agradecimiento a todos los compañeros que han coincidido conmigo en el Departamento de Química Analítica de Palencia: Lourdes, Rubén, Natalia G., Blanca, Joaquín, Francisco, Araceli, Ruth, Elba, Natalia M., Noelia, Silvia, Aroa, Raquel, David, Raúl, Laura, Carlos....todos ellos han aportado su trabajo y amistad.

A los amigos y compañeros que he conocido en los años de Universidad.

A mis compañeros de trabajo del Centro Integrado de Formación Profesional La Santa Espina, por su apoyo, ánimo y paciencia.

Mi especial agradecimiento a mi familia, en particular a mis padres y hermanas por su constante apoyo y esfuerzo, gracias a ellos he conseguido mis objetivos. A mi marido Miguel, le agradezco su amor, paciencia, simpatía y compartir a Inés, que ha sido mi gran motivación para terminar este trabajo.

Gracias a todos.



**ÍNDICE**



I. RESUMEN, JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS .....	2
II. PLAN DE EXPOSICIÓN .....	7
III. ANTECEDENTES.....	11
III.1. D.O. CIGALES Y D.O. TORO.....	11
III.2. CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LOS COMPUESTOS FENÓLICOS.....	12
III.2.1. Localización y asociaciones de los compuestos fenólicos en la naturaleza.....	13
III.2.2. Estructura química.....	13
III.2.3. Clasificación, propiedades químicas y localización .....	14
III.2.3.1. Compuestos fenólicos no flavonoides .....	14
III.2.3.1.1. Ácidos fenólicos.....	14
III.2.3.1.2. Estilbenos .....	16
III.2.3.1.3. Taninos hidrolizables .....	16
III.2.3.2. Compuestos fenólicos flavonoides .....	17
III.2.3.2.1. Flavonoles y flavonas.....	18
III.2.3.2.2. Flavonoles y Flavononas.....	18
III.2.3.2.3. Antocianos o antocianinas.....	18
III.2.3.2.4. Flavanoles.....	20
III.2.3.2.5. Flavanos 3-oles (monómeros flavanoles), Catequinas o Flavan-3-oles.....	20
III.2.3.2.6. Procianidinas diméricas o dímeros.....	21
III.2.3.2.7. Procianidinas oligoméricas.....	22
III.2.3.2.8. Flavanos-3, 4 dioles. Leucoantocianos. Taninos condensados.....	23
III.3. ORIGEN DE LOS COMPUESTOS FENÓLICOS DEL VINO.....	25
III.3.1. Efecto de los compuestos en la calidad organoléptica .....	31
III.4. FACTORES QUE INFLUYEN EN LA COMPOSICIÓN FENÓLICA DE LOS VINOS TINTOS. ....	33
III.4.1. Influencia de la variedad de uva .....	33
III.4.2. Influencia de la vinificación .....	33
III.4.3. Condiciones del envejecimiento de los vinos .....	35
III.5. ENVEJECIMIENTO DEL VINO EN BARRICAS DE ROBLE .....	36
III.5.1. Origen botánico y geográfico del roble .....	37
III.5.2. Procesado de la madera y fabricación de las barricas.....	39
III.5.3. Sustancias que el vino es capaz de extraer de la madera y su incidencia .....	43

III.5.4.	Incidencia organoléptica sobre el vino de las sustancias extraídas de la madera .....	46
III.6.	ENVEJECIMIENTO DEL VINO EN BOTELLA.....	47
III.7.	SISTEMAS ALTERNATIVOS AL ENVEJECIMIENTO EN BARRICA .....	48
III.7.1.	Fragmentos de roble en el vino.....	49
III.7.2.	Influencia del origen botánico y geográfico del roble .....	51
III.7.3.	Proceso de fabricación de productos alternativos a la barrica de roble.....	52
III.7.4.	Importancia de las condiciones de secado y maduración.....	52
III.7.5.	Proceso de cortado de los fragmentos para la obtención del tamaño final.....	53
III.7.6.	Proceso de tostado de la madera para la obtención de fragmentos.....	54
III.7.6.1.	Factores de variabilidad del tostado de los productos alternativos.....	56
III.7.6.2.	Características alcanzadas para cada tipo de tostado.....	57
III.7.7.	Gestión del uso de alternativos.....	58
III.7.8.	Evolución de la legislación aplicable al empleo de alternativos .....	62
III.8.	EL OXIGENO Y LA MICROOXIGENACION DE VINOS .....	62
III.8.1.	La microoxigenación de vinos.....	64
III.8.1.1.	Fundamentos de la técnica de microoxigenación .....	65
III.8.1.2.	Factores influyentes en la técnica de microoxigenación .....	66
III.8.1.3.	Acción del oxígeno en las distintas etapas de la microoxigenación.....	68
III.8.1.4.	Principales momentos de aplicación de microoxigenación .....	69
III.9.	FENÓMENOS DURANTE EL ENVEJECIMIENTO DE LOS VINOS TINTOS .....	71
III.9.1.	Cambios físico-químicos del vino en barrica.....	71
III.9.2.	Cambios de los compuestos fenólicos del vino durante el envejecimiento en barrica.....	74
III.9.2.1.	Reacciones que implican a los antocianos. Efecto sobre el color.....	74
III.9.2.2.	Fenómenos de copigmentación .....	82
III.9.2.3.	Color y copigmentación .....	83
III.9.2.4.	Factores que afectan a la copigmentación durante el envejecimiento.....	84
III.9.3.	Formación de piranoantocianos.....	85
III.9.3.1.	Factores influyentes en la formación de piranoantocianos .....	87
III.10.	MEDIDA DEL OXÍGENO DISUELTO EN VINOS .....	88
IV.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	93
IV.1.	VINOS ESTUDIADOS.....	93
IV.2.	DISEÑO DE LOS EXPERIMENTOS DE ENVEJECIMIENTO .....	94
IV.3.	GESTION Y CONTROL DE LA MICROOXIGENACIÓN DE LOS VINOS .....	98
IV.4.	ANALISIS QUIMICOS DE LOS VINOS DURANTE EL ENVEJECIMIENTO .....	99



IV.4.1.	Determinación de los parámetros enológicos básicos.....	99
IV.4.2.	Determinación de los compuestos fenólicos.....	99
IV.4.2.1.	Fenoles totales .....	100
IV.4.2.2.	Polifenoles poco y muy polimerizados.....	101
IV.4.2.3.	Catequinas.....	102
IV.4.2.4.	Taninos condensados o proantocianidinas.....	103
IV.4.3.	Indicadores de la naturaleza de los antocianos y taninos.....	104
IV.4.3.1.	Índice de Ionización .....	104
IV.4.3.2.	Índice de Etanol .....	105
IV.4.3.3.	Índice de Clorhídrico (HCl) .....	106
IV.4.3.4.	Índice de Gelatina.....	106
IV.4.4.	Edad química: potencial de envejecimiento.....	107
IV.4.5.	Copigmentación.....	108
IV.4.1.	Determinación de los parámetros cromáticos del vino .....	110
IV.4.1.1.	Método de Glories .....	110
IV.4.1.2.	Método CIELab.....	111
IV.4.2.	Compuestos fenólicos de bajo peso molecular y antocianos monómeros y acilados.....	113
IV.4.2.1.	Compuestos fenólicos de bajo peso molecular (HPLC).....	113
IV.4.2.2.	Antocianos monoméricos y sus derivados (HPLC).....	115
IV.5.	ANÁLISIS SENSORIAL DE LOS VINOS.....	118
IV.6.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	122
V.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	127
V.1.	CAPÍTULO 1: IMPORTANCIA DEL SISTEMA DE ENVEJECIMIENTO (BARRICAS, ASTILLAS Y TABLONES DE ROBLE AMERICANO, FRANCÉS Y HÚNGARO) EN LA COMPOSICIÓN ANTOCIÁNICA Y COLOR DE LOS VINOS TINTOS. EVOLUCIÓN EN MADERA Y EN BOTELLA.....	129
V.1.1.	Resumen .....	129
V.1.2.	Vino estudiado .....	130
V.1.3.	Parámetros enológicos básicos del vino.....	130
V.1.4.	Compuestos fenólicos, parámetros de color y edad química en el vino.....	140
V.1.4.1.	Compuestos fenólicos en el vino .....	143
V.1.4.2.	Parámetros de color .....	146
V.1.4.3.	Edad química.....	157
V.1.5.	Antocianos monómeros y acilados en el vino.....	161
V.1.6.	Compuestos fenólicos de bajo peso molecular en el vino.....	173

V.1.7.	Parámetros de copigmentación .....	181
V.1.8.	Análisis sensorial de los vinos .....	184
V.1.8.1.	Estudio del efecto del envejecimiento del vino en distintos sistemas y orígenes de madera .....	184
V.1.8.2.	Análisis multivariante de los vinos sometidos a envejecimiento en distintos sistemas y madera de diferentes orígenes.....	189
V.1.9.	Conclusiones del capítulo 1 .....	198
V.2.	CAPÍTULO 2: EFECTO DE LA DOSIFICACIÓN DE OXÍGENO Y DE LA ADICION DE ASTILLAS DE ROBLE FRANCES EN LAS CARACTERÍSTICAS FENÓLICAS DE LOS VINOS TINTOS ELABORADOS CON LA VARIEDAD TEMPRANILLO. ....	203
V.2.1.	Resumen.....	203
V.2.2.	Vinos estudiados.....	204
V.2.3.	Parámetros enológicos básicos de los vinos .....	204
V.2.4.	Compuestos fenólicos, parámetros de color y edad química de los vinos.....	209
V.2.5.	Antocianos monómeros y acilados en los vinos .....	217
V.2.6.	Formación de nuevos pigmentos en los vinos. ....	223
V.2.7.	Compuestos fenólicos de bajo peso molecular en vinos. ....	226
V.2.8.	Análisis sensorial de los vinos .....	232
V.2.8.1.	Estudio del efecto de la microoxigenación en los vinos .....	232
V.2.8.2.	Análisis multivariante de los vinos sometidos a microoxigenación .....	236
V.2.9.	Conclusiones del capítulo 2 .....	239
V.3.	CAPÍTULO 3: EFECTO DEL TIPO DE TOSTADO Y MOMENTO DE ADICION DE LAS ASTILLAS JUNTO A MICROOXIGENACIÓN EN LAS CARACTERÍSTICAS FENÓLICAS DE LOS VINOS TINTOS. ....	243
V.3.1.	Resumen.....	243
V.3.2.	Vino estudiado .....	244
V.3.3.	Parámetros enológicos básicos del vino.....	245
V.3.4.	Compuestos fenólicos y parámetros de color del vino.....	251
V.3.5.	Índices, edad química y parámetros de copigmentación en el vino .....	262
V.3.6.	Compuestos fenólicos de bajo peso molecular en el vino. ....	271
V.3.7.	Antocianos monómeros y acilados en el vino. ....	280
V.3.8.	Análisis sensorial de los vinos .....	285
V.3.8.1.	Estudio del efecto del envejecimiento del vino en distintos sistemas y tostados de madera .....	285
V.3.8.2.	Análisis multivariante de los vinos tratados con astillas de diferentes tostados y añadidas en diferentes momentos.....	297
V.3.9.	Conclusiones del capítulo 3 .....	307

VI.	CONCLUSIONES GLOBALES DE LA TESIS DOCTORAL .....	312
VII.	BIBLIOGRAFIA.....	318
VIII.	TABLAS DE CONTENIDOS .....	346
VIII.1.	Indice de gráficas.....	346
VIII.2.	Indice de figuras .....	355
VIII.3.	Indice de tablas.....	356
IX.	DIFUSION DE RESULTADOS .....	362



## **I. RESUMEN, JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS**

## **I. RESUMEN, JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS**

Esta tesis se ha realizado en la Escuela de Ingenierías Agrarias de Palencia y se enmarca dentro de la línea de investigación del grupo UVaMOX con el principal objetivo de mejorar la calidad de vinos tintos de Castilla y León mediante el empleo de nuevas prácticas enológicas como la microoxigenación y la permanencia de los vinos en contacto con diferentes maderas de roble (tamaño, origen y tostado). Se ha centrado especialmente en su efecto sobre la mejora del color y la estructura de los vinos a lo largo de su período de crianza en madera y su estancia en botella, a fin de mejorar la estabilidad y por consiguiente, la vida útil de los vinos.

Entre los parámetros que definen la calidad de un vino se encuentran aspectos como el color y la estructura, ya que sensorialmente son atributos evaluados en la degustación, convirtiéndose en parámetros fundamentales en la valoración final del vino. Estos criterios han propiciado un aumento espectacular de la investigación en este campo para conocer los compuestos responsables de tales mejoras organolépticas, y así dominar los factores que condicionan el color y la estructura de los vinos. Ésto ha conducido al desarrollo de nuevas prácticas enológicas que permiten obtener vinos con mayor contenido en compuestos responsables de la estabilidad del color y del aumento de la estructura para lograr así vinos con una larga longevidad.

Los estudios realizados a lo largo de los últimos diez años, ponen de manifiesto que los compuestos fenólicos son los principales responsables de las características cromáticas y estructurantes de un vino tinto, participando en procesos de hidrólisis, condensación, polimerización y copigmentación, procesos vinculados a la calidad de los vinos. En estas reacciones juega un papel fundamental la incorporación de sustancias fenólicas provenientes de la madera y el aporte de oxígeno, procesos habituales ocurridos en un vino durante su estancia en bodega. Sin embargo, cuando se pretende simular la permanencia de un vino en bodega, es fundamental conocer las sustancias que entran en juego en el proceso y la cantidad de oxígeno necesario, porque de lo contrario el efecto puede ser negativo sobre las características sensoriales del vino final, debido a un aumento excesivo de sustancias aportadas por la madera o por potenciar fenómenos de degradación oxidativa.

La coexistencia en el mercado de vinos criados en bodega y de vinos tratados con trozos de madera y aportes de oxígeno ha sido autorizada por la Unión Europea en el reglamento (CE) N° 2165/2005 de 20 de Diciembre de 2005 donde se regula la utilización de trozos de madera de roble en la elaboración de vinos, y en el reglamento (CE) N° 1507/2006 del 11 de Octubre de 2006 donde se definen las normas para la utilización de trozos de madera en la elaboración de vinos y las condiciones de etiquetados de los mismos. La aparición en el mercado de estos sistemas de envejecimiento hace que sea necesario estudiar su evolución y aportación a los vinos para conocer la influencia del sistema empleado sobre las diferentes características del mismo.

Por todo ello, el objetivo principal de esta Tesis Doctoral ha sido estudiar las características de los vinos tintos y sus modificaciones cuando son sometidos a envejecimiento alternativo (productos de roble y dosis de oxígeno) frente al tradicional envejecimiento en barricas de roble, analizándose vinos elaborados de variedad Tinto del País y Tinta de Toro.

Para lograr este objetivo principal se han establecido una serie de objetivos parciales entre los que destacan:

- Estudiar la influencia del tipo de madera (tamaño de los trozos y origen geográfico con o sin aporte de oxígeno) en los componentes fenólicos de varios vinos tintos de la variedad Tempranillo; principal en Castilla y León.
- Supervisar la variación de algunas características cualitativas y cuantitativas de vinos tintos envejecidos en distintos sistemas<sup>1</sup>, frente al empleo de barricas.
- Evaluar las diferencias fenólicas y organolépticas existentes en el vino envejecido bajo los distintos sistemas, centrados en el control de las diferentes astillas empleadas.
- Se pretenden encontrar las variables analíticas que permitan diferenciar a los vinos envejecidos en sistemas alternativos frente a barricas y también definir, de entre los sistemas de envejecimiento alternativo estudiados, el que mejor permite alcanzar las características propias de un vino envejecido en barrica, pero en un tiempo menor y con menores costes.

La consecución de estos objetivos continuó mediante el estudio de la evolución de los vinos durante su estancia en botella.

---

<sup>1</sup> Entendiendo como sistema de envejecimiento a aquel que se lleva a cabo en depósitos de acero inoxidable con trozos de madera (astillas o tablones) con o sin oxígeno.





## **II. PLAN DE EXPOSICIÓN**



## II. PLAN DE EXPOSICIÓN

Esta Tesis Doctoral se plantea bajo el formato de capítulos independientes que abordarán aspectos importantes del envejecimiento de vinos tintos con sistemas alternativos a la bodega de roble. De manera general para enlazar todos los capítulos se incluye una introducción que sitúa el estado del conocimiento, analizando en profundidad los estudios de otros investigadores y justificando la experimentación realizada. También se incluye una descripción de los experimentos desarrollados, con una breve exposición de las conclusiones y la bibliografía consultada. Cada capítulo recoge la presentación y discusión de los resultados más relevantes, y al final se muestran los artículos publicados y la participación en congresos fruto de este trabajo.

**CAPÍTULO 1:** Importancia del sistema de envejecimiento (barricas, astillas y tabloncillos de roble americano, francés y húngaro) en la composición antocianica y color de los vinos tintos. Evolución en madera y en botella. Capítulo centrado en la evaluación del efecto del tamaño del producto y su origen en las propiedades del vino tinto de la DO Cigales, en comparación con el mismo vino envejecido en barricas fabricadas con las mismas maderas que los alternativos.

**CAPÍTULO 2:** Efecto de la dosificación de oxígeno en las características fenólicas de los vinos elaborados con la variedad tempranillo y tratados con astillas de roble francés. Capítulo centrado en el análisis del efecto de la adición o no de oxígeno en las propiedades de los vinos tintos tratados con astillas de roble francés y tostado medio.

**CAPÍTULO 3:** Efecto del tipo de tostado y momento de adición de las astillas junto a microoxigenación en las características fenólicas de los vinos tintos. Capítulo centrado en evaluar la importancia de la gestión de la adición de las astillas al vino, tanto en la elección de la mezcla de astillas de diferentes tostados para conseguir un tipo de tostado como el momento de la adición al vino, su efecto en las propiedades de los vinos tintos tratados con astillas y microoxigenación.

La parte experimental se ha desarrollado en la E.T.S. Ingenierías Agrarias, concretamente en la sala de crianza en la que se han envejecido vinos tintos de diferentes denominaciones de origen de Castilla y León bajo diversas condiciones. Se han empleado sistemas alternativos de envejecimiento (trozos de madera de diferentes orígenes geográficos, tamaños y tostados), en algunos casos se ha añadido oxígeno y en otros no, pero todos ellos se han comparado con el envejecimiento tradicional de cada vino en barricas de diferentes orígenes geográficos y tostados. El montaje y control de los sistemas de envejecimiento ha sido posible gracias a la colaboración del profesor Ignacio Navares del departamento de Ingeniería Agrícola y Forestal. El seguimiento y análisis de los vinos se ha llevado a cabo en el Departamento de Química Analítica de la misma Escuela perteneciente a la Universidad de Valladolid.



### **III. ANTECEDENTES**



### III. ANTECEDENTES

Actualmente, los criterios de calidad buscados por el consumidor y los expertos vitivinícolas han llevado a los vinos tintos a un profundo cambio demandándose vinos con más color, cuerpo y estructura. Ello implica cambios en el proceso de elaboración y envejecimiento de los vinos, realizando nuevos procesos con el conocimiento de las reacciones químicas que tienen lugar durante la conservación del vino. Lo fundamental es ser capaz de adaptar el producto a cambios que permitan elaborar vinos con menor coste y máxima calidad, más competitivos en épocas de crisis económica en las que el consumidor es más exigente con la calidad y el precio del producto adquirido.

#### III.1. D.O. CIGALES Y D.O. TORO

Los vinos estudiados en el proceso de envejecimiento y conservación procedieron de la DO Cigales y la DO Toro. El Reglamento que dio origen a la Denominación de Origen Cigales fue aprobado en 1991. Esta denominación se localiza a ambos márgenes del río Pisuerga. Con una altitud media de 750 metros y comprende desde parte del término municipal del Pago El Berrocal (Valladolid), hasta el palentino de Dueñas. Presenta un clima continental con influencia atlántica, con fuertes oscilaciones térmicas, tanto durante el día como a lo largo del año. Caracterizado por su irregularidad pluviométrica y su fuerte sequía estival. Los inviernos son prolongados con heladas y nieblas frecuentes y predominio de vientos Poniente y Abrego. La precipitación media anual es de aproximadamente 400 mm. El suelo tiene una estructura granular débil, de fina a media, con escasa pedregosidad y carente de materia orgánica (0,7-1,6 %). Apoyándose sobre arcillas, margas y a veces arenas y gravas, con contenido en caliza muy variable. La principal variedad tinta presente en la Denominación es la denominada Tinto del País o Tempranillo que alcanza el 83 % del total de producción, empleada tanto para la elaboración de vinos tintos como para la elaboración de rosados de calidad, estos segundos han llevado a la fama a esta Denominación por su potencial aromático y color. La variedad Garnacha ocupa un 10,5 % del volumen total, seguida de Verdejo con un 2 %, y Albillo con un 1 %. El 3,5 % restante corresponde a una mezcla de variedades.

La ORDEN AYG/1197/2011, de 22 de septiembre de 2011, por la que se aprueba el último Reglamento de la denominación de origen Cigales y de su Consejo Regulador ha determinado el método de envejecimiento de los vinos así como los tiempos reconocidos para las diferentes menciones, estableciendo que los vinos deberán envejecerse en barricas de madera de roble con capacidad máxima de 330 L. Pudiendo emplearse la mención Crianza para vinos con un mínimo de 6 meses en barrica y un tiempo total mínimo de 24 meses de envejecimiento. Para la mención Reserva deberán permanecer los vinos un tiempo mínimo de 12 meses en barrica con un período de 36 meses como mínimo de envejecimiento total y se permite emplear la mención Gran Reserva cuando el vino permanece un tiempo mínimo de 24 meses en barrica, siendo su estancia mínima total entre barrica y botella de 60 meses.

La denominación de origen Toro fue reconocida como tal en 1987. Se encuentra situada al sudeste de la provincia de Zamora, y comprende parte de las comarcas naturales de Tierra del Vino, Valle del Guareña y Tierra de Toro y linda con los páramos de Tierra del Pan y Tierra de Campos. Está caracterizada por un clima continental extremo con influencias atlánticas, de carácter árido. Las precipitaciones anuales son escasas oscilando entre los 350 y 400 mm. Estas condiciones climáticas, junto con el extremado frío en invierno, el gran número de horas de sol, impregnan el carácter de la zona en los vinos. El efecto de 4 ríos (Río Duero, el más importante, Río Guareña, Río Talanda y Río Hornija) ha producido un terreno suavemente ondulado con pendientes muy ligeras, oscilando la altitud entre 620 y 750 metros y sin problemas de orientación en las altiplanicies donde se asientan las plantaciones. El suelo está formado por sedimentos de areniscas, arcillas y pudingas calizas pliocénicas, que en superficie originan suelos pardos calizos sobre material no consolidado. Son suelos arenosos y ligeros aumentando en profundidad el contenido en elementos finos, fáciles de trabajar, calientes (buen drenaje), bien aireados y que ayudan a adelantar la madurez. La estructura de estos suelos permite fácilmente la penetración en profundidad de las raíces, compensando la escasez de precipitaciones. La variedad autóctona es la denominada Tinta de Toro, cuyas características ampeleográficas se asemejan al Tempranillo o Tinto Fino, pero que enclavada en la zona desde hace varios siglos, la identifican como una variedad propia y diferente a sus semejantes.

El Consejo Regulador ha establecido unos tiempos de envejecimiento en bodega de roble de 6 meses para los vinos amparados bajo el concepto de Crianza, completando su envejecimiento en botella hasta los 24 meses, de 12 meses en bodega de roble y un total de 36 meses para la mención Reserva y de 18 meses de envejecimiento en bodega de roble y un total de 60 meses para el concepto de Gran Reserva. La escasa permanencia de los vinos en bodega para la mención Crianza ha sido motivada por la gran concentración en componentes como el color y la estructura que presentan los vinos elaborados con la variedad Tinta de Toro, permitiendo acortar los tiempos de permanencia en bodega y prolongando el tiempo en botella hasta un tiempo global establecido para todas las denominaciones de origen de Castilla y León. Esta teoría ha sido abalada por la mayoría de los elaboradores para suavizar el efecto astringente de los vinos, ayudado por los fenómenos de condensación y polimerización de los taninos en un medio reductor, como es la botella.

Hay que destacar que ambas denominaciones, Cigales y Toro, no han contemplado en sus reglamentos el empleo de sistemas alternativos al envejecimiento de los vinos, en los que no participe como envase la bodega de roble, aunque tampoco han mencionado cómo gestionar su empleo.

### **III.2. CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LOS COMPUESTOS FENÓLICOS**

Los compuestos fenólicos son de particular importancia en las características y calidad del vino tinto, permitiendo dar respuestas a los procesos que se dan en el envejecimiento de los vinos considerándose esenciales en la evolución de los mismos. Por ello, el estudio de estos compuestos, unido al desarrollo de técnicas precisas, han permitido su identificación, cuantificación y evolución, pero antes de determinar las características de dichos compuestos, a continuación se ha establecido una breve clasificación de los



mismos, así como su estructura química y las posibles interacciones que surgen a lo largo de su evolución.

### III.2.1. Localización y asociaciones de los compuestos fenólicos en la naturaleza

La forma más frecuente de encontrar los compuestos fenólicos en los vegetales es en forma de monómeros, oligómeros y polímeros, mientras que su presencia en tejidos animales está relacionada con el consumo e ingestión de alimentos vegetales (Andary, C. et al., 1997). Las principales funciones de estos compuestos en las células vegetales son, por una parte, la de actuar como metabolitos esenciales para el crecimiento y reproducción de las plantas y, por otra, como agentes protectores frente a la acción de patógenos, siendo secretados como mecanismo de defensa (Butler, L.G., 1992).

Los polifenoles se han encontrado en las plantas en forma conjugada con uno o más residuos de azúcar unidos a los grupos hidroxilos, aunque en algunos casos se han podido producir uniones directas entre una molécula de azúcar y un carbono aromático. Por ello, la forma más común de encontrarlos en la naturaleza ha sido en forma de glucósidos, siendo solubles en agua y solventes orgánicos (Shahidi, F. et al., 1995). Los azúcares asociados a los polifenoles pueden ser monosacáridos, disacáridos o incluso oligosacáridos. Destacando uniones con glucosa, galactosa, arabinosa, ramnosa, xilosa y ácidos glucurónico y galacturónico. También pueden encontrarse unidos a ácidos carboxílicos, ácidos orgánicos, aminas, lípidos y a otros compuestos fenólicos. (Bravo, L., 1998).

### III.2.2. Estructura química

Desde el punto de vista químico, los compuestos fenólicos son sustancias que poseen un anillo benceno con uno o más grupos hidroxilos (-OH) y una cadena lateral funcional (-R), que incluye derivados como ésteres, metilésteres, glucósidos, etc (Tsimidou, M., 1998) que resultan de las sustituciones de la estructura base (Flanzy, C., 2000) figura 1.

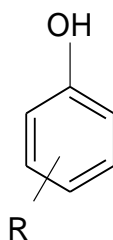


Figura 1: Estructura básica de los compuestos fenólicos (Sánchez, M., 2007)

La naturaleza de estos compuestos varía desde moléculas simples, como los ácidos fenólicos, hasta compuestos altamente polimerizados, como los taninos. En su mayoría son potentes antioxidantes debido a su estructura química, ya que son excelentes donadores de protones o electrones (Kinsella, J.E., 1993).

### III.2.3. Clasificación, propiedades químicas y localización

Su clasificación incluye tanto a los compuestos originales de la uva, que persisten en el vino, como a nuevos compuestos generados como resultado del proceso de vinificación y envejecimiento en bodega y botella. Existen diversas clasificaciones, pero la más habitual es la que designa a los compuestos por su estructura. En esta tesis se ha optado por seguir la clasificación adoptada por Frankel, E.N. et al. (1996) y Hertog, L. et al. (1993), basada en la distinción entre compuestos no flavonoides y flavonoides, constituida cada una de ellas por diferentes subfamilias de compuestos. Así entre los **compuestos fenólicos no flavonoides** se han clasificado los ácidos fenólicos, los estilbenos y los taninos hidrolizables. Para el grupo de los **compuestos fenólicos flavonoides** la clasificación se hace más compleja en función del número de unidades flavanol elementales, pudiendo clasificarse en flavonoles, flavanoles, flavonas, antocianos o antocianidinas, flavanoles, flavan-3-oles o catequinas, procianidinas diméricas, oligoméricas o poliméricas (taninos condensados).

#### III.2.3.1. Compuestos fenólicos no flavonoides

El grupo de compuestos no flavonoides abarca a los ácidos fenólicos, pero también a otros derivados como los estilbenos y los taninos hidrolizables. Suelen formar combinaciones de tipo éster o éter, y a lo largo del proceso de maduración de la uva, elaboración y conservación del vino sufren fenómenos de hidrólisis, por lo que se pueden encontrar tanto en estado libre como combinado (Gil, M. et al., 1997)

##### III.2.3.1.1. Ácidos fenólicos

La estructura básica de los ácidos fenólicos es un anillo aromático con un grupo carboxílico sustituido en las dos posiciones, meta- (respecto al grupo ácido) y en posición para- (figura 2). Se distinguen dos familias distintas de ácidos fenólicos, la serie benzoica (si el grupo carboxílico está directamente enlazado al anillo aromático) y la serie cinámica (si el grupo carboxílico está enlazado a él a partir de un sustituyente 2-propanilo).



Figura 2: Estructura química de los ácidos fenólicos

En el caso de los ácidos benzoicos, sus combinaciones son poco frecuentes, al contrario de lo que ocurre con los ácidos cinámicos, que se han encontrado combinados con otras moléculas, hidroxiácidos, azúcares y otros compuestos fenólicos (como antocianos y otros flavonoides) formando heterósidos (Peña-Neira, A., 1998). Los ácidos fenólicos son importantes desde el punto de vista del color, ya que éstos pueden oxidarse y como consecuencia pardear el vino. Además, estos compuestos pueden participar como copigmentos (Brouillard, R. et al, 1991; Darias-Martín, J. et al, 2001), y por tanto contribuir

al fenómeno de la copigmentación. Estos ácidos se pueden encontrar en el vino bajo formas esterificadas, combinaciones heterosídicas y libres, como consecuencia de la hidrólisis de sus formas esterificadas durante la vinificación (Cheynier, V. et al, 2003) o como consecuencia de la degradación de las antocianinas bajo la acción del calor (Galvin, C., 1993).

Como ya se ha indicado anteriormente, los derivados del ácido benzoico son fenoles sencillos con un grupo carboxilo como sustituyente. Se conocen siete ácidos benzoicos (figura 3), entre éstos los principales son el gálico, p-hidroxibenzoico, protocatéquico, vanilínico, siríngico, salicílico y gentísico. Según Alonso, M. (1995), el ácido p-hidroxibenzoico, vanilínico, siríngico y gentísico pueden derivar de los ácidos gálico, protocatéquico y salicílico, así por ejemplo, el ácido vanilínico puede derivar del ácido protocatéquico por acción de una ortometiltransferasa.

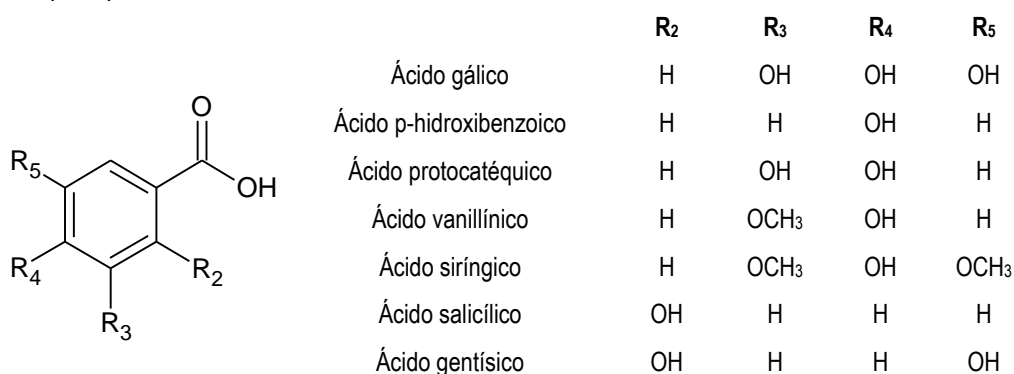


Figura 3: Estructura química de los ácidos benzoicos

A diferencia de los anteriores los derivados del ácido cinámico son portadores de una cadena lateral insaturada. Se pueden presentar en las dos formas isómeras cis y trans, debido al doble enlace que poseen en esa cadena lateral (Peña-Neira, A., 1998). Las formas cis son susceptibles de ciclarse para dar cumarinas, mientras que los isómeros trans son más estables, por esta razón aparecen en la naturaleza en mayor proporción (Flanzy, C., 2000). Raramente se encuentran libres, ya que por regla general se hallan presentes en forma de derivados. Normalmente se encuentran esterificados con azúcares, ácidos orgánicos, diferentes alcoholes (Sánchez, C., 2001), antocianos y ácido tartárico. Así por ejemplo, el ácido caféico se encuentra esterificado con el ácido quínico dando lugar a los ácidos clorogénico, isoclorogénico, neoclorogénico y criptoclorogénico (Belitz, D. et al., 1988). Las cumarinas y las isocumarinas se encuentran generalmente en forma de glicósido (Bravo, L., 1998), los ácidos p-cumárico y caféico, están muy implicados en la acilación de los sustitutos glucósidos de los antocianos (Flanzy, C., 2000), mientras que los cromonoles son menos conocidos y se forman a partir de las antocianidinas ante incrementos del pH del medio (Belitz, D. et al., 1988). Los ácidos cinámicos más conocidos son p-cumárico, caféico, ferúlico y sinápico, mostrados en la figura 4.

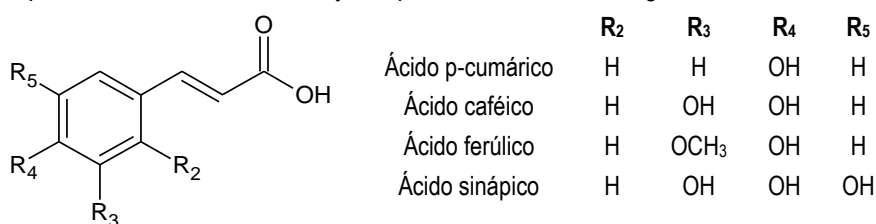


Figura 4: Estructura química de los ácidos cinámicos

### III.2.3.1.2. Estilbenos

Se han descrito unas 200 estructuras diferentes de estilbenos. Estas estructuras se encuentran en gran número de especies vegetales, localizándose principalmente en la médula del tronco de especies arbóreas. En las uvas se encuentran mayoritariamente en la piel y pepitas de las mismas. Están formados por dos anillos bencénicos unidos por una cadena etanol o eventualmente etileno. La forma molecular más extendida de este grupo es el resveratrol, muy característico de las familias *Pinaceae* y *Vitaceae* y cuya estructura se representa en la figura 5, junto con el resto de los compuestos estilbenos conocidos en estas familias.

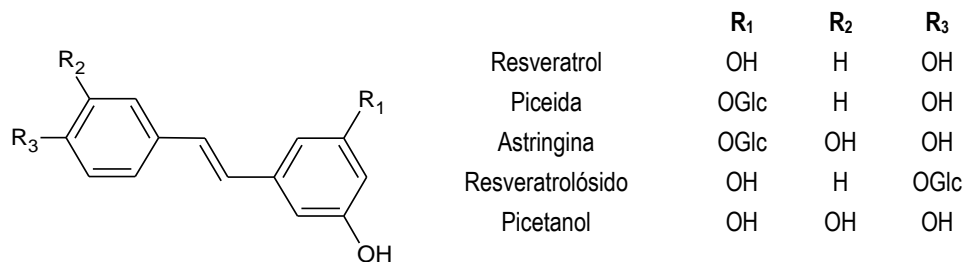


Figura 5: Estructura química de los estilbenos

### III.2.3.1.3. Taninos hidrolizables

El estudio de este grupo ha tenido un gran avance en química y bioquímica desde 1989 con los trabajos de los grupos de Haslam, E. (1989) de manera que hoy se han elucidado las estructuras de más de 750 nuevos taninos hidrolizables (figura 6). Su obtención es mayoritariamente de la madera de roble.

Se caracterizan por la acumulación, en una misma molécula de tamaño moderado, de un número substancial de grupos fenólicos, algunos de los cuales están asociados con orientación O-dihidroxi o O-trihidroxi dentro del anillo fenólico (Haslam, E., 1989). Tienen como núcleo central un alcohol polihídrico como la glucosa y grupos hidroxilo que se encuentran esterificados parcial o completamente, bien con el ácido gálico o bien con el ácido elágico, formando galotaninos y elagitaninos, respectivamente. Tras la hidrólisis con ácidos, bases o ciertas enzimas, los galotaninos proporcionan glucosa, ácido gálico (Chung, K.T. et al., 1998), y ácido elágico. Los taninos elágicos o elagitaninos son ésteres del ácido hexahidroxidifénico y un poliol, generalmente glucosa. Se llama así porque tras hidrólisis en medio ácido y alcalino produce ácido elágico, insoluble en agua.

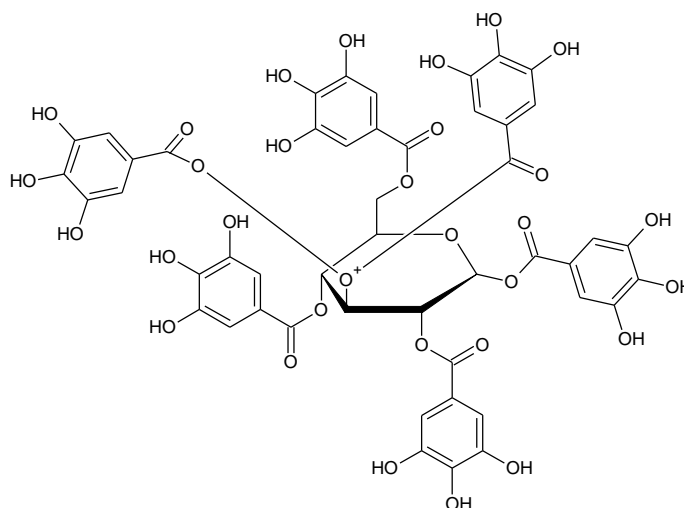


Figura 6: Estructura química de los taninos hidrolizables

### III.2.3.2. Compuestos fenólicos flavonoides

Se puede considerar como el grupo más importante en las características del color de un vino. Los flavonoides están caracterizados por un esqueleto a base de 15 átomos de carbono (C6-C3-C6) con 2 anillos aromáticos (A y B) unidos por una cadena de 3 átomos de carbono que forman parte, junto con un átomo de oxígeno, de un anillo heterocíclico C (pirano heterocíclico), condensado con el anillo A (Kovac, V. et al., 1994), que pueden poseer varios grupos hidroxilo (OH) unidos a esta estructura de anillos (figura 7).

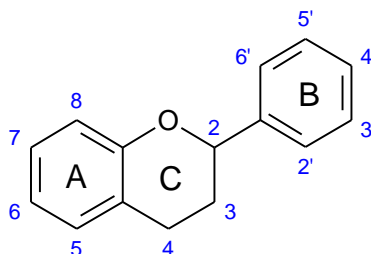


Figura 7: Esqueleto común del difenilpirano de los flavonoides (Sánchez, M., 2007)

Se han descrito más de 4000 flavonoides (C6-C3-C6) diferentes ubicados en el metabolismo secundario de las plantas que se clasifican en varias familias según cambios en su estructura básica. Se distinguen por el grado de oxidación de su núcleo primario (C3), (Merken, H.M., 2000) pudiendo ser divididos en las siguientes subclases: flavonoles y flavonas, flavonoles y flavononas, antocianos o antocianinas y flavanoles los cuales se pueden subdividir en catequinas, procianidinas dimeras, oligoméricas y leucoantocianos. Dentro de cada familia los compuestos se diferencian por el número y la localización de los grupos hidroxilos y metoxilos presentes en el anillo B. Además, estas estructuras básicas pueden presentar O-glicosilación, y estos glicósidos a su vez pueden encontrarse acilados o no.

### III.2.3.2.1. Flavonoles y flavonas.

Estos compuestos pueden ser identificados claramente por la existencia de un grupo carbonilo en C4. El estado de oxidación, la sustitución del anillo heterocíclico y la posición del anillo B son importantes para clasificar los compuestos que pertenecen a este grupo (García, B., 2005) (figura 8). Los flavonoles se pueden encontrar libres o esterificados con glucosa. Sin embargo, la mayoría de estos compuestos se encuentran como C-glicosilados en posición 6 u 8. A su vez, los azúcares pueden ser sustituidos por residuos acilo (malonato, 4-cumarato, cafeoato, ferulato) (García, B., 2005).

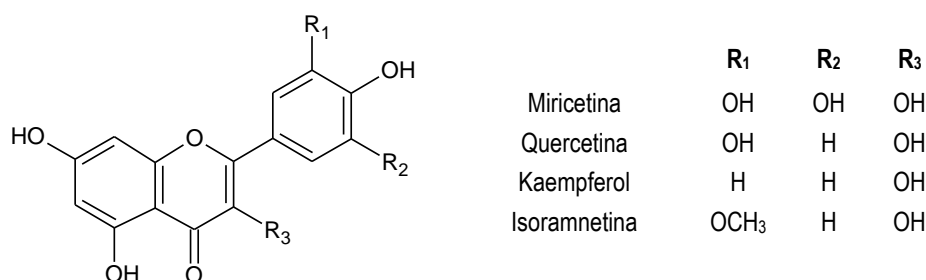


Figura 8: Estructura química de los flavonoles y flavonas

### III.2.3.2.2. Flavononoles y Flavononas.

Estos compuestos presentan una estructura muy similar a la de los flavonoles (Cheynier V., 2000b), únicamente difieren en su estructura química en el doble enlace que no poseen los flavononoles y flavononas en el heterociclo. Según el grado de oxidación de la molécula pueden distinguirse diferentes tipos de compuestos, entre los cuales puede haber interconversión (figura 9).

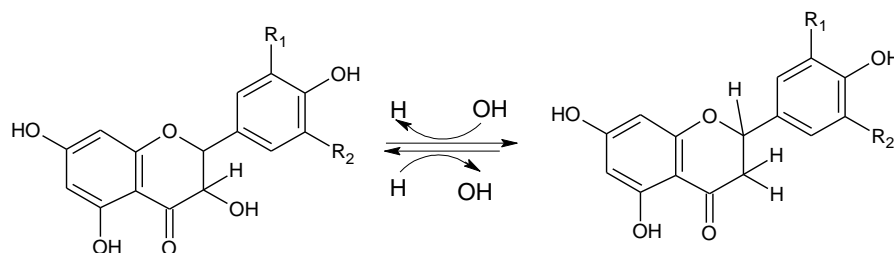


Figura 9: Interconversión entre un flavonol y una flavonona

### III.2.3.2.3. Antocianos o antocianinas

La diferencia principal entre los antocianos y los flavonoles es que los primeros no poseen ningún grupo carbonilo en posición C4. Su estructura corresponde a dos ciclos bencénicos unidos por un heterociclo oxigenado, insaturado y catiónico (el catión flavilium) que deriva del núcleo 2-fenil-benzopropilo (Ribéreau-Gayon, P. et al., 1998). La estructura básica de los antocianos se ha presentado en la figura 10, donde también se han indicado los diferentes nombres que reciben estos compuestos según sean las sustituciones R<sub>1</sub> y R<sub>2</sub>. Los antocianos se diferencian entre sí por sus niveles de hidroxilación, y de metilación, por la naturaleza, el número y la posición de las osas unidas a la molécula, así como de los

ácidos que esterifican los azúcares (Flanzy, C. 2000). Esa esterificación de los azúcares es en su posición 6 y los diferentes ácidos son principalmente ácido acético, p-cumárico, y caféico (Cheynier, V., 2000b). También pueden encontrarse estructuras que estén esterificadas en otros carbonos diferentes al C3, y combinarse con los taninos (Escribano, M. T., 1993). Estos compuestos son pigmentos vegetales que representan una parte importante de los flavonoides de la uva tinta. Son responsables del color rojo azulado del hollejo de las uvas tintas y por tanto contribuyen de manera importante al color del vino tinto (Ribéreau-Gayón, P., 1964; Glories, Y., 1984a).

Bajo la forma heterosídica (antocianina) estas moléculas son más estables que bajo su forma aglicona (antocianidina) (Ribéreau-Gayon, P. et al., 1998).

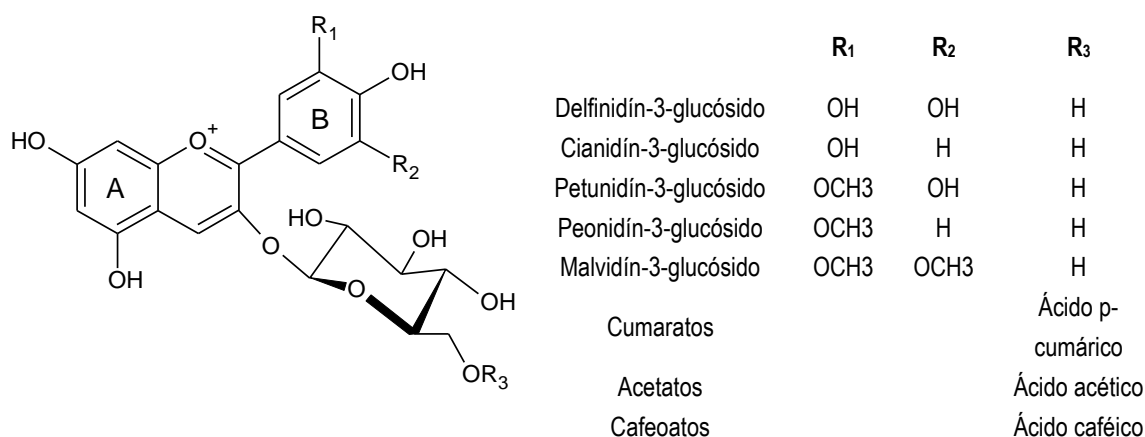


Figura 10: Estructura química de los antocianos.

En las uvas de *Vitis vinifera* y en los vinos correspondientes, se han identificado antocianos monoglucósidos y acilados, por medio de la esterificación de la glucosa con el ácido p-cumárico, con el ácido caféico y con el ácido acético (González, M. L. et al., 1990; Mazza, G. et al., 1993) (figura 10). Además, se ha continuado con la identificación de nuevos pigmentos derivados de las reacciones de condensación, polimerización y cicloadición de los antocianos con otros compuestos (Bakker, J. et al., 1997a; Revilla, I. et al., 1999b; Mateus, N. et al., 2001; Atanasova, H. et al., 2002; Vivar-Quintana, A. M. et al., 2002; Wang, H. B. et al., 2003).

El color de los compuestos antociánicos depende principalmente de parámetros exógenos como el pH, el nivel de SO<sub>2</sub>, la temperatura, la presencia de iones metálicos, los niveles de oxígeno, o los de ácido ascórbico; así como de otros intrínsecos como el azúcar unido a la aglicona, las sustituciones del anillo B (hidroxilación y metoxilación), la acilación, etc. Además, es influenciado por la presencia de otros compuestos que pueden actuar como copigmentos o con los que interactúan dando lugar a compuestos más estables (Sánchez, M., 2007), incluso ejercen un efecto protector sobre ciertos tioles volátiles afrutados (Murat, M. et al., 2003).

### III.2.3.2.4. Flavanoles.

Los flavanoles representan una familia compuesta por las diferentes formas isoméricas de la catequina y sus polímeros (Cheynier V., 2000b) (figura 11). Teniendo en cuenta la gran reactividad de los flavanoles se sabe que éstos se condensan entre sí y aunque no existen formas glicosiladas como las antocianinas, los flavanoles pueden estar unidos en la uva a polisacáridos y ser extraídos como tales en el vino (Ribéreau-Gayon, P. et al., 1998). Dentro de este grupo se encuentran los flavan 3-oles o catequinas, las procianidinas dímeras, oligómeras y los taninos condensados.

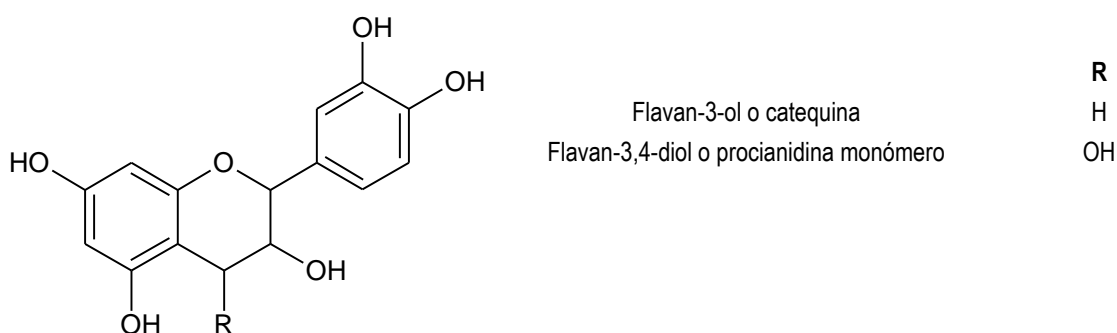


Figura 11: Estructura química de los flavanoles y procianidinas monómeras

### III.2.3.2.5. Flavanos 3-oles (monómeros flavanoles), Catequinas o Flavan-3-oles

Existe una amplia manera de nombrar a estos compuestos aunque su clasificación se basa en que su estructura básica posee dos ciclos bencénicos unidos por un heterociclo oxigenado saturado (Ribéreau-Gayon, P. et al. 1998). La presencia de numerosos grupos hidroxilo fenólicos confiere a estas moléculas diversas propiedades de interés: forman quinonas por oxidación; sus grupos funcionales interactúan con otros grupos funcionales polares de proteínas y de oligosacáridos formando complejos con ambos; forman quelatos con cationes metálicos si la molécula posee un ortodifenol en el anillo B; además, debido a su carácter nucleófilo las catequinas pueden sufrir reacciones de condensación con aldehídos en medio ácido (Kovac, V. et al., 1994).

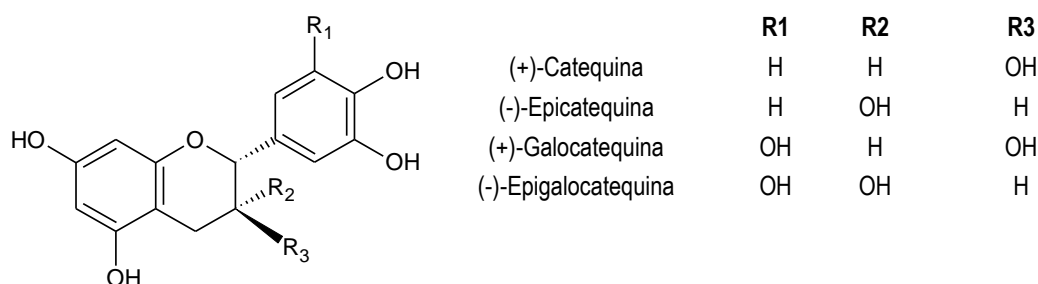


Figura 12: Estructura química de los flavanoles monómeros de la uva



La (+)-catequina, la (-)-epicatequina, la (+)-galocatequina y la (-)-epigallocatequina representadas en la figura 12, son los flavan-3-oles más comunes y suelen ser denominados como catequinas, aunque en el vino como en la naturaleza, predominan las dos primeras. Constituyen la base de los principales grupos de taninos condensados (de los procianidoles o procianidinas las dos primeras catequinas y de los prodelfinidoles las dos últimas) (Escribano, M. T., 1993). El resto de compuestos con estructura flavan-3-ol presentan una distribución más restringida. Generalmente, las catequinas monoméricas no son incluidas dentro del grupo de los taninos, ya que casi no interaccionan con proteínas o no poseen esta propiedad (Lea, A. G. H., 1979; González, M. L., 1989; Escribano, M. T., 1993).

Por catequina se entiende el 5, 7, 3', 4' tetraoxiflavan-3-ol con fórmula bruta  $C_{15}H_{14}O_6$ . El compuesto presenta dos centros de asimetría y, por tanto, puede dar lugar a cuatro formas ópticamente activas y a dos formas racémicas: se tiene la serie de las catequinas y de las epicatequinas (Bourzeix, M., 1986; González, M. L., 1989).

En cuanto a la distribución espacial de estos compuestos, el heterociclo central de los flavanos está saturado y no está en el plano. El oxígeno en posición 1 y el C4 están en el plano el anillo bencénico A. El C2 puede estar por encima o por debajo de este plano. Los espectros de infrarrojos confirman que hay fuertes uniones hidrógeno entre el OH en posición 3 (axial) y el oxígeno del heterociclo en el caso de la (-)-epicatequina y de la (+)-catequina (Ribéreau-Gayon, P., 1968).

#### III.2.3.2.6. Procianidinas diméricas o dímeros

Los dímeros son las procianidinas más sencillas, siendo útiles para definir el estudio de estructuras de mayor grado de polimerización. Existen dos tipos de dímeros, según el tipo de enlace existente entre las unidades de condensación. Los dímeros más distribuidos en la naturaleza y más abundantes en la uva y el vino son aquellos formados por la condensación de dos unidades de catequina unidas por enlaces C4-C6 ó C4-C8 (dímeros del tipo B). En este tipo de dímeros, cuya estructura se representa en la figura 13, el enlace interflavánico de tipo C4-C8 está favorecido respecto al C4-C6. La estructura presentada por el dímero muestra cinco centros de asimetría que pueden dar lugar teóricamente a 32 formas ópticamente activas. Los primeros dímeros caracterizados han sido la procianidina B1, B2, B3 y B4 (Haslam, E., 1989).

Además de estas procianidinas diméricas de tipo B, existen otras denominadas de tipo A, en las que junto con el enlace C4-C8, presentan un segundo enlace interflavánico de tipo éter C2-C7, como se aprecia en la figura 14. Estos dímeros, por tratamiento en medio ácido, además de cianidina, forman un segundo pigmento antocianico, debido a la rotura de la unidad flavan-3-ol superior (Escribano, M. T., 1993; Martínez, I. et al., 2000).

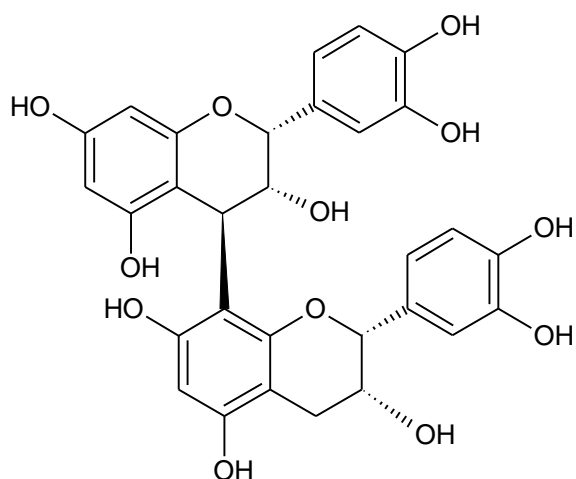


Figura 13: Estructura de una procianidina de tipo B.

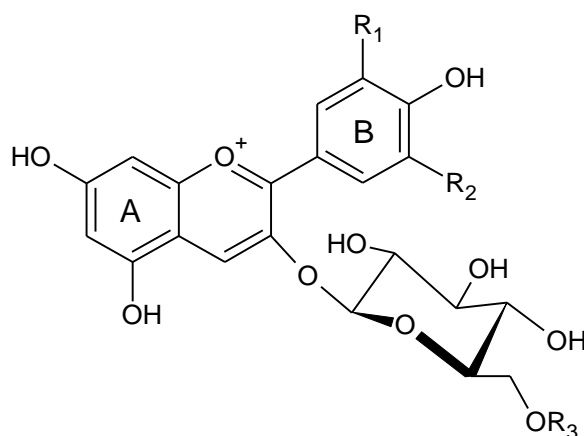


Figura 14: Estructura de una procianidina tipo A.

### III.2.3.2.7. Procianidinas oligoméricas

Se conocen más de 30 compuestos oligoméricos que constan de 3 a 5 unidades. Los compuestos de grado de polimerización más elevado que han podido aislarse y caracterizarse son los hexámeros, que están formados por unidades de (+)-catequina y (-)-epicatequina y suelen presentar en general, una sola unión entre cada unidad flavánica (que usualmente suele ser C4-C8, como ya se ha comentado anteriormente). Debido a esta característica, suelen ser compuestos esencialmente lineales, aunque también pueden encontrarse enlaces interflavánicos de tipo A (C4-C6) e incluso pueden darse casos en los que coexisten todos los tipos de enlace (Morimoto, S. et al., 1985; Balde, A. M. et al., 1991), que darían lugar a ramificaciones del compuesto. Se han descrito otras estructuras menos frecuentes, como es el caso de compuestos que contienen unidades flavan-3-ol con configuración 2S, oligómeros con enlaces mixtos tipo B y A, oligómeros que presentan unidades flavan-3-ol con un patrón de hidroxilación en el anillo B diferente y procianidinas que contienen unidades de procianidol y prodelfinidol (González, M. L., 1989; Haslam, E., 1989; Cai, Y. et al., 1991; Martínez, I. et al., 2000).

A pesar de que no existe un criterio unánime entre los autores para definir el número de unidades monoméricas que forman un oligómero o un polímero, la mayoría de ellos han definido un oligómero como una procianidina que consta de entre tres y diez unidades monoméricas enlazadas entre sí, tal y como muestra la figura 15, que sería la unidad más sencilla correspondiente a este grupo. Cuando el número de unidades monoméricas que forman la procianidina sobrepasa las diez unidades, se habla de polímeros (Haslam, E., 1989; Escribano, M.T. 1993; Rohr, G. E., 1999; Martínez, I. et al., 2000).

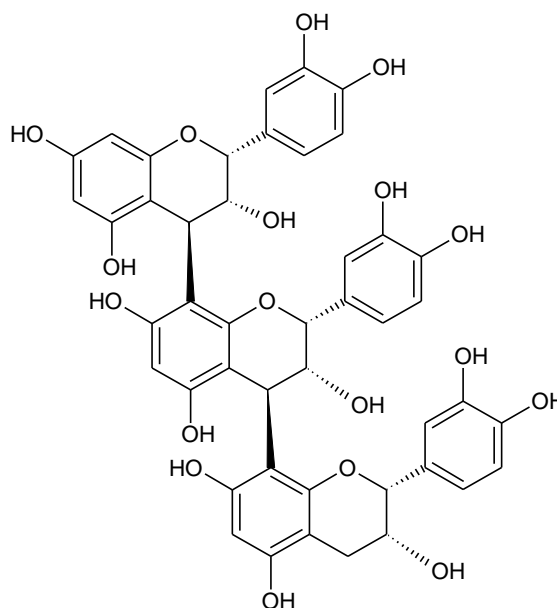


Figura 15: Estructura de la procianidina de tipo C

Los polímeros son generalmente más abundantes que los oligómeros. Sin embargo, los oligómeros son los principales responsables de las reacciones atribuidas a los taninos condensados (como son el efecto astringente). La dificultad de extracción de estos polímeros sin alterarlos dificulta su caracterización (Haslam, E., 1989). Los polímeros raramente presentan una estructura homogénea constituida únicamente por unidades procianidol o prodelfinidol. Lo más habitual es la conformación mixta con acilaciones y glucosilaciones. Como ya se ha indicado anteriormente, se ha observado un mayor predominio de unidades (-)-epicatequina en ellos (Porter, L. J., 1989). En los tejidos vegetales, la conformación espacial predominante es la 2R, aunque también se han detectado casos (minoritarios) de vegetales que contienen enantiómeros 2S (Hemingway, R. W., 1996).

Las unidades estructurales básicas de los oligómeros se nombran según la denominación trivial de los monómeros flavan-3-ol. Los nombres de catequina, epicatequina, epigalocatequina, etc., convencionalmente se han reservado para las unidades de configuración 2R, mientras que los flavan-3-ol de configuración 2S se han distinguido por el prefijo enantio-. Por otra parte, la dirección del enlace interflavánico se indica entre paréntesis con una flecha y la configuración del enlace interflavánico del C4 mediante  $\alpha$  o  $\beta$  (Escribano, M. T., 1993).

### III.2.3.2.8. Flavanos-3, 4 dioles. Leucoantocianos. Taninos condensados

Los flavanoles polímeros reciben el nombre de taninos condensados y corresponden a cadenas de diferente número de unidades de los diversos flavanoles monómeros mediante enlaces C4-C8 o C4-C6 (Ricardo, J. M. et al., 1991). Es decir, como era previsible por los criterios anteriormente mencionados, poseen la misma geometría que las catequinas pero se diferencian de éstas en la posición 4 del grupo hidroxilo. También se les puede denominar proantocianidinas o **procianidinas** debido a que tienen la propiedad de liberar antocianinas (cianidina), en medio ácido y en caliente, por la ruptura de las uniones

intermonoméricas. En caso de que el polímero esté formado por galocatequina o epigalocatequina se obtendría, por hidrólisis ácida delphinidina y hablaríamos de **prodelfinidinas**. De todos modos, y con el propósito de simplificar la nomenclatura, la mayoría de los autores han incluido dentro del término procianidina a todos los taninos condensados, es decir, tanto a las procianidinas como a las prodelfinidinas (Zamora, F., 2003b).

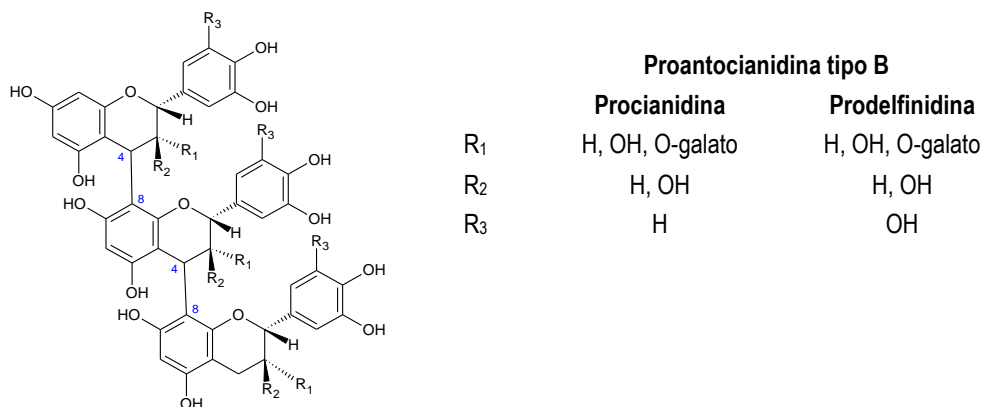


Figura 16: Estructura de la proantocianidina de tipo B

Los taninos condensados son sustancias capaces de dar combinaciones estables con las proteínas y con otros polímeros vegetales como polisacáridos. En el plano químico, los taninos son moléculas polifenólicas relativamente voluminosas, resultantes de la polimerización de moléculas elementales de función fenol. Deben tener un volumen suficiente como para dar combinaciones estables con las proteínas; pero si aumentan mucho puede no ser capaces de acercarse a los sitios activos de las proteínas para reaccionar (Ribéreau-Gayon, P. et al., 1998). Se caracterizan por ser un grupo heterogéneo de sustancias fenólicas. Se forman por la condensación de más 10 unidades de flavan-3-ol ó de 5-desoxiflavan-3-ol, por tanto se puede decir que la unidad básica, es el flavan-3, 4-diol, pero su inestabilidad hace que se transforme rápidamente en flavan-3-ol (Bourzeix, M. et al., 1986; Haslam, E., 1989; Hagerman, A. et al., 1991).

Reiterando que poseen la propiedad de liberar antocianidinas por calentamiento en medio ácido, distinguiendo dos grupos de proantocianidinas dependiendo de la naturaleza de la antocianidina liberada: procianidinas (polímeros de (+)-catequina y (-)-epicatequina) y prodelfinidinas (polímeros de (+)-galocatequina y (-)-epigalocatequina); las primeras se caracterizan por liberar cianidina, y las segundas por liberar delphinidina.; esta liberación de antocianidinas es debido a la ruptura de los enlaces interflavánicos, lo que permite además diferenciar estos compuestos en función del tipo de enlace interflavánico, en procianidinas de tipo B (figura 16), monómeros unidos por el carbono 4 de la unidad superior y el carbono 6 o 8 (menos común) de la unidad inferior; y procianidinas de tipo A, que presentan un enlace tipo éter entre el carbono 2 de la unidad superior y los grupos hidroxilos de los carbonos 5 o 7 de la unidad inferior.

Su peso molecular está comprendido entre 500 y 3000 Daltons (Bate-Smith, E. C., 1975; Hagerman, A. et al., 1991; Escribano, M. T., 1993; Martínez, I. et al., 2000). La solubilidad de estos compuestos en agua depende de su peso molecular; las formas más grandes poseen una solubilidad y extrahibilidad limitada en

cualquier solvente (Hagerman, A. et al., 1991). Estos compuestos se caracterizan por dar las reacciones típicas de los fenoles, aunque sus principales características son la capacidad para ligarse a proteínas (y otros polímeros como los polisacáridos) y su capacidad antioxidante debido al gran número de grupos hidroxilo (Hagerman, A. et al., 1991; Escribano, M. T., 1993; Martínez, I. et al., 2000). También pueden ligarse a alcaloides, gelatinas y otros materiales, aunque parece que son las interacciones tanino–proteína la base de las actividades biológicas de los taninos, tales como su influencia en la selección de alimentos, la defensa de las plantas contra los herbívoros y el uso de sus propiedades en el curtido de las pieles haciéndolas imputrescibles al reaccionar con el colágeno y explicaría también su astringencia, causada por las precipitaciones de las glucoproteínas de la saliva (Martínez, I. et al., 2000).

### III.3. ORIGEN DE LOS COMPUESTOS FENÓLICOS DEL VINO

El vino es el resultado de la fermentación alcohólica del mosto, obtenido de un racimo sano y maduro. En esta fermentación aparecen infinidad de productos mayoritarios y minoritarios, que juntamente con los del racimo de origen y, en función de la tecnología empleada en la bodega, tipo de envejecimiento, etc., modulan el resultado del vino final. El conocimiento sobre la composición química, tanto de la uva como del vino, ayuda a conocer los procesos que tienen lugar a lo largo de su obtención. Se han encontrado en el vino hasta 500 compuestos diferentes (Soleas, J., 1997). Generalmente, los vinos contienen 0.8–1.2 g/L de compuestos aromáticos, la mayoría de los cuales son alcoholes, ácidos volátiles y ácidos grasos esterificados. Otros compuestos, que a pesar de estar presentes en pequeñas concentraciones, contribuyen a las características sensoriales del vino son los carbonilos, fenoles, lactonas, terpenos, acetales, sulfuros y los compuestos nitrogenados. Para determinar la importancia de cada compuesto en el vino es imprescindible conocer cómo se origina, cuál es su evolución, transformación y cómo incide en el vino, sin embargo, aunque se han mejorado las técnicas de identificación y algunas etapas de sus reacciones, aún no se puede asegurar su total conocimiento. Por eso en este apartado se ha definido la procedencia y características organolépticas de cada grupo de compuestos fenólicos.

Entre los compuestos fenólicos no flavonoides, **los ácidos fenólicos** en el plano organoléptico; aunque en solución modelo; presentan sabor ácido, amargo y astringente, en el vino no tienen un impacto real sobre el sabor (Zamora, F., 2003b), no presentan olores particulares pero son precursores de fenoles volátiles, después de la acción de varios microorganismos (Ribéreau-Gayon, P. et al., 1998).

Los **ácidos benzoicos** proceden de los hollejos y de las pepitas de las uvas, donde se encuentran principalmente como glicósidos y ésteres (taninos hidrolizables); sin embargo, en vinos se encuentran en su mayor parte como ácidos libres, debido a la hidrólisis de las formas esterificadas y a la ruptura de moléculas más complejas, principalmente antocianos (Ribéreau-Gayon, P. et al, 1998). En el vino oscilan entre 50 y 100mg/L para tintos y de 1 a 5 mg/L para blancos. (De la Calle, C., 2001). En lo referente a este tipo de compuestos, la uva contiene principalmente ácido gálico en la forma de éster de flavonol (Flanzy, C., 2000). El ácido gálico es el más soluble en agua. Pequeñas variaciones en los factores que intervienen en el proceso de extracción del mosto (presión, tiempo, temperatura, acidez) provocan sensibles cambios en las concentraciones de los vinos resultantes. Además los ácidos gálico y elágico forman parte de los taninos hidrolizables procedentes mayoritariamente de la madera, de manera que

estarán presentes en vinos envejecidos en madera de roble (Zamora, F., 2003b). De igual forma, el ácido protocatéquico que procede fundamentalmente de los hollejos, es también muy oxidable y por tanto su concentración depende más de factores tecnológicos de elaboración que de diferencias varietales (Gil, M. et al., 1997).

Los **ácidos cinámicos** se han encontrado en las vacuolas de las células del hollejo y de la pulpa (Ribéreau-Gayon, P., 1965), en las semillas y raspón y son fácilmente extraíbles durante el prensado de la uva (Galvin, C., 1993). La concentración de estos compuestos en el vino tinto oscila entre 100 y 200 mg/L, bajo forma libre pero sobre todo aparecen esterificados con el ácido tartárico (Ribéreau-Gayon, P., 1965), también pueden combinarse con azúcares, antocianos, ácidos orgánicos y alcoholes. Son incoloros cuando se encuentran en solución en una mezcla hidroalcohólica pero pueden tomar un color amarillo después de la oxidación. Destacan los ácidos cafeoil tartárico (caftárico), p-cumaroil tartárico (cutárico) y feruloil tartárico (fertárico) (Abril, I. et al., 1999).

Los **estilbenos** se localizan en los hollejos de la uva de donde son extraídos fácilmente en el proceso de vinificación, en el vino y en la madera. Aunque no se les atribuye ninguna incidencia en las características organolépticas del vino, el resveratrol juega un rol importante en la resistencia de ciertas bayas de uva al ataque de enfermedades fúngicas como la *Botrytis cinérea* (Langkake, P. et al., 1976). Por esta acción fungicida, su presencia y niveles son muy variables según el grado de inducción de la infección. En la uva se ha encontrado el resveratrol bajo su forma libre (cis y trans) y glicosilada (Cheynier, V. et al., 1998). El resveratrol está presente en la película solamente en valores del orden de 20 µg/g de peso fresco en uvas maduras. Esta concentración varía según el cepaje, el Pinot Noir es particularmente rico en trans-resveratrol (Goldberg, D. et al., 1995). En el vino, la concentración de cis y trans-resveratrol puede variar entre 0,2- 3 mg/L en vino tinto y entre 0,1 y 0,8 mg/L en blancos (Goldberg, D. et al. 1995; Lamuela, M., et al., 1995). Sin embargo, la concentración de trans- y cis-piceido (resveratrol 3-O-b-glucosidos) alcanzan niveles máximos de 26 mg/L y 24 mg/L en vinos tintos respectivamente (Vitrac, X. et al., 2002), incluso se ha llegado a descubrir valores de trans-piceido de 45 mg/L en vinos del norte de África. Debido al estrés y a las condiciones climáticas tan severas durante el verano y a la escasa pluviometría en esta zona. (Amira, H. et al., 2006).

Los **taninos hidrolizables** están presentes en la madera y llegan al vino procedentes, fundamentalmente, del tipo de madera en la que envejece el vino (Escribano, M. T., 1993) durante su contacto, por lo que son de gran importancia en el envejecimiento de los vinos. Por su oxidabilidad y sus propiedades gustativas los taninos hidrolizables tienen un papel muy importante en el curso del envejecimiento de los vinos en barrica (Ribéreau-Gayon, P. et al., 1998). Uno de los grupos principales de taninos son los elagitaninos, que agrupa a polímeros y oligómeros del ácido elágico. Los elagitaninos son obtenidos principalmente de la corteza y troncos de árboles como el roble (*Quercus sp*) de diferentes variedades, tales como: *alba* Missouri, *alba* Virginia, *garrayana*, *petraea*, *primus*, así como de estas mismas, pero de distintas regiones como Francia, Checoslovaquia y Norteamérica, *Quercus robur* y *petraea*, también de castaño (*Castanea dentata*), con una extracción de ácido elágico de entre 0,63 a 2,55 % en base seca (Bath, T. K. et al, 1988). Los elagitaninos vescalagina, castalagina y roburina D son frecuentemente encontrados en estas variedades de árboles.

En el grupo de los compuestos fenólicos **flavonoides**, constituyen el 85 % del contenido fenólico total (>1000 mg/L) en los vinos tintos. Para los vinos blancos, éstos representan menos de un 20 % del contenido fenólico total (<50 mg/L) (Martínez, I. et al., 2000). Durante la vinificación, la cantidad de flavonoides extraídos está influenciada por muchos factores, entre los cuales podemos destacar la temperatura, tiempo de contacto con la piel de la uva, proceso de fermentación, proceso de mezcla y la concentración de etanol, anhídrido sulfuroso, levadura, pH y enzimas pectolíticas. Además, la extracción depende de la concentración de los compuestos fenólicos del racimo de la uva que varía con el tipo de cultivo, el proceso de envejecimiento, las condiciones climáticas regionales y el proceso de vinificación (Soleas, J. et al., 1997). En los vinos destacan los flavonoles, antocianidinas (sobre todo en vinos tintos), catequinas (polihidroxi flavan-3-ol) y sus polímeros (taninos condensados).

Dentro de este grupo, podemos destacar los **flavonoles** por su importancia en el vino. En las uvas de *Vitis vinifera* se presentan como glicósidos de cuatro agliconas importantes: miricetina, quercetina, kanferol e isoramnetina, procedentes principalmente de las pieles de la uva. En el vino los flavonoles se pueden encontrar como agliconas en estado libre como consecuencia de la hidrólisis de las formas glicosiladas durante la vinificación, la maduración y/o el envejecimiento del vino (Alonso, E. et al., 1986; Revilla, E. et al., 1986; García, C. et al., 1995; Price, S. F. et al., 1995; McDonal, M. S. et al., 1998; Vanhoenacker, G. et al., 2001; Ibern, M. et al., 2002; Zou, H. et al., 2002; Zafrilla, P. et al., 2003). El contenido de flavonoles es muy variable en los vinos tintos. Estas diferencias se deben fundamentalmente a factores como la variedad de uva, clima, grosor del hollejo y momento de la recolección, pero también depende del proceso de vinificación. El contenido de flavonoles no contribuye mucho al contenido total de compuestos fenólicos en el vino (Alonso, E. et al., 1986). Son pigmentos amarillos que participan directamente, aunque no de forma importante en el color del vino, ya que solamente contribuyen a una pequeña parte de la componente amarilla (Wulf, L. W. et al., 1980). Sin embargo, influyen notablemente de modo indirecto en el color de los vinos tintos, ya que son capaces de actuar como copigmentos de los antocianos modificando su color (Gómez, C. et al., 1995). La concentración de los flavonoles en el vino es de 1mg/L bajo forma aglicona procedente de la hidrólisis de los heterósidos que tiene lugar durante la vinificación (Ribéreau-Gayon, P. et al., 1998).

Las **antocianidinas** proceden principalmente de las pieles de la uva proporcionando la coloración característica a las uvas tintas, mientras que las **catequinas** y los **flavan-3,4-dioles** provienen de las semillas y del tallo de los racimos de uva. Todos estos compuestos se pueden encontrar libres o polimerizados con otros flavonoides, azúcares (glicósidos), no flavonoides (derivados acilo) o una combinación de éstos. Se encuentran también en la uva otros grupos de menor importancia, como los **dihidroflavonoles** (flavanonoles), y en las hojas, las **flavonas**. Normalmente se encuentran como glucósidos. Al igual que los flavonoles son pigmentos amarillos pero de color mucho más pálido. Las **flavonas** solamente se han identificado en las hojas de *Vitis vinifera* y no en vinos. Los **flavanonoles** se han encontrado en la madera en forma de agliconas libres, en uvas *Vitis vinifera*, en vinos blancos y tintos e incluso en orujos y raspones. Entre los flavanonoles más característicos está la astilbina (dihidroquercetín-3-O-ramnósido) y la engeletina (dihidrokanferol-3-O-ramnósido).

Los **antocianos** (del griego anthos flor y kyanos azul) y **antocianinas** tienen un peso importante en el vino, ya que son los responsables del color rojo azulado de las uvas tintas y en consecuencia también lo son del vino (Glories, Y., 1984 a; Hertog, L., et al., 1993). Estos compuestos representan una parte muy importante de los flavonoides de la baya de uva tinta, se localizan en el hollejo y en las tres o cuatro primeras capas celulares del hipodermo. Excepcionalmente pueden encontrarse en la pulpa de algunas cepas tintoreras. (Martínez, I. et al., 2000). A nivel subcelular, se encuentran en la vacuola, donde pueden estar incluidas en los orgánulos especializados como los antocianoplastos (Flanzy, C., 2000). También están presentes en cantidades importantes en las hojas, sobre todo al final del ciclo vegetativo (Ribéreau-Gayon, P. et al., 1998). Sus agliconas las antocianidinas del género *Vitis vinifera* son delfinidina, cianidina, petunidina, peonidina y malvidina, dependiendo de sus niveles de hidroxilación y metilación. Además en la *Vitis vinifera* únicamente una molécula de glucosa se une a las antocianidinas y lo hace en la posición 3; mientras que los antocianos de otras especies de *Vitis* son preferentemente diglucósidos (en posiciones 3 y 5 del fenilbenzopirilo) y bajo esta forma se encuentran mayoritariamente en los híbridos. También aparecen derivados acilados en la posición 6 de la glucosa, es decir, formas en las que una molécula de un ácido es esterificada a un hidroxilo del azúcar; se trata del ácido cinámico y, más generalmente, del ácido p-cumárico o p-oxicinámico, principalmente con los ácidos acético, caféico y p-cumárico (Revilla, I. et al., 1999b; Cheynier, V. et al., 2000b), aunque se siguen identificando nuevos pigmentos derivados de las reacciones de condensación, polimerización y cicloadición de los antocianos con otros compuestos (Bakker, J. et al., 1997a; Revilla, I. et al., 1999b; Mateus, N. et al., 2001; Atanasova, H. et al., 2002; Mateus, N. et al., 2002; Vivar- Quintana, A. M. et al., 2002; Wang, H. B. et al., 2003).

La concentración de los antocianos en vino varía desde valores de 100 a 1.500 mg/L después de la vinificación, y hasta valores de 0 a 50 mg/L después del envejecimiento del vino. Estos datos se corresponden con la concentración de antocianinas en estado libre. Sin embargo la mayoría de estos pigmentos se asocian; una parte se condensa con los taninos para dar moléculas de color más estable y otra parte desaparece por degradación debido a la acción de agentes exteriores. Como ya se ha indicado, estos compuestos experimentan diferentes reacciones de oxidación, condensación y polimerización, causando cambios de tonos rojizos hasta tonos anaranjados. Tales alteraciones se intensifican durante el envejecimiento oxidativo (en madera), decelerando durante el envejecimiento en la botella (Gil, M. et al., 1997). El antociano mayoritario en el género *Vitis vinifera* es el monoglucósido de malvidina que varía, según añadas, entre el 50 y el 90 % del total así como sus derivados acilados, sin embargo la variabilidad debida a la diversidad estructural para cada baya, permite discriminar variedades y especies (Mazza, G. et al., 1993; Ortega, E. et al., 2006). Hay factores que pueden incidir en el nivel de antocianos en uvas como son la temperatura, las condiciones de insolación y del terreno (Larice, J. L. et al., 1989; Esteban, M. A. et al., 2001; Arozarena, I. et al., 2002) y las prácticas vitícolas: el sistema de conducción, la fertilización o el riego (Castia, T. et al., 1992; Keller, M. et al. 1998; Sipiara, M.J. et al., 1998; De la Hera, M. L. et al., 2002 y 2005). Aún así, diversos trabajos han mostrado que el perfil de antocianos es bastante estable para una determinada variedad, lo que permite su utilización taxonómica (Arozarena, I. et al., 2000 y 2002; Košir, I. J. et al., 2004; Von Baer, D. et al., 2005; Casavecchia, C. et al., 2007). De tal manera que en función del perfil antociánico y de la concentración, que varía entre 500 y 3000 mg/Kg, es posible clasificar estadísticamente vinos elaborados con distintas variedades (González, M. L. et al.,



1990; Katalinic, V. et al., 1997; Holbach, B. et al., 1997; Hesford, F. et al., 1997; Kallithraka, S. et al., 2001; García, E. et al., 2002).

Los contenidos en **flavanoles** de las semillas son siempre mayores que en los hollejos en cualquiera de las formas; monómeros, oligómeros o polímeros. (Cheynier, V. et al., 2000a). Aun así, su concentración es abundante en la uva y en el vino, donde se encuentran como monómeros o flavan-3-oles, dímeros (unión de dos moléculas de flavan-3-oles), oligómeros (unión desde 3 hasta 10 moléculas de flavan-3-oles) y polímeros o taninos condensados (unión de más de 10 moléculas de flavan-3-oles). En la uva los flavanoles mayoritarios son la (+)-catequina, la (-)-epicatequina y el 3-galato de (-)-epicatequina aunque, teniendo en cuenta la gran reactividad de los flavanoles, se sabe que éstos se condensan entre sí y aunque no existen formas glicosiladas como las antocianinas, los flavanoles pueden estar unidos en la uva a polisacáridos y ser extraídos como tales en el vino (Ribéreau-Gayon, P. et al., 1998).

Los **flavan 3-oles** están presentes principalmente en el seno de la baya de la uva (Flanzy, C., 2000). La (+)-catequina y su isómero la (-)-epicatequina constituyen la base de los principales grupos de taninos condensados (de los procianidoles o procianidinas las dos primeras catequinas y de los prodelfinidoles las dos últimas) (Escribano, M. T., 1993). La presencia de los enantiómeros (+)-epicatequina y (-)-catequina se debe normalmente a procesos de isomerización durante el proceso de extracción. Existen también flavan-3-oles metilados, ésteres de flavan-3-oles y flavan-3-oles glicosilados, generalmente en el anillo C. También son frecuentes los ésteres gálicos de las catequinas donde el ácido está fijado al hidroxilo en posición 3 del heterociclo (Lea, H. et al., 1979). En la baya, los taninos condensados están localizados principalmente en las semillas y en el hollejo. Los taninos son sintetizados durante la primera etapa del crecimiento de la baya o crecimiento herbáceo y su síntesis finaliza poco después del envero. Los contenidos de taninos de las semillas son siempre netamente superiores a aquellos del hollejo, ya sea de monómeros, oligómeros o polímeros. En las semillas se localizan tanto en formas monómeras como en formas más o menos polimerizadas, aunque se han localizado también trazas de monómeros y dímeros en la pulpa (Bourzteix, M. et al., 1986; Ricardo da Silva, J. M. et al., 1992). En el hollejo de las uvas, se han identificado tres tipos de taninos:

- Taninos presentes bajo forma libre en el jugo vacuolar (localizados en forma condensada en las células próximas a la epidermis y como granulaciones difusas en las células internas del mesocarpio, aumentando de tamaño a medida que su localización es más próxima a la superficie del hollejo,
- Taninos unidos fuertemente a la membrana proteofosfolipídica (tonoplasto).
- Taninos ligados a los polisacáridos de la pared celular y a las proteínas constitutivas de la cara interna de las membranas vacuolares de las células del hollejo (Amrani, K. et al., 1994).

Park, S. (1995) mostró la presencia de taninos en la vacuola de ciertas células de las capas externas de la hipodermis. Durante el crecimiento de la baya de uva, ciertas células de la hipodermis se transforman en células de pulpa y sus taninos vacuolares desaparecen totalmente (Fougère, M. et al. 1996).

Los **leucoantocianos** proceden de la semilla y del raspón de la uva y existen en vinos tintos en pequeñas concentraciones. Su importancia radica en que se polimerizan junto con las catequinas para dar lugar a las proantocianidinas (Jackson, S., 2000). En los mostos y en los vinos jóvenes las **procianidinas** presentan pesos moleculares medios en torno a 500–700 (dímeros, trímeros), mientras que en los vinos viejos se producen condensaciones con pesos moleculares medios en torno a 2000–3000 (diez moléculas condensadas) (Martínez, I. et al., 2000). Las **procianidinas** presentes en las partes sólidas del racimo, se solubilizan en el vino durante la fase de maceración. Su concentración en el vino depende de la añada y de las condiciones de vinificación, oscilando finalmente entre 1 y 4 g/L (Ribéreau, P. et al., 1998). Son los responsables del sabor amargo y de la astringencia del vino, pero también de parte de la componente amarilla del color, de la sensación de estructura o cuerpo del vino y de la capacidad del vino para envejecer, entendiéndose por ello la capacidad de mantener el color a lo largo del tiempo (Zamora, F., 2003b). Pueden provenir no sólo de la uva, sino también de la madera; en el primer caso sintetizado a partir de la fenilalanina y en el segundo a partir de ácido acético.

Las **proantocianidinas** son importantes por ser las responsables de la astringencia y amargor del vino (Lea, H. et al., 1978; Haslam, E. et al., 1980; Noble, C., 1990; Robichaud, J. L. et al., 1990; Glories, Y., 1999). Además, debido a su participación en reacciones de pardeamiento oxidativo químico y enzimático contribuyen en parte a la componente amarilla del color (Glories, Y. 1984b; Junquera, B. et al., 1992; Ribéreau-Gayon, P. et al., 1998). También son responsables de la sensación de estructura o cuerpo del vino (Montedoro, B. et al., 1988; Ribéreau-Gayon, P. et al., 1998; Fischer, U. et al., 1999) y de la capacidad del vino para envejecer (Zamora, F. et al., 1994; Saucier, C. et al., 1997; Fischer, U. et al., 1999), es decir, la capacidad de mantener el color a lo largo del tiempo. Además, pueden participar en interacciones con proteínas y formación de turbidez (Cheynier, V. et al., 1991b), así como en numerosas reacciones de condensación durante la maduración y el envejecimiento del vino (Haslam, E. et al., 1980).

Las formas poliméricas representan la mayor parte de los 3-flavonoles. En los hollejos de algunas variedades se han encontrado fracciones con grado de polimerización superiores a 80 unidades (Souquet, J. et al., 1996b). Los valores de concentración de las procianidinas se sitúan generalmente en valores alrededor de 200-700 mg/kg de uva. Existe una amplia variabilidad en las concentraciones de catequinas y proantocianidinas en raspones, pieles y semillas, en relación con la variedad de uva. Así, las uvas Pinot Noir presentan valores globales muy altos de catequinas y proantocianidinas (Kovac, V. et al., 1990). La variedad Cabernet Sauvignon también ha sido descrita como una variedad con contenidos elevados de catequina y proantocianidinas (Auw, J. M. et al., 1996). Thorngate, J. H. et al. (1994) ha sugerido que la extracción en la vinificación de los taninos de la semilla; cuando ésta no sufre rotura durante el prensado; puede ser debida a que los taninos se encuentran localizados en las capas superficiales de la misma. Estos compuestos ocupan una posición de defensa del embrión en las envolturas externas e internas y su difusión al medio exterior depende de la solubilización de la cutícula. Los taninos de los hollejos difieren de los de las semillas por la presencia de prodelfinidinas, mayor grado de polimerización (Di Stefano, R., 1995) y menor porcentaje de subunidades galoiladas.

### III.3.1.Efecto de los compuestos en la calidad organoléptica

Los compuestos fenólicos intervienen en las características organolépticas de la mayoría de las sustancias vegetales, entre las que destacan las uvas, al intervenir en gran medida en el color natural y en el sabor que éstas poseen. En el vino tienen un papel clave, siendo los responsables directos de manera general, de las diferencias existentes no sólo entre vinos tintos y blancos, concretamente en el origen del color, sino también las diferencias en el sabor y la astringencia se ven afectadas por la existencia en el medio de los polifenoles. Este conocimiento ha ayudado a comprender sus efectos sobre el vino y su intervención en el medio para modificar el comportamiento de estos compuestos y mejorar sus características organolépticas.

**Contribución al color.** Los flavonoides son los responsables del color natural de las uvas. Entre ellos las antocianinas son los responsables de los colores rosa, escarlata, rojo, malva, azul y violeta de las uvas y los vinos (Mazza, G. et al., 1994) y se presentan en forma de glicósidos como antocianos. Las antocianinas son compuestos muy inestables, por lo que la pérdida de su color se puede producir durante el procesado y almacenamiento (Shahidi, F. et al., 1995). Por tanto, los factores que influyen más directamente sobre estos compuestos y, sobre el color del vino, son diversos a lo largo de todo el proceso de su obtención: la variedad de la uva, el clima, el grado de madurez, la maceración en cuanto a porcentaje y tiempo de contacto del mosto con las partes sólidas, la temperatura durante la elaboración, la estabilización, la conservación, el envejecimiento y la crianza (Gómez, C. 1997).

Las coloraciones amarillas o marfiles pueden ser debidas a la presencia de flavonoles, flavonas, calconas, flavononas e isoflavononas (Belitz, D. et al., 1988). Sin embargo, se ha observado que muchos de estos compuestos carecen de color en estado natural pero pueden convertirse en compuestos coloreados bajo determinadas condiciones en la manipulación y procesado de los vinos (Belitz, D., 1988; Shahidi, F. et al., 1995). Los flavonoles (kaempferol, quercetina y miricetina) contribuyen al color del té verde (Shahidi, F. et al., 1995), mientras que las flavonas y los flavonoles no intervienen claramente en las coloraciones de las plantas a menos que estén presentes en altas concentraciones como ocurre en la piel de la cebolla (Price K. R., et al., 1997; Price A. R., et al. 1997).

Además, de forma general, los polifenoles pueden quelar metales modificando la coloración natural de los alimentos y del vino de manera que los quelatos de hierro son los responsables de coloraciones azules a negras, mientras que los quelatos de aluminio proporcionan coloraciones amarillo brillante o marrones (Belitz, D. et al., 1988).

Aunque los principales responsables de los cambios de color en vinos son los antocianos en los vinos tintos, que sufren reacciones de oxidación, condensación y polimerización que normalmente provocan el cambio de tonos azules a tonos naranjas (Gómez, C. et al., 1995). También los flavonoides, que sin tener color propio influyen de una manera decidida en él. El color de los vinos jóvenes se debe a las combinaciones de los antocianos libres con catequinas y proantocianidinas, así como al contenido de

taninos condensados, todo con una gran influencia del pH y de la concentración de sulfuroso (Gómez, C., 1997).

**Sabor amargo.** Se ha comprobado que las flavononas son los compuestos responsables del sabor amargo, aislando los componentes causantes de esta sensación en los cítricos. Así, la naringenina es el componente amargo mayoritario del pomelo, mientras que la neohesperidina lo es de la naranja amarga y con regusto a regaliz. Además, ciertos glicósidos flavanónicos amargos o insípidos pueden transformarse por apertura del anillo en calconas (con sabor dulce), las cuales por hidrogenación posterior se transforman en dihidrocalconas, con poder edulcorante igual o superior al de la sacarina (Belitz, D. et al., 1988). Otros compuestos fenólicos, entre los que destaca el ácido clorogénico, han sido asociados al sabor amargo de la cerveza, el vino y la sidra (Shahidi, F. et al., 1995). Mientras que los ácidos hidroxicinámicos y sus derivados son responsables del sabor amargo de los arándanos (Marwan, J. et al., 1982).

**Astringencia.** Las proantocianidinas o taninos condensados constituyen la principal fracción fenólica responsable de las características de astringencia de los alimentos vegetales, aunque la intensidad de estas sensaciones depende del peso molecular del compuesto presente en el alimento, observándose que sólo los taninos; con un peso molecular entre 500 y 3000; pueden desarrollar una sensación de astringencia. (Haslam, E. et al., 1988). Paneles de catadores han demostrado que las proantocianidinas tetraméricas son más amargas, mientras que las más poliméricas son más astringentes, cuando ambas son adicionadas en la misma cantidad (Spanos, A. et al., 1992).

Además, Goldstein, J.L. et al. (1963) observaron que durante la maduración se produce una pérdida en la astringencia de los frutos que está asociada a una disminución del contenido en taninos. Así, el sabor astringente es típico de las manzanas inmaduras, mientras que las maduras, pobres en compuestos fenólicos, no presentan este sabor (Belitz, D. et al., 1988). Distintos mecanismos han sido estudiados para explicar esta pérdida de astringencia. Según Goldstein, L. et al. (1963) este fenómeno se debe a la polimerización de los taninos y su consecuente pérdida de capacidad para precipitar proteínas, mientras que otros autores lo han relacionado con la formación de quelatos entre los taninos y distintas macromoléculas.

**Pardeamiento.** El pardeamiento de las frutas y vegetales está también relacionado con el contenido en compuestos fenólicos. Así, la formación de pigmentos amarillos y marrones durante la manipulación y procesado de los alimentos vegetales, está controlada por los niveles de polifenoles, la presencia de oxígeno y la actividad de la polifenol-oxidasa (Mc Evily, J., et al., 1992). Esta enzima contiene cobre y cataliza la reacción entre un grupo fenol y el oxígeno para dar agua y quinona, compuesto responsable de los pigmentos amarillos y marrones (Spanos, A. et al., 1992; Shahidi, F. et al., 1995).

### **III.4. FACTORES QUE INFLUYEN EN LA COMPOSICIÓN FENÓLICA DE LOS VINOS TINTOS**

La composición fenólica final de un vino depende principalmente de tres conjuntos de parámetros; primero, la composición fenólica de los racimos que pueden estar en las semillas o en las pieles de la uva, después ser producidos por el metabolismo de la levadura (Infante, R., 1997) o bien, ser extraídos de las técnicas de vinificación y finalmente, de las numerosas reacciones químicas que tienen lugar durante el envejecimiento (Abril, I. et al., 1999).

#### **III.4.1. Influencia de la variedad de uva**

Dado que los compuestos fenólicos provienen mayoritariamente de los racimos de uvas, es de esperar que su composición final esté influenciada por la variedad de uva. Cada variedad presenta una capacidad distinta para sintetizar antocianos y taninos. Así, las variedades de grano pequeño presentan una mayor relación superficie/peso y por tanto presentarán una mayor superficie de intercambio durante la vinificación. Para la obtención de vinos de calidad es necesario disponer de una materia prima que posea una adecuada concentración en compuestos fenólicos y que además sean fácilmente extraíbles durante el proceso de vinificación. Pero la proporción de antocianos y flavanoles en la uva depende además de la variedad, de otros factores como las condiciones medioambientales y los tratamientos culturales pueden modificarla (Andrades, M. S. et al., 1995; González, M. L. et al., 1995) y del grado de madurez de la uva, tanto industrial (contenido de azúcar y el nivel de acidez total), como fenológica (madurez de la piel y de las pepitas), ya que estos tejidos contienen la mayor concentración de los compuestos fenólicos (González, M. L. et al., 1991; Robredo, L. M. et al., 1991), aumentando la concentración de antocianos y modificándose los niveles y tipos de taninos (Pérez, S. et al., 2005). Además, el grado de madurez influye sobre la extractabilidad del color durante la vinificación, dado que la capa de células de la cara interna de la piel se vuelve más fina en las uvas maduras (Sánchez, M., 2007).

#### **III.4.2. Influencia de la vinificación**

Los procesos de degradación y de evolución de los polifenoles que se producen durante la vinificación son regidos por dos tipos de mecanismos; el primero hace intervenir reacciones bioquímicas catalizadas por enzimas y el segundo lleva consigo fenómenos químicos. Todas estas reacciones dan lugar a productos nuevos por formación o ruptura de uniones covalentes. Por lo que se refiere a los compuestos fenólicos, a lo largo de la vinificación experimentan modificaciones debidas a los enzimas endógenos o exógenos de la uva. El principal enzima de la uva que degrada los polifenoles es la polifenol-oxidasa, conduciendo a la formación de pigmentos pardos, lo que provoca el pardeamiento de los mostos al contacto con el aire. Los fenómenos químicos son de distinta naturaleza pero conducen principalmente a productos de adición. Se trata por una parte, de las reacciones iniciadas por las O-quininas procedentes de la oxidación enzimática; y por otra parte, se tienen las reacciones de combinación de taninos y antocianos en los vinos tintos (Flanzy, C., 2000). De forma simultánea los antocianos se extraen relativamente rápido del hollejo en pocos días, y después hay una tendencia a la disminución debido a

fenómenos de oxidación (Brouillard, R., 1982), de precipitación (Santos, C. 2001) y de formación de enlaces con las proteínas (Infante, R., 1997). La intensidad colorante disminuye debido a la aparición de etanol, a la reducción de los fenómenos de copigmentación y a las combinaciones entre antociano-flavanol, algunas de las cuales son inicialmente incoloras. Además, los taninos se solubilizan, aunque más lentamente, ya que la formación de etanol en las primeras fases de la fermentación inicia la solubilización de los taninos (Ribéreau-Gayon, P. et al., 1998).

En los últimos años se han desarrollado una serie de técnicas enológicas orientadas a favorecer la extracción de los compuestos fenólicos, principalmente antocianos y así aumentar su estabilidad en el vino, para asegurar una alta calidad del vino final. Estas técnicas se han basado en romper las estructuras celulares del hollejo para extraer la máxima cantidad de estos compuestos en un mínimo período de tiempo. Destacan la utilización de enzimas de maceración, la técnica flash-détente, el aporte de oxígeno y tanino enológico, y el delestage entre otras (González, M. L. et al., 2005). Por otro lado, la adición de tanino enológico en vinos tintos es una práctica que se ha utilizado para estabilizar su color e incrementar su cuerpo y estructura (Pardo, F., 2001). El efecto sobre el color del vino tinto dependerá del tipo de tanino utilizado (condensado o hidrolizable). Así, se sabe que contribuye a la estabilización del color facilitando las combinaciones antociano-tanino si se trata de tanino condensado, o protege a los antocianos de la oxidación, si se emplea taninos hidrolizables, ya que éstos son capaces de actuar regulando los fenómenos de oxidoreducción (Vivas, N., 1997b) y también pueden favorecer la condensación entre antocianos y taninos vía acetaldehído, e incluso, pueden contribuir a aumentar el color del vino gracias al fenómeno de la copigmentación (Lempereur, V. et al., 2002). Estudios realizados por Bautista, B. (2005) han puesto de manifiesto que con la adición de tanino enológico se consiguen valores más altos de índice de polifenoles totales durante el proceso de vinificación, y se aumenta el valor de la intensidad colorante.

También se ha comprobado (Bautista, A. B., 2005) que el tipo de levadura utilizada en la elaboración afecta al perfil cromático de los vinos y a la estabilidad de los compuestos coloreados, debido a su diferente capacidad para retener pigmentos en su pared celular y para liberar compuestos que contribuyen a estabilizar el color, tales como manoproteínas, ácido pirúvico y acetaldehído (Morata, A. et al., 2003).

Dentro de las técnicas clásicas utilizadas en la elaboración de vinos tintos, los remontados favorecen el contacto de la pasta con el mosto/vino y por tanto la extracción de los compuestos responsables del color, cuerpo y parte del aroma del vino, además de evitar las acetificaciones y que las levaduras se queden sin el oxígeno necesario para su multiplicación. La frecuencia de los remontados y el tiempo de maceración del mosto/vino con la pasta (durante o después de la fermentación) se establecen en función del color, sabor y aroma que se quiera tener y del tipo de vino que se quiera elaborar, así en vinos de crianza, la maceración debe ser más larga para aumentar el color, la extracción de compuestos fenólicos, polisacáridos, proteínas y formación de pigmentos poliméricos necesarios para estructurar el vino y garantizar la estabilización del color (Auw, J. M. et al., 1996). Una maceración corta será utilizada para obtener vinos jóvenes, consiguiéndose en pocos días una correcta extracción de compuestos fenólicos y

aromas afrutados; evitando así obtener vinos muy tánicos (Gil, R. et al., 1999; Gómez, E. et al., 2001; Zamora, F., 2003b).

Así mismo, hay que tener en cuenta que existen otra serie de factores físico-químicos ( $T^a$ ,  $CO_2$ ,  $SO_2$ , etanol y  $O_2$ ) que influyen en la extracción de estos componentes y en su estabilidad. De ahí que se haya establecido en vinificación el uso de la microoxigenación. Su aplicación en el proceso de fermentación alcohólica tiene la finalidad de favorecer el crecimiento de las levaduras para evitar fermentaciones largas y lentas, asegurándose el completo agotamiento de los azúcares, y evitando las reacciones secundarias que pueden producir sustancias organolépticamente indeseables. La dosis de trabajo habitual durante esta etapa se sitúa en torno a los 6 mL/L de oxígeno total en vino, siendo el momento óptimo de aplicación durante la fase de crecimiento exponencial, que se corresponde con una bajada aproximada de la densidad del 20 %. En este caso, la microoxigenación se suele realizar durante 24 ó 48 horas como máximo (Anocibar, A., 2005). Otro momento óptimo de aplicación se ha establecido después de la fermentación alcohólica y antes de la fermentación maloláctica, en vinos tintos cuyo principal objetivo es la estructuración y estabilización del color. Con este proceso se ha favorecido la formación de acetaldehído, y este compuesto participará en las reacciones de condensación tanino-antociano que darán lugar a nuevos pigmentos que aumentarán la intensidad colorante y la presencia de tonos violáceos en el vino, así como la polimerización cruzada de los taninos, o lo que es lo mismo, el paso de los taninos verdes o duros a taninos más suaves y menos astringentes que los primeros, y que se redondearán durante el envejecimiento en bodega o en botella. Los resultados obtenidos por diversos autores (Parish, M. et al., 2000; Bosso, A. et al., 2000; Castellari, M. et al., 2000; Cabanillas, P. et al., 2001; Nikfardjam, M. P., 2003; Pérez, S., 2002b; González, M. L. et al., 2005; Sánchez, M., 2007) han puesto de manifiesto que los efectos más significativos y favorables de la aplicación de la microoxigenación se obtienen cuando se aplica al finalizar la fermentación alcohólica y antes de la fermentación maloláctica. Debido a la alta concentración en el vino de antocianos y taninos, facilitando las reacciones de condensación y polimerización entre estos compuestos. Las dosis a aplicar dependerán de la concentración de compuestos fenólicos existentes en el vino variando de 10 a 60 mL/L/mes y el tiempo de aplicación varía entre 2 y 3 semanas. Además, el uso de lisozima ayuda a retrasar la fermentación maloláctica, permitiendo microoxigenar sin riesgo y obteniendo vinos con un color más estable y mejor equilibrado en boca (Gerland, C., 2005; Sánchez, M., 2007).

#### **III.4.3. Condiciones del envejecimiento de los vinos**

Es necesario distinguir dos tipos de envejecimiento que llevan a vinos con características organolépticas bien diferenciadas. El primer tipo de envejecimiento corresponde a vinos que adquieren sus características como consecuencia de fenómenos de oxidación-reducción, obtenida por una larga conservación en madera. Es el periodo comprendido entre el final de la vinificación (marcada por la finalización de las fermentaciones) y el embotellado. Su duración es muy variable según el origen, la naturaleza y la calidad del vino considerado. Debe permitir estabilizar el vino y preparar a los grandes vinos a un envejecimiento en botella más o menos largo. Por tanto, se considera el segundo tipo de envejecimiento a los vinos conservados al abrigo del aire y protegidos del oxígeno, desarrollando sus características organolépticas en botella (Usseglio, L., 1998). Dada la importancia que tiene este apartado

en el envejecimiento de los vinos para la resolución de esta tesis, a continuación se describen ambos procesos (envejecimiento en madera y botella) como apartados independientes y bien diferenciados.

Todo vino destinado a la crianza en barricas ha de reunir unas condiciones mínimas; ya que tratar de realizar una crianza con vinos que no posean unos parámetros básicos mínimos; originará un producto excesivamente oxidado y marcado por la madera. Una sala dedicada a la crianza de vinos ha de reunir una serie de condiciones imprescindibles referidas a temperatura y humedad para tener una correcta evolución del vino y evitar las mermas excesivas. Estas mermas o pérdidas de volumen son debidas en parte, a la evaporación del agua y etanol y en parte, a la absorción de vino que lleva a cabo la propia madera. Las mermas por absorción dependen de la edad de la barrica, así una barrica nueva presenta mayores pérdidas. Las mermas por evaporación dependen básicamente de la temperatura y de la humedad. La humedad de la sala de barricas es el otro factor de mayor importancia, ésta ha de ser la máxima posible para disminuir las mermas por evaporación, pero nunca ha de provocar condensaciones de agua que favorecerían el desarrollo de hongos. De todo esto se deduce que el control de temperatura y de humedad de la sala de crianza es imprescindible, para garantizar la correcta evolución del vino (Zamora, F., 2003b). Las mejores condiciones para evitar pérdidas excesivas es mantener el ambiente en condiciones de humedad relativa entre el 70-80 %, y temperaturas constantes del orden de 12° a 15° C. Una vez el vino ha sido embotellado, éste es particularmente sensible a la temperatura de conservación pero también puede ser perturbado por una pérdida de estanqueidad del tapón. Los fenómenos que intervienen en un vino embotellado son normalmente lentos en medio reducido pero pueden ser modulados por la temperatura (Ribéreau-Gayon, P. et al., 1998).

### **III.5. ENVEJECIMIENTO DEL VINO EN BARRICAS DE ROBLE**

Como se ha mencionado anteriormente durante la crianza de los vinos en barrica de roble se producen una serie de fenómenos simultáneos que hacen evolucionar al vino. Según Feuillat, F. (1996) la barrica puede considerarse como una interfase entre un medio líquido (el vino) y un medio gaseoso (la atmósfera exterior), de manera que las propiedades físicas de la madera de roble, determinarán los complejos fenómenos de transferencia que tienen lugar entre ambas fases (Viro, C. et al., 1994). Esta técnica está ampliamente legislada en España tanto por la normativa estatal integrada por la ley 24/2003 de 10 de julio, de la Viña y del Vino, como por la normativa europea, siendo competencia de los diferentes Consejos Reguladores de las Denominaciones de Origen y las Asociaciones de los Vinos de Calidad hacer un seguimiento del cumplimiento de la normativa legal. De manera que, las prácticas de crianza en barricas de roble en los países vitivinícolas del marco económico europeo están muy reguladas, sin embargo hoy en día se emplean técnicas de envejecimiento que sustituyen a la barrica por otro recipiente al que se aporta la madera y el oxígeno necesario para tratar de lograr un resultado lo más similar posible al contacto con las barricas. Esto ha hecho necesario conocer con detalle los diferentes procesos que tienen lugar para lograr desmitificar o enaltecer el empleo de las barricas en el proceso de envejecimiento de un vino.

Es bien sabido que el envejecimiento de un vino en barricas de madera de roble tiene efectos determinantes en la calidad del producto final, favoreciendo el desarrollo de nuevas cualidades



organolépticas, la reducción de ciertos caracteres del vino, el aumento de la estabilidad, las precipitaciones coloidales y las transformaciones químicas (Del Álamo, M., 1997, Del Álamo, M., et al, 2000a). De forma general, se va a producir un incremento en el contenido en ácidos fenólicos atribuido; en muchos casos a la hidrólisis de galatos de catequina y epicatequina que se producen durante el envejecimiento del vino, y a una disminución en el contenido de antocianinas (Shahidi, F. et al., 1995). Estos cambios se han atribuido a fenómenos de evaporación, extracción, oxido-reducción y numerosas reacciones, que se ven favorecidas por el aumento de la superficie de contacto liquido-sólido y el aporte de oxígeno atmosférico a través de los poros de la madera. Por otra parte, durante el periodo de contacto entre la madera y el vino, se produce una extracción y disolución de determinados compuestos solubles de la madera en el vino, ligninas, taninos hidrolizables, ácido gálico, ácido elágico, ácidos carboxílicos aromáticos, aldehídos y compuestos aromáticos, que le comunican colores, sabores y aromas característicos de calidad. Estas propiedades estructurales y químicas son claramente dependientes de la barrica utilizada, ya sea debido a la procedencia de la madera (especie botánica, origen geográfico), a la tonelería (relacionado con las prácticas aplicadas en los procesos de secado y tostado), o a la edad de la barrica así como del tiempo y la superficie en contacto. (Del Álamo, M. et al, 2000 a, b y c, Cadahía, E. et al., 2004),

### III.5.1. Origen botánico y geográfico del roble

Son muchas las especies forestales que se han utilizado a lo largo de los años para la fabricación de barricas para envejecimiento de los vinos (roble, cerezo, fresno, castaño, acacia, pino, haya, encina, etc). Sin embargo, se considera que la madera para la fabricación de barricas debe cumplir una serie de características físico-mecánicas como porosidad, permeabilidad, resistencia mecánica, etc., y propiedades organolépticas que pueden ser muy diferentes de unas especies a otras (Martínez, J. et al., 1997, Fernández, I. et al., 1999). La especie de roble que cumple estos criterios con integridad en su mayoría pertenece al grupo de robles blancos. El roble pertenece al género *Quercus*, en el que existen unas doscientas cincuenta especies pero tan sólo tres (*Quercus petraea* o *sessilis*, *Quercus alba* y *Quercus robur* o *pedunculata*) han tenido mayor significado enológico por constituir la base material de barricas o las tres especies más ampliamente utilizadas hasta el momento.

En Francia, los bosques llevan regulándose desde el siglo XVII, lo que ha permitido disponer de los mejores bosques de toda Europa contando con más de cuatro millones y medio de ejemplares de roble, entre *Quercus robur* y *Quercus petraea* y considerados, por ser más frondosos y de mejor calidad. Todos ellos, casi la mitad son de explotación pública (Office National des Forêts) el resto, es propiedad privada. Sólo un pequeño porcentaje de esta inmensa masa boscosa, que se divide en monte alto (los más abundantes y regenerados mediante sistema de siembra), monte bajo (regenerados por brotes del tronco) y monte medio (admite ambos tipos de regeneración) son válidos para la creación de barricas. Los bosques son sometidos a trabajos de aclareos, podas uniformes y control de taras durante toda su vida en crecimiento. Cuando los bosques son de dominio público, cada año la jefatura forestal edita una lista de las extensiones de bosques con parcelas a la venta y marca aquellos árboles que pueden ser talados vendiendo lotes completos. En el caso de la empresa privada, es el propietario del bosque el que ofrece sus árboles sin talar al negociante para que los explote en su totalidad. Los troncos para barrica con su

corteza se entregan a un especialista maderero (*merrandier*), encargado de cortar los troncos en tablones, de los que se extraerán las duelas. Para conseguir una tabla de 1,10 metros de largo el tronco ha de ser homogéneo y medir unos 40 centímetros de diámetro. Una vez generadas las duelas pasan el parque de curado donde se separa la madera por bosques.

La especie *Quercus petraea* es junto al *Quercus robur* la especie europea más utilizada en tonelería, y se encuentra repartida por todo el continente europeo, pero principalmente se encuentran en los bosques franceses: Allier, Argonne, Borgoña, Tronçais, Nevers, Vosges, Limousin, etc. La especie *Quercus petraea* se cultiva según la técnica de bosque alto, lográndose árboles más delgados y altos, con una mayor densidad de plantación, y obteniéndose una madera de grano más fino y con un menor contenido de polifenoles. Suele estar plantado en lugares menos fértiles y con una mayor competitividad entre árboles, dando lugar a betas y poros más finos. Sin embargo, el *Quercus robur* utiliza la técnica de bosque bajo, árboles de mayor diámetro, obteniéndose madera más porosa de grano más grueso y más rico en polifenoles. En la práctica, muchos de los robles europeos son híbridos de ambos tipos y, como resultado, los robles que se utilizan para el envejecimiento de los vinos se conocen con frecuencia con el nombre de la localidad geográfica de donde provienen (Haslam, E. et al., 1988).

La especie de roble que se encuentra en Estados Unidos interesante para la obtención de madera con fines enológicos es *Quercus alba*, definido también como roble blanco. Existiendo también un roble denominado roble rojo (*Quercus rubra o borealis*), aunque este segundo tipo de roble es a veces utilizado para elaborar grandes depósitos de madera, pero nunca para la elaboración de barricas debido a su sabor relativamente duro y su falta de hermeticidad. Por tanto, los bosques americanos se ven diferenciados por una selección de robles blancos. De hecho, se ha definido roble blanco a los robles localizados en el norte de América de hoja caduca, que corresponden a varias especies, entre ellas *Quercus alba*, *Q. macrocarpa*, *Q. montana*, *Q. muehlenbergii*, *Q. virginiana*, *Q. lyrata*, *Q. stellata*, *Q. garryana* y *Q. prinus* (Masuda, M., et al. 1971, Towey, P., et al. 1996). Las tonelerías americanas y las empresas de silvicultura donde el *Quercus alba* es particularmente explotado se concentran en el medio oeste (Kentucky, Tennessee, Missouri). El área de distribución natural del roble blanco americano es de entre 30 ° y 65 ° latitud norte. En EE.UU., la parte del continente americano donde más abunda se extiende aproximadamente desde el sur de Ontario, Minnesota y Nebraska, al sur de Florida y Texas (Keller, R., 1987). Las mayores operaciones forestales con roble se encuentran en Missouri, Ohio, Wisconsin, Illinois e Iowa (Weil, W., 1993).

El crecimiento del árbol define el tipo de grano, y éste es diferente según la estación del año. Por tanto, el crecimiento anual del árbol se compone de la madera de primavera de crecimiento regular y permeable, y de la madera de verano de crecimiento irregular y poco permeable, lo que conlleva que existan diferencias según la procedencia del roble. En general, el roble europeo es de crecimiento más uniforme y presenta un tamaño más fino y más homogéneo que el roble americano. Además, las condiciones edafoclimáticas del terreno (Vivas, N., 1995; Vivas, N. et al., 2001), también determinan el tipo de grano, pudiendo variar dentro de una misma especie en función del origen geográfico. El tipo de grano es importante por su influencia sobre las características organolépticas del vino, pues cuanto más fino, más aromático es el roble; pero también más lento es el aporte de aromas y por tanto este tipo de barricas

serán apropiadas para largas crianzas. Además, cuanto más grueso es el grano, más tánico es el roble, ya que los taninos se concentran durante el crecimiento de verano. El tipo de grano no influye significativamente en el aporte de oxígeno al vino, ya que aunque en teoría el grano fino debería producir una mayor oxigenación por su mayor porosidad, este hecho no ha sido constatado en ningún estudio y según indican los resultados preliminares del grupo UVaMOX las barricas de roble americano de grano medio aportan más oxígeno a los vinos que las barricas de grano fino (Del Álamo, M. et al., 2014).

La dificultad de abastecimiento de madera en Francia y la mayor demanda de barricas, ha llevado a buscar robles de *Quercus petraea* en países centroeuropeos (Hungria, Rumanía, Rusia, Ucrania, Eslovenia, etc.), donde el roble puede tener la misma complejidad organoléptica y puede ser más barato, dando lugar a una mayor oferta en el mercado. El problema es que, en general, no han sido correctamente explotados durante su período comunista. Junto a estas especies más importantes se pueden citar otros robles que son utilizados de manera anecdótica, pero cuyas propiedades frente a la calidad de los vinos hasta el momento son poco apreciadas: *Quercus cerris*, *Quercus pubescens*, *Quercus farnetto* en Europa; *Quercus mirbeckii*, *Quercus afares* en África del Norte; *Quercus mongólica* en Asia (Puech, J.L. et al., 2000). Además, la necesidad de nuevas fuentes de suministro de madera de calidad, así como la mejora de la masa forestal de nuestro país, ha llevado a considerar la utilización del roble español como fuente de madera para la obtención de barricas. Entre las especies utilizadas de roble español se puede destacar *Quercus petraea*, *Quercus robur* e incluso otras especies autóctonas de la península ibérica, como el *Quercus pyrenaica* y el *Quercus faginea*. Desde hace algunos años se han realizado diferentes trabajos de investigación para determinar las posibilidades desde el punto de vista de estructura de la madera del roble español (Fernández, B. et al., 1996, 1999a y b; Cadahía, E. et al., 2001a y b y 2003, Gallego, L., 2012 y 2013). Los resultados obtenidos han mostrado que los robles españoles presentan características intermedias entre el roble americano y los robles franceses, con una calidad enológica adecuada para la crianza de los vinos (Fernández, B. et al., 2003), y pueden entrar a competir con otros robles (Sánchez, M., 2007).

### III.5.2. Procesado de la madera y fabricación de las barricas.

La técnica del procesado de la madera para la fabricación de las barricas viene determinada por el corte de la madera, secado, curvado y tostado de las duelas y formación de la barrica, todos ellos aspectos que definen las propiedades que transfieren a los vinos que envejecen, pero para entender mejor su influencia a continuación se ha descrito brevemente su proceso constructivo.

La primera característica a tener en cuenta es el **corte de la madera**, que por la diferente morfología interna de los robles europeos y americanos, marcan la técnica de corte a aplicar para obtener las duelas y su incidencia sobre la porosidad de la madera. Los vasos internos del roble americano están recubiertos por tilos que obturan los vasos y los hace estancos, permitiendo que esta madera pueda cortarse mediante aserrado sin comprometer la estanqueidad de la barrica (Fernández, J.L. et al., 1999; Moutounet, M. et al., 1999). Sin embargo, el roble europeo se corta longitudinalmente por hendido para obtener las duelas con los radios medulares paralelos a la superficie de contacto con el vino. Este diferente proceso de corte tiene importantes repercusiones económicas, ya que el aserrado permite un

mejor aprovechamiento de la madera, siendo el rendimiento de barricas por metro cúbico muy superior con respecto al hendido, lo que justifica un precio menor de la barrica de roble americano. Para conseguir un metro cúbico de madera apta para barrica de madera de roble francés, se utilizan cinco metros cúbicos de tronco con corteza. Y es que el roble europeo ha de ser hendido en el sentido de la fibra del árbol, lo que conlleva una gran pérdida de madera. El roble americano por el contrario, se sierra sin atender al sentido de la fibra, por lo que es más aprovechable y por lo tanto, más barato. Este corte en aserrado realizado al roble americano lleva consigo la salida de sus resinas y la aportación directa de las características del roble al vino.

La segunda fase a tener en cuenta es el proceso de **acondicionamiento de la madera o secado** antes de la fabricación de la barrica. La madera de roble que se encuentra en el estado fresco después de cortar el árbol posee una humedad del 40 al 60 %. Después del corte, se utilizan dos tipos de secado, al aire y en secadero aunque en la actualidad la mayoría de los toneleros asocian ambas técnicas. El secado de modo natural se realiza a la intemperie y progresa a razón de 10 mm/año, por tanto se realiza en dos o tres años. Durante este proceso hay una cierta contracción de las fibras y se reduce la humedad. Sin embargo, en tonelería esta etapa supone mucho más que una deshidratación de la madera, se trata de una etapa de curado, lenta y compleja. Comporta una clara disminución del extracto seco, de la concentración en taninos elágicos y de las cumarinas; respecto del secado artificial por acción de la lluvia (Vivas, N. et al., 1996b), por su tendencia a la oxidación (Chatonnet, P. et al., 1994), por procesos de polimerización y precipitación de elagitaninos oligoméricos, por una gran actividad microbiológica (Hale, M. H. et al. 1999), también por actividad enzimática de naturaleza fúngica (Vivas, N., 1997a), que además degrada y/o transforma sustancias que contribuyen a caracterizar la madera y repercutir en la calidad del producto, ya que aquello que la madera puede ceder al vino durante la crianza depende en gran medida del desarrollo de este proceso (Vivas, N. et al., 1991). También la lignina es parcialmente degradada conduciendo a la aparición de vanilina y siringaldehído en estado de trazas. La degradación afecta a las unidades monómeras terminales implicando la aparición de compuestos de tipo hidroxicinámico. La ruptura de la doble unión en alfa-beta conduce a la aparición de aldehídos benzoicos. Aunque, comparados con la degradación que sufre la lignina al calor, ésta es minoritaria (Puech, J. L. et al., 2000).

El secado artificial se hace manteniendo las duelas de roble durante un mes en una estufa ventilada, a una temperatura entre 40 y 60 °C. Esta técnica permite limitar el tiempo de secado sin alterar las cualidades mecánicas de la madera. Sin embargo, el secado de la madera debe ser progresivo, para evitar la aparición de grietas de contracción. Comprende periodos de crianza más o menos largos, entrecortados con periodos de estabilización al abrigo pero ventilado (Ribéreau-Gayon, P. et al., 1998). Su finalidad es una deshidratación de la madera hasta alcanzar la humedad adecuada para poder domar las duelas. Sin embargo, la reducción de humedad no va acompañada de las transformaciones producidas por los microorganismos, por lo que la madera será más rica en elagitaninos y aportará un carácter más resinoso y agresivo (Feuillat, M., 1982; Pontallier, P. et al., 1982; Radoux, H., 1994; Vivas, N. et al., 1996a).

En el proceso de **domado de la madera** se emplea la aportación de calor y humedad. Durante el tratamiento térmico que se realiza en la elaboración de las barricas, la parte interna de las duelas que la componen, debe someterse a un quemado y a una humidificación para, de esta manera, conseguir el doblado de las mismas sin que lleguen a partirse (Artajona, J., 1991). Se realiza después un segundo calentamiento sin humedad; el **tratamiento de tostado**; para favorecer la degradación térmica de la capa superficial, que es la que luego estará en contacto con el vino, y generar nuevos compuestos aromáticos (Chatonnet, P. et al., 1989a). Dependiendo de la intensidad del quemado y tiempo medio de tostado, se habla de tres tipos de quemado (Mosedale, R. et al., 1998). Aunque cada tonelería dispone de sus tiempos de tostado, de forma generalizada se puede definir como tostado ligero, cuando el quemado se realiza en un tiempo medio de 5-10 minutos tostado medio, cuando el quemado dura un tiempo medio de 10-15 minutos, y tostado fuerte, cuando se realiza en un tiempo medio de 15-20 minutos.

Ambas técnicas de domado y tostado se producen simultáneamente en tonelería tradicional aunque, se defina al proceso de tostado, al período destinado una vez que la barrica ha sido preformada o terminada su construcción. El modo más frecuente de realizar el cimbrado de barricas es mediante el quemado de madera; alimentada por los restos no utilizados. En combinación con la humedad, el calor actúa desde la combadura de la carcasa, facilitando la curvatura de la madera al ablandar la lignina. A continuación, el tostado puede prolongarse para provocar, con ayuda de un fuego a menudo más vivo y con una carcasa que puede estar cerrada total o parcialmente; una degradación térmica superficial de los componentes de la madera de roble. Esta degradación térmica afecta a los principales polímeros parietales de la madera, especialmente a las hemicelulosas y la lignina, para producir un gran número de productos de degradación (Chatonnet, P. et al., 1989a, Cutzach, I. et al., 1997). Algunos de estos compuestos son bien conocidos por ser capaces de afectar, a menudo positivamente, al gusto y el aroma de los vinos en contacto con la madera. Es por ello que se intenta modular simultáneamente la cantidad y la calidad de las aportaciones de la madera al vino jugando con la intensidad del tostado y tamaño de las barricas.

Durante el proceso de tostado, el fuego puede alcanzar una temperatura de 600 a 800 °C según la cantidad de madera y de oxígeno. La mayor parte del tostado de la barrica se efectúa mediante radiación térmica (infrarrojos), que tuesta rápidamente la superficie de la misma. Al final del ciclo, puede alcanzarse una temperatura superior a 230 °C. Al estar abierta la carcasa, gran parte del calor generado se disipa en la atmósfera. A continuación, el calor penetra lentamente en la madera, que se caracteriza por tener un reducido coeficiente de conducción térmica (a 15 mm de profundidad la temperatura apenas supera los 105 °C). La degradación térmica es limitada (< 6-8 mm) y graduada, con una cantidad y una naturaleza de sustancias extraíbles muy diferentes según el nivel de temperatura alcanzado desde la superficie hacia el interior de la duela. El método de tostado determinará por tanto, el perfil de sustancias extraíbles de termodegradación, de forma que será variable y podrá precisarse mediante análisis (Chatonnet, P. et al., 1993).

Con respecto al proceso en general llevado a cabo durante la aportación de calor a la madera; los robles liberan agua a 100 °C. La pérdida de sólidos empieza a 250 °C aumentando hasta una temperatura de 310 °C, llegando a doblarse a 360 °C. Alrededor de un 70 % del peso original se pierde a temperatura de 400 °C. La pirólisis de la hemicelulosa es completa a temperaturas entre 220 y 300 °C. La pirólisis de

celulosa ocurre a temperaturas más elevadas, entre 310 y 380 °C con oxidación de sólidos residuales entre 460 y 500 °C. La mayor o menor intensidad del quemado se realiza de una forma totalmente empírica caracterizando así el arte de cada maestro tonelero (Sarni, F. et al., 1990). La tabla 1 describe las temperaturas mínimas y máximas correspondientes a los diferentes calentamientos. En el transcurso de calentamiento fuerte, en el interior de la barrica se pueden alcanzar temperaturas superiores a 300 °C. Es de destacar que en Estados Unidos el cimbrado de las duelas se efectúa con vapor de agua, aunque muchas de las barricas elaboradas con roble americano son construidas en Europa.

**Tabla 1:** Temperatura y tiempo de calentamiento para cada intensidad de tostado (Puech, J. L. et al., 2000)

Fase	Duración (min.)	Temperatura °C		Características
		Mínima	Máxima	
Cimbrado	20-30	50	200	Elevación gradual de la temperatura
Tostado ligero	10	120	225	Caldeo superficial de las duelas
Tostado medio	10-15	120	275	Caldeo en profundidad de las duelas
Tostado fuerte	15-20	200	350	Exposición a fuertes temperaturas.

Después de la elaboración del casco de la barrica, las piezas de los fondos se unen entre sí. En general los fondos, que representan el 25 % de la superficie de la barrica, se calientan o no en función de las necesidades del enólogo (Puech, J. L. et al., 2000).

Cuando la lignina es sometida a la acción del fuego se degrada formando fenoles volátiles, aldehídos fenólicos (benzoicos y cinámicos) y fenilcetonas. La oxidación subsiguiente de estos aldehídos da lugar a ácidos aromáticos (Puech, J. L. et al., 1987). A 120 °C se forman los aldehídos fenólicos (Nishimura, K. et al., 1983) como la vanillina (4-hidroxi-3-metoxibenzaldehído), que influye directamente en el aroma de los vinos envejecidos en madera (Puech, J. L., 1987); el siringaldehído (hidroxy-3,4-dimetoxibenzaldehído), que también se le relaciona con el atributo de vainilla de los vinos (Chatonnet, P. et al., 1999). A temperaturas elevadas, próximas a 200 °C, la degradación de la lignina produce diversos fenoles volátiles y entre ellos los más destacados son el guayacol (o-metoxifenol), responsable del aroma a tostados en los vinos (Aiken, W. et al., 1984; Guymon, F. et al., 1972; Hale, H. et al., 1999), eugenol (2-metoxi-4-(2-propenil)-fenol) contribuyente al carácter especiado a clavo y a humo en vinos envejecidos en madera (Aiken, W. et al., 1984; Feuillat, F. et al., 1999). La sensibilidad de la lignina a la degradación térmica disminuye a temperaturas entre 220 °C- 230 °C, por lo que la formación de derivados fenólicos también se ve desfavorecida (Chatonnet, P. et al., 1989a).

Los polisacáridos, celulosa y hemicelulosa cuando sufren un tratamiento térmico, dan lugar a la formación de aldehídos furánicos. Concretamente, la glucosa de la celulosa origina 5-metilfurfural y 5-hidroximetilfurfural y las pentosas (arabinosa y xilosa) de la hemicelulosa son las responsables de la aparición del furfural (Guymon, F. et al., 1972; Onishi, M. et al., 1977; Chatonnet, P. et al., 1989a). Sefton, M. A. et al. (1993) descubrieron la presencia de furfural y alcohol furfúrico, derivados de guayacol (eugenol y vanillina) e isómeros cis y trans  $\beta$ -metil- $\gamma$ -octalactonas.

Según sea el tiempo y la intensidad del quemado al que haya sido sometido el roble, la cantidad de aldehídos furánicos extraíbles variará, siendo máxima durante el quemado de intensidad media y

disminuyendo en el quemado fuerte (Chatonnet, P. et al., 1989a). El furfural se forma en mayor cuantía y es el responsable de dar a las bebidas alcohólicas envejecidas en madera el carácter de fruto seco, especialmente a almendras tostadas (Spillman, P. J. et al., 1998; Sauvageot, F. et al., 1999; Chatonnet, P. et al., 1999).

Por tanto, la composición química condiciona de forma decisiva la calidad enológica de una madera, debido a los efectos directos o indirectos que tiene sobre las características sensoriales del vino desarrolladas o modificadas durante la crianza. El tostado tiene una influencia considerable en la composición polifenólica de la madera (polifenoles de bajo peso molecular y taninos), ya que las características químicas cuantitativas y cualitativas están fuertemente relacionadas con la intensidad y las condiciones del tostado. Las características particulares de cada especie también pueden determinar dicha composición polifenólica y a veces, la magnitud de las modificaciones durante el proceso de tostado (Cadahía, E. et al., 2002). Si se comparan datos obtenidos en las maderas tostadas respecto de las no tostadas, se deduce un incremento de las concentraciones de la mayoría de los compuestos fenólicos. En condiciones de tostado medio se tienen concentraciones de aldehídos y ácidos fenólicos, pero sin la formación de compuestos de tipo característicos de maderas muy quemadas. En maderas tostadas o sin tostar se encuentran elagitaninos, siendo los monómeros más abundantes. Una de las obsesiones de los enólogos es que, una vez definido un estilo de crianza, el tonelero sea capaz de reproducir la forma de elaboración de la barrica cuantas veces sea necesaria, por eso la tonelería como Radoux ha desarrollado un sistema de clasificación de la madera, basado en la lectura por infrarrojos de cada duela, midiendo el nivel de fenoles totales (directamente relacionado con el contenido en elagitaninos) y por tanto, su potencial de comunicación tánica al vino. Sin embargo, el proceso de tostado a intensidad media, supone reducciones en las concentraciones de los elagitaninos. Por tanto, esta degradación térmica llevará consigo la liberación de los ácidos gálico y elágico (Cadahía, E. et al., 2004) y generará compuestos con gran incidencia organoléptica en el vino; aldehídos furánicos, aldehídos fenólicos, lactonas, fenoles volátiles y taninos de los ácidos gálico y elágico (Martínez, J. et al., 1997). Además, estos ácidos son importantes por su participación en la estabilización fenólica de los vinos durante la crianza, ya que pueden actuar como copigmentos (Mazza, G. et al., 1990) y como protectores de la oxidación de los antocianos (Vivas, N. et al., 1996a).

### **III.5.3. Sustancias que el vino es capaz de extraer de la madera y su incidencia**

Entre los compuestos cedidos por la madera se encuentran dos principales grupos de compuestos interesantes desde el punto de vista organoléptico, el grupo de los compuestos fenólicos y el grupo de los compuestos volátiles (Fernández, I. et al., 1999). La extracción de los compuestos procedentes de la madera depende de la cantidad de compuestos que originalmente están presentes en una barrica nueva potencialmente extraíbles, y otros factores como el tiempo de contacto entre el sustrato sometido a envejecimiento y la madera (Garde, T. et al., 2002). Sin embargo, los factores que afectan el contenido de extracción del roble son la especie y el origen geográfico de la madera (Chatonnet, P., 1991), el tostado de las barricas (Chatonnet, P. et al., 1989a) y la edad de las mismas (Chatonnet, P., 1991). Los compuestos volátiles que han sido identificados en madera de roble no tostada (Nishimura, K. et al., 1983; Chatonnet, P., 1991) son extraídos de la madera en cantidades poco significativas (Chatonnet, P.,

1991; Sefton, M. et al., 1993), aunque su efecto sobre las características organolépticas marca importantes diferencias.

Entre los **componentes fenólicos** extraídos de la madera destacan los aldehídos fenólicos (vanillina y siringaldehído), ácidos fenólicos (ácido gálico y elágico, p-cumárico y caféico, protocatéquico, vanilínico y p-hidroxibenzoico), estilbenos, aldehídos furánicos, eugenol, derivados del guayacol y los isómeros cis y trans de la  $\beta$ -metil- $\gamma$ -octolactona comúnmente conocidas como whiskylactonas. (Morales, M. L. et al., 2001). Taninos gálicos (trigalil-glucosa y pentagalil-glucosa) y elágicos (castalagina y roburina D), cumarinas (escopetina y aesculina) y flavanoles como (+)-catequina y su dímero B<sub>3</sub>. Gran parte de las moléculas que son cedidas por el roble a la madera se producen o degradan durante el proceso de tostado, aumentando los niveles de algunos compuestos en roble tostado (Chatonnet, P. et al., 1989a). Como ya se ha indicado con anterioridad, este proceso tiene una gran influencia en la composición polifenólica final de la madera, ya que las características químicas cuantitativas y cualitativas están fuertemente relacionadas con la intensidad y las condiciones del tostado (Cadahia, E. et al., 2002). Tales compuestos aportados por la madera reaccionan con los presentes en el vino dando lugar a una modificación en la concentración final de los mismos.

Además de la degradación de la lignina que se produce por el tostado y quemado (termólisis) hay que considerar la debida a la hidrólisis producida por etanol (alcohólisis) y agua durante el contacto. Para barricas muy usadas, la hidrólisis resulta ser la vía principal de cesión de sustancias a partir de la lignina. A lo largo del envejecimiento, la lignina es parcialmente degradada por una hidroalcohólisis a temperatura ambiente, con formación de los compuestos monómeros correspondientes, asociados al desarrollo de aroma a madera de todos los compuestos que se incorporan al vino, el más importante sin duda es la **vanillina**, que por su volatilidad contribuye al aroma de los vinos y su concentración puede verse incrementada por el calentamiento de la madera. La acidez del medio, al que se añade un proceso de hidrólisis que libera ácido acético a partir de los xilanos de la madera, refuerza esta acidez y cataliza la degradación de las macromoléculas (Puech, J. L. et al., 2000). Los primeros autores capaces de aislar compuestos fenólicos de la madera fueron Puech, J. L. et al., (1988) quienes detectaron que los extractos de madera de roble contienen ácidos vanilínico y siringico, así como sinapaldehído, coniferaldehído y siringaldehído (Puech., J. L., 1981). Kepner, R.E. et al., (1972) demostró la presencia de eugenol en la madera de roble, procedente también de la degradación; o incluso como producto de la biosíntesis, de la lignina (Nishimura, K. et al., 1983; Chatonnet, P. et al., 1989b).

La procedencia de las **cumarinas** en forma de heterósido se debe a la madera, no así la forma aglicona que procede de la hidrólisis de aquellas por acción de la enzima cumarina que tiene lugar durante el proceso de secado (Puech, J. L. et al., 1988). En la madera de roble fresca se encuentran mayoritariamente como heterósidos, los cuales son muy amargos (Vivas, N et al., 1991; Vivas, N. et al., 1995). Por otra parte, se han detectado cantidades de cumarinas en aguardientes de Cognac (Joseph, E. et al., 1972). El contenido en cumarinas es característico de todas las bebidas sometidas a un envejecimiento, ya que tienen su punto de partida en la madera (Otsuka, I. et al., 1974). La escopetina es la más abundante de las cumarinas (esculetina, umbeliferona y  $\beta$ -metilumbeliferona) siendo más



abundante en la madera de roble americano que en la madera de origen europeo (Puech, J. L. et al., 1988).

Además de derivados de la degradación de lignina y en menor medida de celulosa y hemicelulosa, la madera de roble contiene aproximadamente un 10 % de fenoles extraíbles, esencialmente elagitaninos (Scalbert, A. et al., 1988; Scalbert, A. et al., 1989), y en menor proporción galotaninos. Los **elagitaninos** se extraen fácilmente del polvo de la madera en disoluciones agua-alcohol o agua-acetona, son solubles en agua y menos solubles en alcohol puro, aunque la solubilización de los fragmentos de la estructura de lignina requiere la ruptura de los enlaces covalentes, un proceso lento que hace que la liberación de elagitaninos se alargue durante todo el proceso de envejecimiento, aunque la mayoría de los elagitaninos son extraídos en el primer año. Scalbert, A. (1991) estudiaron los elagitaninos que se extraen de la madera de roble durante la fase inicial del envejecimiento de las bebidas alcohólicas, identificando los compuestos principales como, castalagina, vescalagina, roburina E y el dímero de roburinas A-D. Además de solubilizarse rápidamente durante los primeros años de envejecimiento, simultáneamente se degradan a ácido elágico (Viro, C. et al., 1994), incrementando el contenido de este ácido en el vino (Sarni, F. et al., 1990; Puech, J. L. et al., 1992). Este incremento de ácido elágico se debe a que en medio ácido o básico, los enlaces éster se hidrolizan y el ácido hexahidroxidifénico se reorganiza transformándose espontáneamente en ácido elágico, insoluble en agua. Este efecto de hidrólisis en medio ácido debido a los taninos elágicos hace que la sensación de estructura que producen estos compuestos sobre el vino desaparezca a lo largo del tiempo. El **ácido elágico** es por tanto, un constituyente común en vinos envejecidos en madera, estando presente en vinos que envejecen en madera nueva, pudiendo llegar a alcanzar los 50 mg/L (Viro, C. et al., 1994; Laszlavik, M. et al., 1995; Clifford, N. et al., 2000).

Estudios realizados por Fang, F. et al. (2007) en un vino envejecido en barricas de tres orígenes de madera diferentes durante 135 días detectaron la presencia de **galotaninos** en el vino demostrando que la cesión de estos compuestos al vino es progresiva y dependiente del compuesto cedente. La concentración de miricetin, luteolin, quercetin y kaempferol se vio reducida durante el envejecimiento debido a la combinación de un azúcar y las agliconas del flavanol para formar glucósidos de flavanol (Hertog, L., et al., 1996). Cuantos más glucósidos de flavanol se forman, éstos mismos son hidrolizados a sus formas agliconas (Somers, C., 1971) lo que explica que la concentración de flavonoles varía durante el envejecimiento. El aumento en la concentración de isorhamnetin (4-methoxy-quercetin) después de un tiempo de envejecimiento del vino en barricas de roble, se debe a la transformación de la quercetina en isorhamnetin, produciendo un gran impacto en las reacciones redox ocurridas en el vino. Destacando además que el compuesto galanín no se detecta en los vinos hasta un abundante período de envejecimiento, lo que confirma que el origen de este compuesto es proveniente de la madera o sus combinaciones con el vino (Fang, F. et al., 2007).

Entre los **compuestos volátiles** procedentes de la madera se han distinguido el grupo de los furanos (furfural, metilfurfural, hidroximetilfurfural, alcohol furfúrico) y otros heterociclos volátiles (maltol, dimetilpirazinas), fenilcetonas (acetofenona, acetovainillona, propiovainillona, butirivainillona), fenoles volátiles (guayacol, metil-guayacol, etil-guayacol, eugenol, etil-4-fenol) y  $\beta$ -metil- $\gamma$ -octolactona con sus isómeros cis y trans.

Dado que el tema tratado en esta tesis no se centra en los compuestos volátiles, simplemente comentar la importancia de la cesión de las wiskylactonas de la madera por su gran influencia en el aroma de los vinos. El origen de las  **$\beta$ -metil- $\gamma$ -octolactonas** procedentes de la degradación térmica de los lípidos del roble, parece tener dos posibles mecanismos de acción, ambos originados durante el tostado de las duelas (Mosedale, R. et al., 1999; Zamora, F., 2003b). Los isómeros cis y trans  $\beta$ -metil- $\gamma$ -octalactona, comúnmente conocidos como wiskylactonas fueron descubiertos en el bourbon (Suomalainen, H. et al., 1970). Son las responsables del aroma a madera y a coco (Chatonnet, P., 1995; Boidron, N. et al., 1988; Pollnitz, P. et al., 1999 y Pérez, S. et al., 1999). Presenta bajos umbrales de percepción 92  $\mu$ gr/L para el isómero cis y 460  $\mu$ gr/L para el isómero trans, sin embargo, están entre los compuestos volátiles más importantes que contribuyen al flavor de bebidas envejecidas en madera. Chatonnet P. et al., (1989b) y Maga, J. A. (1989) determinaron que la concentración de estos compuestos está en función del origen de la madera empleada y su concentración puede verse incrementada por el tostado, sin embargo estudios posteriores realizados por Pérez, S. et al (1999) y Waterhouse, L. (1994) demostraron que el calentamiento y carbonizado de la madera parece no afectar el ratio de los dos isómeros y consecuentemente este ratio podría ser usado como índice para identificar maderas de diferentes especies y diferente origen geográfico.

Parte del origen del **ácido acético** se encuentra en la propia estructura de la hemicelulosa. Algunas unidades de xilosa de las hemicelulosas, presentan grupos acetilo los cuales pueden dar lugar a la formación de ácido acético libre, mediante hidrólisis, durante el tostado de las duelas. También se produce una parcial termólisis de la lignina, lo que provoca la liberación de los extremos terminales, dando lugar a la aparición en el medio de aldehídos fenoles y fenil cetonas.

A continuación se presenta una descripción de las principales sustancias susceptibles de ser liberadas por la madera de roble al vino y que participan activamente en la incidencia organoléptica que sobre el vino tendrá la cesión de estos compuestos.

#### **III.5.4. Incidencia organoléptica sobre el vino de las sustancias extraídas de la madera**

Dentro de los ácidos y aldehídos fenoles, destaca por su gran importancia la vanillina, que es la principal sustancia responsable de un perfume intenso a vainilla natural que caracteriza a muchos vinos de crianza (Boidron, J.N. et al., 1988; Sefton, A. et al., 1993; Spillman, P. J. et al., 1998; Feuillat, M., 1999) y aunque la vanillina esté en menor concentración que el resto de los ácidos y aldehídos, al ser el umbral de detección menor, su contribución a las características sensoriales es notable. Los umbrales de estas sustancias en disolución hidroalcohólica del 10 % son de 0,5 mg/L para la vanillina, de 25 mg/L para el siringaldehído, ácido vanilínico y ácido siringico y de 80 mg/L para el sinapaldihído (Singleton, V. L., 1995).

Los furanos presentes en el vino de crianza, son los responsables de los aromas característicos a almendras frescas y tostadas. El maltol y otros heterociclos oxigenados otorgan los aromas de caramelo y notas de tostado que también caracterizan a los vinos. Las dimetilpirazinas, con notas de cacao,

avellanas, pan tostado y café serán los responsables de la presencia de estos aromas en los vinos de crianza.

Los fenoles volátiles participan en el aroma del vino de forma variada; aportan olores a tostado, a madera quemada, a clavel, a tinta, a clavo de especia y en función de su concentración y tipo pueden aportar un desagradable olor animal o cuero. Las  $\beta$ -metil- $\gamma$ -octolactonas, confieren un olor a nuez de coco característico en los vinos, ya comentado anteriormente.

Para los ácidos fenólicos, el ácido gálico participa de la sensación ácida del vino mientras que el ácido elágico puede considerarse bastante neutro desde el punto de vista organoléptico. El eugenol tiene un aroma a clavo y su concentración puede aumentar en función del nivel de tostado (medio o fuerte) cuando las barricas son quemadas.

Los taninos gálicos presentan sabor ácido, ligeramente astringente y muy amargo. Los taninos elágicos participan principalmente en la sensación de astringencia, de forma que un cierto aporte de tanino elágico puede reforzar la estructura del vino, pero un exceso de ellos provocará un rechazo por su excesiva astringencia, pero su participación importante destaca sobre la evolución del color en el vino por su efecto protector de la oxidación de los antocianos.

Los flavanoles (catequinas y procianidinas) aportados por la madera participan en la sensación de amargor y especialmente de astringencia, aunque el vino tinto ya posee concentraciones elevadas en dichos compuestos así que la contribución de la madera en este sentido puede ser despreciable (Zamora, F., 2003a).

### III.6. ENVEJECIMIENTO DEL VINO EN BOTELLA

Una vez finalizado el proceso de envejecimiento en bodega el vino necesita una última antes del consumo del vino, que se desarrolla en un medio reductor (ausencia de oxígeno), la botella. Las modificaciones químicas que se producen en ausencia de oxígeno completarán, las características adquiridas durante la crianza oxidativa. En estas condiciones se pueden dar fenómenos como la hidrólisis de las proantocianidinas, formando carbocationes que pueden reaccionar con otras moléculas de proantocianidinas, dando lugar a polímeros de mayor peso molecular (polimerización tanino-tanino), o con los antocianos bajo la forma carbinol (AOH) (condensación tanino-antociano).

Los vinos antes de ser embotellados deben reunir una serie de condiciones que aseguren su estabilidad microbiológica y fisicoquímica, para conservar sus cualidades organolépticas durante el mayor tiempo posible. Esto condiciona los tratamientos previos al embotellado, de forma que inicialmente los vinos se someterán a diferentes procesos de estabilización con el fin de asegurar la limpidez y estabilidad del vino en el tiempo. Entre estos tratamientos destacan las estabilizaciones tartáricas, proteicas y de la materia colorante.

Posteriormente, e inmediatamente después del embotellado, los vinos se someten al taponado, con el objetivo de conservar las condiciones de estabilidad adquiridas anteriormente. En esta última fase será importante el tipo de tapón utilizado. El vidrio es el envase utilizado tradicionalmente, y su éxito se debe, además de a ser un material inerte y puro a su cualidad estética, es posible tenerlo en diferentes formas. Finalmente, una vez embotellado, el vino continúa evolucionando durante su conservación, modificándose su color, sabor y aroma. Durante el periodo de botella el vino pasa por tres fases: una fase de maduración, una fase de plenitud y por último una fase de declive (Dubourdieu, D., 1992). Durante la primera fase el vino aumenta su calidad sensorial, alcanzando su máximo nivel en la fase de plenitud, y perdiendo las características que definieron su calidad en la fase de declive.

El añejamiento en botella corresponde a una evolución del vino en estado de reducción hacia una calidad organoléptica superior a la que poseía inicialmente. Además de la modificación del color, corresponde a un aumento de complejidad y de la sutileza de los olores y de los sabores. El tiempo necesario para obtener ese punto óptimo varía mucho en función del tipo de vino y puede ser de algunos años a varias décadas (Del Álamo, M. et al. 2000c).

### **III.7. SISTEMAS ALTERNATIVOS AL ENVEJECIMIENTO EN BARRICA**

Las intervenciones del enólogo para dirigir el envejecimiento son muy diversas, puede limitarse a establecer las mejores condiciones de temperatura, de aireación y de conservación, con el fin de que las transformaciones naturales se produzcan en las mejores condiciones y puede también, conociendo los procesos de envejecimientos y sus factores principales, acelerar esas condiciones y ampliar los fenómenos para conseguir el mismo resultado de modo más rápido. En general, el envejecimiento por el sistema tradicional supone unos enormes costes económicos. Con el fin de reducir los costes de infraestructuras y materiales se han desarrollado métodos de envejecimiento acelerado que van desde la aplicación de calor, frío, e incluso temperatura de congelación o borboteo de oxígeno (Krolenko, L. et al., 1981) o ambos simultáneamente. Sin embargo, la técnica que se ha usado con más éxito ha sido emplear extractos de madera de roble (Puech, J. L., 1987; Puech, J. L. et al., 1992). Dichos extractos se han preparado mediante cocción, infusión, percolación y maceración (Mangas et al., 1996) de la madera que puede o no haber sido sometida previamente a tratamientos físicos (como ultrasonido, presiones elevadas o tratamiento térmico) o químico (con ácidos o bases).

El proceso de envejecimiento acelerado de vinos más extendido es el uso de sistemas alternativos que consiste en la adición de madera al vino para que adquiera ciertas propiedades que recuerden al vino envejecido en barrica. Habitualmente se emplean trozos de madera de diferentes tipos (origen de madera, tamaño, tostado...) junto a sistemas que dosifican pequeñas cantidades de oxígeno simulando así el proceso de envejecimiento en barricas. Los estudios sobre el empleo de estos productos para el envejecimiento de vinos comenzaron con Singleton (1961, 1971)] y posteriormente diferentes autores han evaluado los efectos en los vinos de la adición de estos productos, en especial de las astillas. Monedero L. et al., (1999) estudiaron la forma de obtener extractos con un contenido en fenoles similar al de vinos olorosos, para ello ensayaron distintos procedimientos de quemado de la madera controlando la temperatura y el tiempo. De once compuestos fenólicos ensayados (ácidos gálico, protocatéquico, p-

hidroxibenzoico, siríngico, vanilínico, caféico, p-cumárico y ferúlico, siringaldehído, vanillina y sinapaldehído), sólo el ácido gálico estaba influenciado por la temperatura. Por otra parte, se puso de manifiesto que los macerados elaborados con astillas tostadas a 180 °C durante 3 horas eran los que tenían una composición fenólica más parecida a las muestras comerciales de oloroso.

Es evidente que el proceso de envejecimiento en barricas de roble es largo y costoso, aunque las barricas no son indispensables para obtener un sabor a roble; lo fundamental es la presencia de madera. Por esta razón los elaboradores han buscado siempre alternativas que logren estabilizar la materia colorante y suavicen la astringencia además de aportar aromas que complementen y aporten complejidad al vino. A nivel gustativo, se ha tratado de disminuir las notas vegetales e intensidad tánica y aumentar el volumen. Sin embargo, los resultados obtenidos con el empleo de elementos alternativos al uso de la barrica inicialmente no obtuvieron los resultados esperados. Así, Piracci, A. et al. (2001a, b) observaron que el vino en contacto con astillas de roble, tanto en el proceso de vinificación como en la conservación de los mismos, frente al empleo de barricas, se obtenían resultados de inferior calidad en el vino analizado. El estudio de la evolución de los polifenoles de bajo peso molecular (Del Álamo, M. et al., 2004b, Aratpisas, P. et al., 2004) y antocianos (Del Álamo, et al., 2004a) de un vino tinto en contacto con diversos sistemas (barricas, astillas y tablonos de roble) demostraron que el vino envejecido con astillas experimenta una evolución más rápida y un mayor número de polimerizaciones que el vino envejecido en barrica, acelerando el proceso evolutivo.

Pero buscando la mayor similitud de un vino envejecido en barrica de roble, principalmente en lo que respecta a las interacciones de los compuestos fenólicos y su conservación en el vino a lo largo del tiempo, se ha recurrido a tratamientos basados en la incorporación de trozos de madera (astillas, tablonos) y la adición de pequeñas dosis de oxígeno (microoxigenación) almacenando el vino en depósitos de acero inoxidable. La gran ventaja del empleo de trozos de madera es que se introducen al vino y no el vino en la madera por tanto, el área superficial aportada por los trozos de madera es prácticamente utilizable en su totalidad y no apenas el 40 % de ella, como ocurre en las barricas (Stutz, T. et al., 1999) y el aporte de oxígeno artificialmente imita la entrada natural a través de la madera. Lo que explicaría por qué este sistema es uno de los más demandados hoy en día en el sector enológico. Sin embargo, existe en la actualidad un gran número de parámetros difíciles de controlar hasta el momento, que afectan significativamente en la calidad del producto alternativo a emplear y en los objetivos buscados con la incorporación de esa madera y oxígeno al vino. Repasar la bibliografía hasta el momento del proceso de obtención de los fragmentos de madera ayuda a actuar sobre los resultados que se pretenden obtener en el vino final.

### **III.7.1. Fragmentos de roble en el vino**

El empleo de trozos de madera de roble para conseguir que el vino alcance algunas de las propiedades de los vinos envejecidos en barricas de roble, ha hecho que en el mercado se encuentren distintos productos que pretenden abaratar el precio del envejecimiento. Los primeros intentos se realizaron con vinos envejecidos artificialmente mediante la adición de sustancias químicas que liberaba la madera, pero los resultados mostraron unos vinos con una calidad muy limitada, otra propuesta con mayor éxito fue el empleo de astillas de madera de roble en recipientes de acero inoxidable con una tecnología capaz de

permitir el control de diversos factores tecnológicos (Bermúdez, J., 2002). Actualmente el mercado dispone de sistemas alternativos a las barricas de roble con diferentes formatos de madera de roble ubicados en depósitos de acero inoxidable u hormigón o incorporados a barricas de varios usos que permitan en ambos casos acortar el tiempo de envejecimiento y por tanto el coste del proceso (Del Álamo, M. et. al., 2002).

Las posibilidades existentes en el mercado son muy amplias. Se comercializan de distintas formas: las conocidas como virutas o astillas oak chips, las porciones de madera cortadas formando cubos llamados oak cubes u oak beans, también se comercializa 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 en pedazos cuadrados oak blocks o segments (Del Álamo, M., 2006) (figura 17), y los tablones, bastones o duelas de madera llamados staves. Podemos introducir duelas en depósitos de acero inoxidable, se puede alargar la vida de las barricas usadas añadiendo en su interior nuevas duelas, si bien la posibilidad más ampliamente utilizada es la utilización de astillas de roble en el interior de depósitos. Podemos elegir astillas de roble francés, europeo, sin tostar o bien tostadas a diferentes grados (Zamora, F., 2003b). Los últimos procesos experimentales existentes en el mercado son el empleo de bolsas de astillas que permiten la incorporación de las mismas a las barricas usadas introduciéndolas por la boca de la barrica y permitiendo así el infusiónado de las mismas, alargando la vida útil de la barrica, ya que la madera nueva aporta elementos estructurales y aromáticos indispensables en la elaboración de grandes vinos, elementos que se deben aportar para conseguir una crianza óptima, compensando así parcialmente el efecto de contacto de un vino con una barrica en su momento óptimo. En cualquier caso, las características buscadas en la aplicación de fragmentos de madera son tanto por su efecto estructurante (favorecer reacciones entre taninos y antocianos) y su estabilidad en el color, como sus aportes de aromas y sabores a madera.

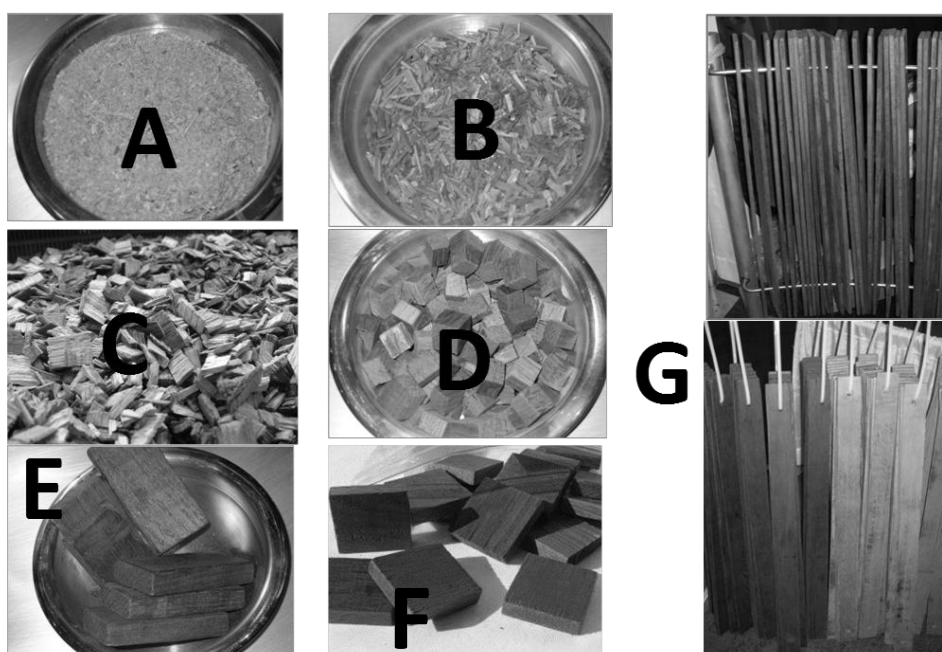


Figura 17: Productos alternativos: polvo (A), granulado (B), astillas (C), dados (D), dominoes (E), bloques (F), tablones (G)

### III.7.2. Influencia del origen botánico y geográfico del roble

Al igual que en la técnica de obtención de las barricas de roble debe cumplirse; para la fabricación de los productos alternativos; que la madera empleada como materia prima sea siempre de roble (*Quercus sp.*), tanto de origen europeo entre los que se emplean especies como *Quercus petraea*, *Quercus robur* y *Quercus pyrenaica*, como de origen americano, *Quercus alba*. Las diferentes condiciones climáticas y edáficas, unidas a las distintas especies cultivadas en cada zona, dan lugar a variaciones en la composición de la madera de roble, siendo por ello, el origen geográfico una de las variables determinantes de los caracteres sensoriales de los vinos, teniendo en cuenta que en los fragmentos de madera la extracción de los compuestos es más rápida y por tanto, los caracteres del origen del roble se verán acentuados en un corto período de contacto entre el vino y la madera.

De manera generalizada, los fragmentos de roble americano proporcionan mayor incidencia aromática en el vino con aportación de compuestos como las whiskylactonas (olor a coco, madera, tostado...), presentes en dos formas isoméricas (cis y trans). Son más delicados de usar que los robles europeos y es imprescindible que sean objeto de un seguimiento regular y riguroso por su rápido impacto sobre el perfil organoléptico de los vinos que puede conducir a excesos, destacando aromas de la madera tipo savia y torrefactos demasiado intensos, volumen importante del ataque en boca y después una sequedad fuerte. En los fragmentos de robles europeos se debe tener en cuenta el carácter tánico que comunican a los vinos, por su extracción en taninos elágicos, lo que podría acentuar en exceso el carácter a tablón o exceso de astringencia.

Numerosos trabajos han permitido caracterizar con precisión las diferencias de composición en sustancias extraíbles de las principales especies de roble utilizadas en tonelería (Feuillat, M., 1982; Pontallier, P. et al., 1982; Francis, L. et al., 1992 y Sefton, M. et al., 1993) y en el sector de alternativos. El roble europeo *Quercus petraea* posee de dos a tres veces menos  $\beta$ -metil  $\gamma$ -octolactona que el *Quercus alba* americano, pero de cinco a diez veces más que el *Quercus robur* europeo, el menos rico en aromas. En cambio, el roble *Quercus robur* contiene alrededor de un 30 a 50 % más de taninos extraíbles (en forma de taninos elágicos) que el roble *Quercus petraea*, que a su vez contiene casi dos veces más que el roble americano (tabla 2).

**Tabla 2:** Influencia del origen botánico del roble sobre la composición de sustancias extraíbles (Chatonnet, P., 1995)

Sustancias extraíbles	<i>Q. petraea</i>	<i>Q. robur</i>	<i>Q. alba</i>
Extraíbles totales (mg/g)	90 (15)	140 (7)	57 (34)
Elagitaninos (mg/g)	8 (1,4)	15 (1,5)	6 (2,6)
Catequinas (mg/g)	0,3 (0,003)	0,45 (0,008)	0,45 (0,11)
Metil-octalactonas <i>cis+tran</i> ( $\mu$ g/g)	77 (24)	16 (15)	158 (27)
Eugenol ( $\mu$ g/g)	8 (2)	2 (1,5)	4 (1,5)
Vanillina ( $\mu$ g/g)	8 (3)	6 (2,5)	11 (5,5)

Compuestos extraíbles en solución hidroalcohólica a 12 % Vol.

Quedaría definido por tanto, que la elección de la procedencia botánica del roble influye en la composición de las sustancias susceptibles de pasar al vino. Además, se debe tener en cuenta que la procedencia geográfica de los robles, la densidad alta o baja del bosque y la edad de los árboles en el momento de la tala tienen una influencia importante en los fragmentos de madera a utilizar en los vinos. No obstante, dadas las dificultades con que topa la tonelería tradicional a la hora de seleccionar perfectamente las maderas y teniendo en cuenta que la gran mayoría de la madera empleada en la fabricación de productos, hasta el momento procedía de residuos de tonelería, sería falso afirmar que los fabricantes siempre han tenido en cuenta por un lado, las especies y por otro, las regiones o los tipos de bosque. En consecuencia, se han ido mejorando estos aspectos que ayudan a diferenciar correctamente el producto alternativo buscado.

### **III.7.3. Proceso de fabricación de productos alternativos a la barrica de roble**

Los primeros años de uso de los fragmentos de roble, la mayor parte de la madera que se dedicaba a la obtención de productos alternativos para envejecimiento de vinos, era la de aquellas duelas que, al finalizar el proceso de secado, eran desechadas para el tostado por presentar algún defecto (nudos, pequeñas grietas, etc.). Así como el duramen alrededor de los cuartos que no permitía obtener un tamaño adecuado de duela para la obtención de una barrica. Se ha usado siempre y cuando se efectuaba una separación correcta de la madera de la zona de albura y la corteza, que presentan composiciones susceptibles de comunicar gustos desagradables. También se han empleado las cuñas y trozos desechados después de cortar las duelas, incluso ante la gran demanda surgida en el uso de estos fragmentos, también se comenzó a utilizar el duramen de árboles de pequeño diámetro abatidos en los tratamientos selvícolas.

Sin embargo, la producción de fragmentos de roble responde en la actualidad a unas exigencias técnicas más estrictas que las anteriormente mencionadas. Pasando de ser subproductos de la fabricación de barricas, recogidos, tostados y envasados, a aparecer como elementos cualitativos de la vinificación, elaborados expresamente desde una selección precisa de la materia prima, pasando por un curado natural controlado de la madera, y técnicas de triturado y tostado puestas a punto con objetivos técnicos bien concretos. La investigación desarrollada en colaboración entre los productores y los centros de investigación están permitiendo también elaborar productos con unas garantías óptimas de seguridad técnica y alimenticia, con un control preciso de los niveles de compuestos organoclorados (tricloroanisoles, bromoanisoles) y benzopirenos. Estos factores de calidad de los fragmentos de roble pueden ayudar a obtener perfiles muy similares a los proporcionados por las barricas.

### **III.7.4. Importancia de las condiciones de secado y maduración**

Inmediatamente tras su tala, es imposible transformar la madera de roble en duelas destinadas a la fabricación de barricas o a la elaboración de fragmentos de buena calidad. Como ya se ha comentado en el apartado III.5.2., en esta etapa la madera contiene una gran cantidad de agua (hasta un 70 %), muchos compuestos polifenólicos de gusto amargo (exceso de elagitaninos, cumarinos...) y muy pocos compuestos aromáticos interesantes. Es absolutamente necesario secar la madera para transformarla.



Tradicionalmente, las piezas de madera destinadas a tonelería de calidad se depositan al aire libre durante varios años para que pierdan el agua, pero sobre todo para que tenga lugar un conjunto de reacciones físico-químicas indispensables para afinar su calidad. Durante este período, denominado de maduración, la madera pierde el exceso de compuestos tánicos desagradables, estabiliza sus dimensiones y desarrolla enormemente su potencial aromático, especialmente por la transformación de precursores de aromas hasta entonces inodoros, como es el caso de las cis  $\beta$ -metil  $\gamma$ -octolactona (Chatonnet, P. et al. 1992).

Este proceso debería ser válido para la madera destinada a la fabricación de fragmentos de roble de buena calidad. Se debe respetar por un lado un tiempo de secado suficiente (más de doce meses) y apilar las piezas de madera de manera para que se optimicen los intercambios entre madera y atmósfera. En el caso de las piezas nobles de tonelería, normalmente se utiliza un apilado cruzado y abierto para facilitar la circulación de aire. Por lo que respecta a los productos alternativos, sin embargo, en una gran mayoría de los casos se observa un almacenamiento en fardos, con las piezas literalmente pegadas unas a otras; lo que produce un secado desigual en las piezas en contacto unas con otras. Por tanto, para afinar perfectamente la madera antes de su transformación se hace indispensable utilizar un modo de apilamiento adecuado durante un tiempo de maduración suficiente (Chatonnet, P., 2007).

### **III.7.5. Proceso de cortado de los fragmentos para la obtención del tamaño final.**

Es la técnica de obtención de los fragmentos de madera de roble donde se ha realizado la mayor mejoría en la obtención de fragmentos de madera, hasta el punto de ser elaborados con la misma madera que la elaboración de las barricas es decir, madera de duramen de alta calidad, sin ramificaciones ni corteza. Aunque se aumenta el peligro de contaminación del producto durante el triturado, ya que 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 el proceso de microoxigenación, aspecto que debe ser controlado en el proceso de corte.

La dimensión de los fragmentos, sea cual sea su finalidad se deben cortar de manera que mantengan una forma homogénea, debido a que las partículas grandes y pequeñas no evolucionan de la misma manera durante su contacto con el vino, por ello las astillas deben triturarse de manera regular y deben someterse a un correcto tamizado. Ya que el tamaño de las astillas constituyen otras fuentes de variación en el proceso, se debe tener en cuenta que el modo de corte de las astillas se realiza por aserrado, por lo que la efectividad de la cesión de componentes es mayor que en los tablonces que se obtienen por hendido, y esto puede condicionar la evolución del contenido de elagitaninos, entre otros compuestos, o incluso podría llegarse a su degradación total durante el tostado, así como la formación de mayores cantidades de fenoles simples provenientes de la degradación de la lignina durante este proceso, siendo de gran importancia el tipo de corte aplicado en la fase de tostado y de cesión de compuestos al vino en la primera fase del envejecimiento.

### III.7.6. Proceso de tostado de la madera para la obtención de fragmentos.

El tostado es una etapa esencial de la fabricación tradicional de barricas, y también de productos alternativos, y ha permitido aumentar la cantidad y la complejidad de las aportaciones del roble al vino al inducir la aparición de nuevas sustancias volátiles y odorantes producidas por la degradación térmica de la madera (Boidron, J.N. et al., 1988; Chatonnet, P. et al., 1989a). El tostado también ha permitido eliminar el exceso de taninos y sustancias amargas que a veces presenta la madera así como modular la expresión de la madera, a veces excesiva, reduciendo su contenido en  $\beta$ -metil  $\gamma$ -octolactona y otros compuestos de carácter vegetal presentes antes del tostado.

Se han utilizado varios métodos para el tostado de las astillas, ya que su pequeño tamaño ha facilitado su manejo, como hornos de convección (tipo tostador de café), de radiación o la combinación de ambos (usados en panadería), siendo la fuente de calor la electricidad o el gas. Las diferentes intensidades de tostado se consiguen combinando series diseñadas de tiempo y temperatura incluyéndose, en ocasiones, medidas del color de la madera. Por último, el nivel de humedad de la madera y la homogeneidad entre lotes han sido factores muy importantes, pues la cantidad de agua condiciona la eficacia del tostado para la producción de productos de termodegradación. Cuanta más energía aportada a la madera se utilice en primer lugar para evaporar el agua libre, más importante será su humedad y más energía se destinará primero al tostado y luego a la vaporización del agua. Ahora bien, la vaporización del agua es fuertemente endotérmica (2257 KJ/Kg), por lo que una diferencia del 15 % de humedad puede suponer una disminución de eficacia térmica significativa. Para el mismo tiempo de tostado, el efecto sobre la producción de compuestos de degradación térmica debido al retraso en la superación de ciertos escalones térmicos, ha sido exponencial. (Chatonnet, P., 2007)

#### - Tostado de astillas en tambor por convección

Para el calentamiento de partículas de madera se ha utilizado un tambor de torrefacción rotativo como los usados en la torrefacción de café o cacao (figura 18). En estas condiciones, la madera no ha estado directamente en contacto con la fuente de calor como en el caso del tostado de barricas. Un quemador, normalmente alimentado a gas, ha calentado el aire de una cámara de combustión. El aire caliente a 200-220°C ha tostado por convección térmica la madera colocada en un tambor rotativo; el calor ha penetrado y se ha difundido por el interior de las partículas por conducción térmica. En estas condiciones, se obtiene un tostado homogéneo en el interior, con un efecto muy débil de gradiente de composición entre la superficie y el interior de las astillas. El tostado se ve facilitado por la mezcla de astillas durante la rotación del tambor, y el aislamiento de éste optimiza el intercambio térmico; en el caso del tostado tradicional con fuego, en cambio, la mayor parte de la fuente térmica 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, P., 2007)

### - Tostado de tablonos e insertos por convección

Para tostar piezas largas se ha utilizado exactamente el mismo principio que para las astillas, pero en hornos especialmente adaptados a la geometría de la madera. Para empezar, las astillas se han instalado 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, las duelas se enfrían mediante aspiración de humos antes de su descarga.

La técnica preferente de tostado industrial de los productos alternativos se ha basado en un intercambio térmico por convección y luego por conducción. En comparación con el tostado tradicional, sea de intensidad ligera, mediana o fuerte, la degradación térmica producida durante el tostado de los productos alternativos se demuestra relativamente diferente. Se constata que con una intensidad de tostado teóricamente similar, la concentración de aldehídos furánicos, aldehídos fenoles y fenoles volátiles estrictamente generados por la degradación térmica de la madera es muy diferente cuantitativa y cualitativamente de uno a otro procedimiento de tostado y en comparación con el tostado tradicional de barricas. Las diferencias son especialmente importantes en el plano cualitativo. El tostado por convección tiende a favorecer la producción de aldehídos fenoles frente a la de aldehídos furánicos. Pocas condiciones de tostado industrial permiten la producción simultánea de estas dos familias de compuestos en concentraciones relativamente próximas a las que se obtienen con un tostado de intensidad mediana en tonelería tradicional. Sin embargo, se obtienen perfiles similares desarrollando con rigor el programa de tostado.

Para un horno dado, se debe controlar perfectamente la regularidad de la carga (cosa que es sencilla) y el nivel de humedad de las astillas trituradas. En efecto, para triturarla fácil y reproduciblemente, la madera precisa de un cierto nivel de humedad (25-30 %), pero este nivel es incompatible con un tostado eficiente y repetible. Así pues, se hace indispensable secar convenientemente las astillas antes de su torrefacción. Para evitar este problema, los fragmentos deben ser secados en continuo con una potencia adaptada al nivel de humedad de la madera antes de entrar en el tambor de torrefacción; el túnel de tostado en movimiento permite deshidratar y esterilizar en profundidad, a 105°C, las astillas que no van a ser tostadas garantizando un producto casi anhidro (< 7 %) tras su paso rápido por el tambor de torrefacción para deshidratación final. Por otro lado, el fabricante debe asegurar la salud de los consumidores y de que estos procesos no degraden la calidad organoléptica del vino previniendo las posibles contaminaciones asociadas a la presencia de aloanisoles (tri, tetra y pentacloroanisol, tribromoanisol) en las fases de fabricación y almacenamiento de los productos acabados.



**Figura 18:** Instalaciones de torrefacción de PRONEKTAR utilizando un tambor de torrefacción rotativo para astillas (1 y 2) y un horno de convección para tablones (3) (Chatonnet, P., 2007)

### III.7.6.1. Factores de variabilidad del tostado de los productos alternativos

Distintos parámetros pueden afectar a la calidad y reproducibilidad del tostado por convección de las astillas o de los tablones. Cada horno tiene una inercia térmica propia es decir, los resultados obtenidos entre el primer y el último ciclo de tostado no son idénticos, se hace necesario ajustar la temperatura del horno para obtener un resultado repetible. La calidad de la convección térmica es muy importante para garantizar un tostado homogéneo. En el caso de los tambores rotativos, su dimensión ha sido bastante pequeña y la rotación da pie a mezclas homogéneas. En cambio, en los hornos para tablones, la calidad de la convección térmica ha sido absolutamente crítica; para evitar puntos de exceso o defecto de tostado; lo que ha requerido de un diseño específico. La carga del horno debe ser siempre la misma para obtener un resultado repetible ya que, en sobrecarga o en condiciones de subcarga, el tostado obtenido será diferente.

Laboratorios independientes efectúan análisis regulares para controlar la calidad de los productos intermedios y acabados, con la implantación de una trazabilidad adecuada. Se trate de astillas o de tablones, las temperaturas que se alcanzan en los hornos no son suficientes para producir la síntesis de fuertes cantidades de hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP). Es cierto que el tostado produce una elevación del contenido global de HAP de la madera, pero la formación de moléculas de HAP indeseables (cancerígenas), como el benzo-  $\alpha$ -pireno, necesita de niveles térmicos que nunca se alcanzan ( $> 380^{\circ}\text{C}$ ) durante la torrefacción de la madera. Aun así, si el horno no se ha diseñado correctamente, si no se ha limpiado de manera regular, o si se han producido accidentes de quemado, pueden desprenderse partículas de madera atrapadas que han pasado por ciclos repetidos de tostado o pirolisis, generándose

entonces contenidos excesivos de estas partículas. Una producción bien gestionada permite garantizar niveles de benzo- $\alpha$ -pireno iguales o inferiores a 1ng/g.

### III.7.6.2. Características alcanzadas para cada tipo de tostado

El tostado ligero genera el mayor impacto aromático, si bien estará mayoritariamente marcado por los aromas de las  $\beta$ -metil- $\gamma$ -octolactonas, la nuez de coco. Así mismo el tostado ligero producirá una aportación muy alta de tanino elágico. En el caso de que el proceso de secado de la madera no fuese el adecuado podría representar un aporte excesivo y dar lugar más claramente a notas de tablón. Por esta razón, para un tostado ligero, es imprescindible que el secado de las duelas haya sido muy extenso y riguroso. La madera fresca (seca pero no tostada) a menudo se aconseja por los proveedores para reforzar las sensaciones afrutadas, que sobre el terreno se verifican sólo sobre las uvas tintas muy concentradas y perfectamente maduras. Sin embargo, Zamora, F. (2007), raramente ha encontrado este efecto en sus trabajos realizados. Por el contrario, con la madera fresca, han observado la aparición frecuente de unos aromas herbáceos excesivos, a savia o serrín. Estos efectos podrían ser atenuados con aportaciones simultáneas de astillas tostadas. Estas sensaciones astringentes, secas y amargas se podrían ver incrementadas cuando la adición es tardía y fraccionada, el vino es poco concentrado y el tiempo de contacto es prolongado, aspecto que puede ser mitigado gracias a la microoxigenación, que permite atenuar la agresividad de las astillas frescas.

El tostado medio tiene una cierta disminución del impacto aromático global en relación con el tostado ligero, pero gana en equilibrio y complejidad. Las notas de las  $\beta$ -metil- $\gamma$ -octolactonas disminuyen y se incrementarán el resto de sustancias volátiles, especialmente la vanillina. Así mismo, el aporte de taninos elágicos es menor que en el caso de tostado ligero. Los grados de tostado de medios a fuertes aportan aromas a vainilla, torrefactos y a veces serrín o savia, en unas proporciones y con unas intensidades que dependen entre otras cosas de la dosis, de los tiempos de contacto y del proveedor, aspectos controlables a través de catas frecuentes que determinen el momento de extracción de los fragmentos.

Los grados de tostado fuertes, a veces refuerzan los olores azufrados tipo fósforo quemado o caucho que se deben controlar mediante la puesta en práctica de las acciones preventivas habituales (gestión de los problemas fermentativos, gestión de la biomasa y de las aportaciones de oxígeno). El uso de grados de tostado medios presenta menos riesgos de aparición de olores azufrados. El tostado fuerte pierde ligeramente intensidad olfativa, pero sobre todo se altera enormemente el equilibrio entre las familias de aromas. Básicamente disminuyen las  $\beta$ -metil- $\gamma$ -octolactonas y aumentan los fenoles volátiles, la vanillina y los furanos. También se constata un fuerte descenso de los taninos elágicos que el roble aporta al vino.

Finalmente el tostado muy fuerte produce un nuevo y ligero descenso de la intensidad global del aroma y sobre todo provoca un cambio en la composición del mismo. Básicamente, se produce un nuevo incremento de los fenoles volátiles y de los furanos, así como una disminución de las  $\beta$ -metil- $\gamma$ -octolactonas y de la vanillina. Los taninos elágicos continúan disminuyendo a medida que se incrementa el grado de tostado (Zamora, F., 2007).

### III.7.7. Gestión del uso de alternativos

Como ocurriera en la fabricación de las barricas, considerando un mismo tipo de astillas (tamaño, grado de tostado) y utilizando las mismas condiciones de aplicación sobre el vino terminado, los resultados con fabricantes diferentes son a menudo muy variables. Se hace conveniente por tanto, evaluar sistemáticamente los resultados obtenidos con cada proveedor. Así los primeros proveedores trataban de obtener resultados similares a los obtenidos durante la crianza en barricas; como nuevas apariciones de aromas de madera tipo vainilla, tostado-torrefacto, aumento de volumen, sin embargo se producía la aparición del carácter serrín o savia, aumento de las sensaciones tánicas incluso de astringencia y sequedad muy rápidamente con unas notas de serrín o savia intensas y una fuerte agresividad gustativa. El control del proceso se complica si se utilizan las referencias adquiridas con la crianza en barrica.

Los tiempos de contacto según los objetivos buscados pueden variar desde algunos días a varias semanas e incluso varios meses. Es muy difícil definir los tiempos de contacto ya que dependerán del tipo de madera: el roble americano actúa más rápidamente que el roble europeo, del tamaño de las astillas: la cinética de evolución del vino es tanto más rápida cuanto más pequeñas son las astillas, del perfil aromático y gustativo buscado (se aconseja limitar los tiempos de contacto cuando el objetivo sea una presencia de madera ligera y no tolerar ni astringencia ni sequedad). Por lo tanto, además de la elección del tipo de producto alternativo suministrado por la casa comercial, el enólogo debe gestionar adecuadamente la cantidad de madera y la dosis de oxígeno que aportará al vino durante el tratamiento con productos alternativos. Sin embargo, la mayoría de los trabajos encontrados estudian el efecto de la adición de alternativos al vino terminado cuando se dosifica madera por peso (por ejemplo dosis de 2.5 g/L), sin tener en cuenta el tamaño de producto alternativo, es decir que se añaden 2.5 g de madera en forma de astillas, cubos, dados o de tablones por cada litro de vino, como los trabajos de Piracci, A. et al (2001a y b), Aratpisas, P. et al. (2004), De Coninck, G. et al. (2006), Guchu, E. et al. (2006), Frangipane, M.T. et al. (2007) Sartini, E. et al. (2007), Koussissi, E. et al. (2009), Pérez, S. et al. (2009), Rodríguez, J.J. et al. (2009), Goncalves, F.J. et al. (2009), Rudnitskaya, A. et al. (2009), Ortega, M. et al. (2010), Jourdes, M. et al. (2011), Cejudo, M.J. et al. (2011b), Arfelli, G. et al. (2011), Návojská, J. et al. (2012), Apetrei, I.M. et al. (2012) y Oberholster, A. et al. (2015) cuyas características se muestran en la tabla 3. Esta práctica no reproduce la relación superficie de madera que estará en contacto con un determinado volumen de vino como ocurre en la barrica. Empleando una misma dosis por peso, en el caso de astillas la superficie de madera en contacto con vino será mayor que en el caso de los productos de mayor tamaño, cuya superficie de contacto disminuye cuanto mayor sea su tamaño. Otros estudios analizan el efecto del origen de la madera de los productos alternativos dosificando de acuerdo a la relación superficie de madera / volumen de vino presente en la barrica, lo que permite obtener resultados comparativos entre los distintos productos utilizados, como los de Del Álamo, M. et al. (2004a y b), Del Álamo, M. et al. (2006 c y d) Du Toit, W. et al. (2006), Rodríguez, L. (2007), Del Álamo, M. et al. (2008a), Del Álamo, M. et al (2010), Fernández, B. et al. (2010), Gallego, L. et al. (2011) y Gallego, L. et al. (2012) (tabla 3)

Tabla 3: Estudios del envejecimiento de vinos acabados con productos alternativos a las barricas

Autores	Sistema de envejecimiento <sup>(1)</sup>	Nivel de tostado <sup>(2)</sup>	Dosis de madera g/L	Tipo de madera <sup>(3)</sup>	Tiempo de contacto
Piracci, A. et al (2001a y b)	Astillas tablonos	A	Astillas 0.5, 1 Tablonos n.d.	RA	9 meses
Aratpizas, P. et al. (2004)	astillas	M	5, 40	n.d.	14 días
Del Álamo, M. et al. (2004a)	Astillas y barricas	M	6, relación barrica	RA, RFP, RH	5 meses
Del Álamo, M. et al. (2004b)	Astillas, tablonos y barricas	M	Relación barrica	RA, RFP, RH	12 meses
De Coninck, G. et al. (2006)	Astillas	M	4	RP, RFP	13 semanas
Del Álamo, M. et al. (2006c)	Astillas, tablonos y barricas	M	Relación barrica	RA	12 meses
Del Álamo, M. et al (2006d)	Astillas, tablonos y barricas	M	Relación barrica	RA, RFP, RH	12 meses
Guchu, E. et al. (2006)	Astillas	M	4	RA, RFP	25 días
Du Toit, W. et al (2006)	Tablonos y barricas	M	Relación barrica	RA, RFP	7 meses
Frangipane, M.T. et al (2007)	BN, 1BU, 2BUA	M	Astillas 5	RFP	NB-7 meses 1UB-7 meses 2UBC-2meses
Sartini, E. et al (2007)	Astillas	M	Astillas 2	FO (n.d.)	90 días
Rodríguez, L. (2007)	Astillas, tablonos y barricas	M	Relación barrica	RA, RFP, RH	12 meses
Del Álamo, M. et al. (2008a)	astillas y tablonos	M	Relación barrica	RA, RFP, RH	12 meses
Koussissi, E. et al. (2009)	Astillas	L, M, A	n.d.	RA	32 días
Pérez, S. et al. (2009)	Astillas	M, M+	4	RFP, RFR, RA	30 días
Rodríguez, L. et al. (2009)	Astillas	M, M+	4	RFP, RA, RE, REP	60 días
Gonalves, F.J. et al. (2009)	Astillas	M	5, 10	RA, RE	90 días
Rudnitskaya, A. et al (2009)	BN, 1BU, 2BUA	Mezcla	14	RFP	n.d.
Ortega, M. et al. (2010)	Astillas	M+	4	RFP, RFR, RA	30 días
Del Álamo, M. et al (2010)	Astillas, tablonos	M	Relación barrica, RE: 6.5, RFP: 5, RA: 6	RA, RFP, RE	6 meses
Fernández, B. et al (2010)	Astillas, tablonos	L, M, A	Relación barrica, RE: 6.5, RFP: 5, RA: 6	RA, RFP, RE	6 meses
Gallego, L. et al (2011)	Astillas, tablonos	M	RA: 6.	RA	6 meses
Jourdes, M. et al (2011)	Barricas Astillas	Astillas: L, M, A Dominoes: M	Astillas 2.5 Dominoes 2.5	RFP	Barricas 1 año Astillas 2 meses Dominoes 2 meses
Cejudo, M. J. et al. (2011b)	Astillas	ST	7	RA	25 días
Arfelli, G. et al (2011)	Astillas	M	2	RFP	90 días
Návojská, J. et al (2012)	astillas	RA: M, A RAL: NT, M, M+ FO: M, M+	1	RO, RFP, RAL	30 días

Gallego, L. et al (2012)	Astillas, tablonos	M	Relación barrica	RA, RFP, RE	6 meses
Apetrei, I.M. et al. (2012)	Astillas, barricas	L, M, A	6 g/L AO.	AO (Q. <i>alba</i> )	10 meses
Oberholster, A. et al (2015)	Astillas, extracto, tablonos barricas	L, M	Astillas 1.6 Extracto 0.03 Tablonos 1.5	Barricas RA, RFP, Astillas y tablonos RFP,	6 meses

(1) sistema de envejecimiento; barrica nueva BN, barrica de un uso:1 BU, barrica de dos usos:2BU, 2BU+astillas:2BUA

(2) Nivel de tostado; Sin tostar: ST, Ligero: L, Medio: M, medio plus: M+, alto:H

(3) Origen de la madera; roble francés Q. *petraea* (RFP), roble francés Q. *robur* (RFRP), roble americano Q. *alba* (RA), roble húngaro (RH), roble portugués (RP), roble español Q. *pyrenaica* (RE), roble español Q. *petraea* (REP), roble alemán (RAL)  
n.d. no datos

Respecto al coste, según Béteau, J. (2007) la adición de fragmentos de madera durante la crianza de los vinos puede oscilar en dosis de entre 0 y 2 g/L. Así, el equivalente a una crianza de un año en barrica (un tercio en barrica nueva, un tercio de un año, y un tercio de dos años) se obtendría por un total de 10 a 15 g/L de astillas de roble, aportados en diferentes momentos. En general, el coste puede oscilar entre 0,05 y 0,1 €/L, frente a entre 0,5 y 1 €/L para la barrica. Además, las posibilidades técnicas son mucho mayores, puesto que el enólogo puede jugar con las dosis, los tostados, la presencia o no de taninos y los momentos de aplicación.

Algunas casas comerciales de producción de fragmentos de madera han identificado las cualidades de sus productos puestos en el mercado, así la casa Laffort ha establecido que aquellas astillas de madera de **roble francés** (*Quercus petraea*) con dimensiones comprendidas entre 7 y 20 mm, que han sido secadas de manera natural e infusionadas sobre el vino en dosis de 0,5 a 5 g/L, tanto en proceso fermentativo como durante el envejecimiento del vino, aportarán aromas a coco, albaricoque, melocotón, té blanco, verbena y menta y sensaciones gustativas frescas, suaves, con notas aciduladas. Estas sensaciones organolépticas se deben a los compuestos mayoritarios presentes de manera natural y anteriormente descritos como vanillina, cis y trans  $\beta$ -metil  $\gamma$ -octolactona. Además, como propiedades enológicas en los vinos permite el desarrollo del carácter afrutado de los mismos, la protección de los compuestos fenólicos e intensificación de la estructura de los vinos, siendo este tipo de madera idónea para las primeras fases del proceso de obtención de un vino (fermentación alcohólica y maloláctica) principalmente (Laffort, 2009). Si a esa misma madera se le ha aplicado calor produce sobre la superficie de las astillas un tono beige o ámbar, desarrollándose compuestos como eugenol, siringaldehído, cis y trans  $\beta$ -metil  $\gamma$ -octolactona y vanillina. Las características olfativas principales con este tostado ligero han sido a hoja de tabaco, frutos secos, almendra, nuez fresca y pan dulce con un carácter gustativo de estructura y persistente tanicidad, permitiendo una ampliación de estructura en boca y caracteres especiados. Si se incrementa el grado de tostado de las astillas hasta un nivel medio, se ha obtenido un aspecto marrón claro y satinado con compuestos químicos presentes como guayacol, siringaldehído, furfural y vanillina. Adquiriendo caracteres olfativos de vainilla, pan tostado, ciruela deshidratada y nuez de pecan. Aumentando enológicamente la sensación de azúcar, la aparición de matices tostados y a madera. Con un grado de tostado mayor hasta niveles de tostado fuerte se han obtenido unas astillas de color chocolate, con compuestos como furfural, guayacol y 5-metilfurfural. Con aromas a almendra tostada, café torrefacto, cacao y caramelo y con una intensificación aromática y persistencia del sabor azucarado. Aumento del carácter torrefacto y ampliando el volumen en boca. (Laffort, 2009)



Para el formato de astillas y granulados con madera de **roble americano** (*Quercus alba*) al natural los aromas que más se han desarrollado han sido coco y el carácter afrutado. Con tostados intensos y aspecto chocolate los componentes destacados han sido vainillas y cis y tran  $\beta$ -metil  $\gamma$ -octolactona, compuestos similares a la madera de roble francés sin tostar, pero destacando organolépticamente aromas a coco y moka, aumentando también la sensación azucarada y matices ahumados y vainillas. El tamaño de la madera tanto de roble francés como americano hace mantener las características para cada tipo de madera sin influir excesivamente la forma adoptada (astillas, granulados...). La diferencia fundamental ha sido la capacidad de extracción que presenta cada tamaño, siendo para el empleo de granulados o astillas un poder de extracción mayor debido al menor tamaño de los fragmentos, pudiendo disminuir la dosis de aplicación a valores de entre 0,5 y 3 g/L (Laffort, 2009), abaratando aún más el coste. Otra opción ha sido el empleo de refrescos de barricas consistentes en tablonces de madera con grados de secado y tostados aplicados similares a las duelas en la construcción de las barricas y de 0,273 m<sup>2</sup> de superficie de contacto (32 x 2,3 x 0,7 cm) unidos por sus extremos a través de cuerdas aptas para consumo humano e introducidos en el interior de la barrica.

Y finalmente, con una elevada calidad en la obtención de la madera, con secados de más de 24 meses al aire libre se encuentran en el mercado los tablonces o staves, cuya finalidad es aportar las características de la madera de forma lenta y progresiva, siendo el sistema con una gran similitud al empleo de barricas nuevas. Con una superficie de contacto de 0,104 m<sup>2</sup> (91 x 5 x 0,7 cm). De manera general, se recomiendan dosis de entre 2 a 4 duelas/HL durante un período de envejecimiento de 3 a 6 meses, siempre bajo criterios del vino a elaborar y con seguimiento en la degustación (Laffort, 2009). Una novedad aplicada a estos sistemas durante el calentamiento de las duelas ha sido sumergirlas en agua caliente para reducir la presencia de taninos solubles y atenuar así su impacto sobre el vino. El método consiste en mantenerlas con un alto porcentaje de humedad durante el tostado de manera que el efecto se ve atenuado por la evaporación del agua. Este aumento de temperatura más lento hace que el calor penetre en profundidad en la madera, disminuyendo la percepción de aromas ahumados y tostados y limitando la presencia de compuestos volátiles (Seguin Moreau, 2006). Las experimentaciones realizadas con tablonces han permitido verificar el interés de esta herramienta, ya que el comportamiento de los tablonces se aproxima más al de la barrica (cinética de difusión menos rápida que en el caso de las astillas).

Con toda esta información no se debe olvidar que cuando se emplean fragmentos de madera se necesita realizar un seguimiento técnico que lamentablemente hasta el momento es similar al utilizado para la gestión de los tiempos de maceración en el proceso fermentativo, es decir, se debe conocer los objetivos de producto, tener en cuenta la materia prima que se está elaborando, utilizar indicadores sensoriales definidos (vegetal, intensidad y tipo de madera, volumen astringencia, sequedad) y aplicar la experiencia adquirida en la zona por el enólogo con procesos y objetivos parecidos, parámetros todos ellos muy variables en cada vinificación.

### **III.7.8.Evolución de la legislación aplicable al empleo de alternativos**

El reconocimiento de la técnica de empleo de madera bajo sistemas alternativos al uso de barricas, como práctica enológica se reconoce desde 1983, pero durante muchos años se ha prohibido su puesta en práctica a los productores europeos. Ya en 1993 comenzó a permitirse su uso para fines experimentales bajo formas de astilla y otros granulados de roble respetando el reglamento CEE 822/87, en el que se establecía un límite de producción de 50.000 HI, durante tres años e impidiendo exportar fuera del país de producción. Desde entonces la coexistencia en el mercado de vinos criados en barrica y de vinos tratados con trozos de madera ha alcanzando tal interés que se ha tratado de adaptar el empleo de astillas o tabloncillos de madera de roble. Lo que ha provocado que la UE en el reglamento (CE) N° 2165/2005 de 20 de Diciembre de 2005 haya autorizado la utilización de trozos de madera de roble en la elaboración de vinos, y en el reglamento (CE) N° 1507/2006 del 11 de Octubre de 2006 que modifica al anterior (1622/2000) se definen las normas para la utilización de trozos de madera en la elaboración de vinos (permitiendo la utilización de trozos de madera de roble más o menos tostados con un tamaño superior a 2 mm) y las condiciones de etiquetados de los mismos. Más recientemente en el anexo IA-9-RCE 606/2009, se autoriza la utilización de trozos de roble para la elaboración y la crianza de los vinos, siendo este hecho un gran avance, ya que hasta este momento el concepto crianza se reservaba para aquellos vinos con envejecimiento en barrica, entrando en vigor este reglamento, ha pasado a formar parte de la crianza de los vinos la aportación de trozos de madera de roble. Además ya en el artículo 112 del reglamento CE n° 479/2008, se define la inscripción en el registro de productor de trozos de madera de roble a las empresas dedicadas a su fabricación.

A pesar de lo descrito anteriormente, hay denominaciones de origen que establecen en su legislación la prohibición del empleo de este sistema para el envejecimiento de sus vinos, así la Denominación de Origen Calificada La Rioja, establece en el capítulo III, apartado 10 del 18384 Orden APA/3465/2004, de 20 de octubre, por la que se aprueba el Reglamento de la Denominación de Origen Calificada Rioja y de su Consejo Regulador, que no se podrán utilizar trozos de madera de roble en la elaboración y posteriores procesos, incluido el almacenamiento, de los vinos protegidos por la denominación. La Orden APA/3332/2007 de 2 de noviembre, por la que se modifica el Reglamento de la Denominación de Origen Calificada y de su Consejo Regulador (BOE n° 275 de 16.11.07) vuelve a constatar la prohibición del uso de trozos de madera de roble en la elaboración y stock cualitativo.

### **III.8. EL OXIGENO Y LA MICROOXIGENACION DE VINOS**

Durante muchos años se ha buscado la clave que produce los cambios en el envejecimiento, para un gran número de enólogos el oxígeno ha desarrollado el papel protagonista de los cambios físico-químicos durante la crianza evolutiva del vino. Los fenómenos físicos comportan una combinación del oxígeno con los componentes del vino y los químicos conllevan una disolución del oxígeno en éste con las correspondientes reacciones. Tradicionalmente, estas aportaciones se han desarrollado durante la crianza del vino en barricas de roble, por el tapón, las uniones entredueñas y a través de la madera de las

duelas. Este intercambio de oxígeno entre las duelas, depende de la naturaleza y tratamientos de la madera en tonelería. Castellari, M. et al. (2004) calcularon 25 cm<sup>3</sup>/L.año, y encontraron valores de oxígeno disuelto de 49 ug/L en el vino envejecido en barrica de volumen pequeño (<250 L), mientras que la cantidad oxígeno disuelto en el vino guardado en tanque de acero inoxidable fue de 24 ug/L. Estos valores son aparentemente muy bajos en comparación con los encontrados por Vivas, N. et al. (1996c, 1997b), están de acuerdo con los descritos por Moutounet, M. et al. (1995, 2001). La diferente cantidad de oxígeno detectada depende del espesor y la naturaleza de la madera, así la penetración es más importante cuando se trata de maderas de fibras menos compactas, como las de la acacia y el castaño. También se ve influenciada por el tamaño de la barrica, siendo mayor la penetración en las barricas de menor tamaño, debido al aumento de la relación superficie de la barrica/volumen de vino. En los toneles con duelas de 5 centímetros de espesor la entrada de oxígeno se hace prácticamente nula (Peynaud, E. et al., 1999).

Otro factor fundamental que determina diferencias importantes en la concentración de oxígeno en un vino ha sido el tiempo transcurrido desde la última manipulación del mismo, por ello durante mucho tiempo se ha creído que el vino solo cuenta durante su envejecimiento con el oxígeno proveniente del llenado de las barricas y de los trasiegos, ya que la superficie interna de la barrica se va obstruyendo debido a la precipitación de la materia colorante y tartratos, lo que impide la entrada de oxígeno. Vivas, N. et al. (1996) postularon que los elagitaninos de la madera húmeda actúan como secuestradores del oxígeno que entra hacia el interior de la barrica, impidiendo por tanto que el oxígeno alcance al vino. Vivas, N. et al. en el 1997a, analizaron 2 barricas de roble francés durante 6 meses y encontraron que el oxígeno entra hacia el vino fundamentalmente por las uniones entre duelas (63 %) y el tapón (21 %), entrando por la madera el 16 % del oxígeno total. Recientes estudios (Nevares, I. et al., 2014a y b) sobre la evaluación de 8 barricas de roble americano y francés, han demostrado que el oxígeno sí que entra por la madera, pudiendo llegar a suponer hasta el 70 % del oxígeno total (francés), por lo que se hace necesario considerar también a la madera como una vía de entrada del oxígeno hacia el vino de la barrica. Nevares, I. et al 2015 constataron que el oxígeno atraviesa la madera húmeda, lograron visualizar el movimiento del oxígeno cuando atraviesa la duela, demostrando así que la madera durante el proceso de envejecimiento sí deja entrar oxígeno hacia el vino. Sin embargo, la entrada de oxígeno no es constante durante todo el proceso de envejecimiento, ya que según se ha demostrado mediante la evaluación de la tasa total de entrada (OTR) de 4 barricas durante todo un año, ésta disminuye siguiendo una tendencia potencial (Del Álamo, M. et al., 2015). Por lo que las dosis propuestas por diferentes autores con valores de 20-30 mg/L.año, deben ser revisadas ya que no contemplan este descenso, que una vez contemplado arroja dosis de 12-15 mg/L.año. Este resultado será muy importante a tener en cuenta cuando se pretende imitar el proceso de oxigenación del vino en barricas, ya que determinará las dosis de oxígeno.

Los mecanismos que regulan el consumo de oxígeno se rigen en general por las mismas leyes relativas de los gases (Moutounet, M. et al., 2006), es decir, por la ley del gas ideal:  $PV = nRT$ , lo que indica que la cantidad de oxígeno disuelto depende principalmente de la presión y de la temperatura. Teniendo en cuenta que en condiciones normales de presión y temperatura (1 atm y 0 °C) un mol de un gas ocupa un volumen de 22,4 Litros, y considerando según Lemaire (1995) que en las condiciones de presión y temperatura de las bodegas el oxígeno se comporta como un gas ideal, presentando una masa

volumétrica de 1,43 g/L; en condiciones de saturación; los vinos contendrán unos 6 mL/L es decir unos 8,5 mg/L de oxígeno disuelto (Moutounet, M. et al., 2006). Sin embargo, esta situación no es habitual en los vinos envejecidos, ya que en condiciones normales el vino consume rápidamente el oxígeno que tiene a su disposición.

El oxígeno se combina con sustancias oxidables o reductoras, en una oxidación lenta y continuada, uniéndose a los compuestos reductores para proteger de la oxidación a las demás sustancias. La estabilización de la materia colorante de los vinos tintos, así como la suavización de su astringencia inicial, precisan de cierto aporte de oxígeno, necesario para favorecer las combinaciones y polimerizaciones de los antocianos y las procianidinas (Dournel, J. M., 1985). Pero además de un enriquecimiento de compuestos fenólicos (elagitaninos) y un aporte de aromas propios de la madera de roble, la microoxigenación propia de la permeabilidad de la madera hace que este oxígeno sea consumido progresivamente por los compuestos fenólicos del vino, junto con los elagitaninos que catalizan los mecanismos de oxidación, generando acetaldehído mediante la oxidación de etanol. El acetaldehído interviene en la condensación entre taninos y antocianos actuando como puente de unión (Escribano, M. T. et al., 2001) y en la formación de nuevos pigmentos de bajo peso molecular como vitisinas (Bakker, J. et al., 1997b). La existencia de estos pigmentos produce un incremento y estabilización del color, al ser más resistentes a las variaciones de pH, a la decoloración de sulfuroso y a las oxidaciones que los antocianos del vino. Debido a estos fenómenos oxidativos se produce un descenso de antocianos y los taninos evolucionan hacia formas más polimerizadas, disminuyendo la astringencia (Pérez, L. J. et al., 2003a).

La presencia de oxígeno ayuda también a la volatilización de los compuestos azufrados y disminuye la presencia de H<sub>2</sub>S, debido a que se forman peróxidos que oxidarán compuestos con grupos tiol como el disulfuro, etanotiol, metanotiol, disminuyendo o eliminando así los compuestos responsables del mal olor en el vino. Sin embargo, en algunos vinos podrían disminuir sus características varietales al eliminarse compuestos azufrados responsables de este carácter (Waterhouse, L. et al., 2006).

### **III.8.1. La microoxigenación de vinos**

La microoxigenación es una técnica que fue patentada en 1993 en Francia, fruto de las experiencias de Patrick Ducournau y la familia Laplace y desde entonces se ha expandido a lo largo de muchas regiones vitivinícolas. Los primeros ensayos de aportes de oxígeno constantes y controlados comenzaron en 1991, se realizaron en la región de Burdeos sobre la variedad Tannat que presentaba niveles elevados de taninos con valores de hasta 7 g/L, y mostraron rápidamente sus beneficios en comparación con los trasiegos o la ausencia de oxígeno: los vinos evolucionaban mejor y, aún algo sorprendente para la época, parecían hacerlo más lentamente. Donde los vinos perdían color y ganaban sequedad en boca, con los aportes de oxígeno conservaban más color, frutalidad y, sobre todo, taninos más grasos y redondos. Así nació la microoxigenación, concebida como herramienta de gestión y control de uno de los parámetros más importantes en la crianza de los vinos, el oxígeno (Roig, G. et al., 2003). Esta técnica se fundamenta en aportar al vino pequeñas cantidades de oxígeno de forma continuada, a través de un microdifusor poroso, para reproducir e incluso acelerar el proceso de estabilización de la materia

colorante que tiene lugar durante la crianza en barricas (Bakker, J. et al., 1997a; Fulcrand, H. et al. 1998; Atanasova, H. et al., 2002; Zamora, F., 2003b). También es cierto que puede usarse como técnica para acelerar la crianza; ya que el vino posee un margen de aceptación de oxígeno por encima del cual no estaríamos oxigenando sino oxidando el vino provocando así una evolución negativa. Su propósito bien orientado ha sido conducir y resaltar las cualidades positivas del vino, corrigiendo las negativas y alargando su periodo de vida. Se ha demostrado la eficacia de los aportes controlados de oxígeno en la estabilización del color y el desarrollo de la estructura de los vinos, suavizando la astringencia (Glories, Y., 1984a; Robichaud, L., 1990), así como efectos positivos sobre la expresión aromática, eliminando caracteres herbáceos o vegetales y potenciando los caracteres afrutados varietales (Roig, G. et al., 2003). Los equipos desarrollados para aplicar esta técnica se comercializan hoy en todo el mundo, lo que refleja la capacidad de aplicación de dicha técnica en el procesado de un vino.

### **III.8.1.1. Fundamentos de la técnica de microoxigenación**

La técnica de microoxigenación implica la liberación de oxígeno en continuo, en un recipiente de vino durante un determinado período, a través de un microdifusor poroso que facilita disolución del oxígeno en el vino (Moutounet, M. et al., 1995). La importancia del proceso radica en afinar las características sensoriales del vino tinto, particularmente las características sensoriales asociadas a varios componentes fenólicos. El éxito del proceso parece depender en gran medida de la capacidad de controlar el índice de dosificación del oxígeno, de tal forma que la velocidad de oxígeno aportado al vino sea menor que la velocidad de consumo del mismo, para evitar la presencia de oxígeno disuelto, y la aparición de efectos negativos.

Los equipos de microoxigenación constan (figura 19) de una cámara a diferentes presiones y un dosificador cerámico de poro finísimo que se introduce dentro de la masa de vino a oxigenar, aportando minúsculas burbujas de oxígeno a una presión fija. Para conseguir esta presión fija el oxígeno es dosificado por llenado de una cámara de volumen conocido (cámara de dosificación). Posteriormente este oxígeno es descomprimido en un circuito de transferencia (cámara de descompresión), que lo conduce al tanque. El llenado de la cámara de dosificación y su descompresión se realizan por la apertura y cierre de 2 electroválvulas (Elv. 1 y 2) regidas automáticamente por un programador. El volumen dosificado se produce por diferencia de presión entre las dos cámaras, existiendo una comunicación entre el manómetro y la cámara de descompresión para mantener constante la presión entre ambas (Sanchez, M., et al., 2007).

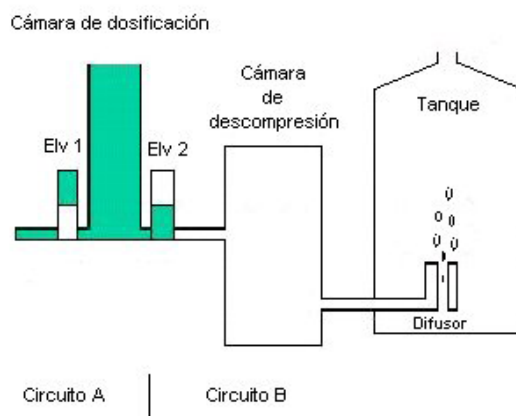


Figura 19: Esquema del equipo microoxigenador (Lemaire, T., 1995).

### III.8.1.2. Factores influyentes en la técnica de microoxigenación

Durante el aporte de oxígeno es necesario controlar una serie de parámetros que pueden afectar a la cantidad de oxígeno disuelto en el vino. Los intercambios gaseosos entre el vino y el aire se rigen por el equilibrio entre las **presiones parciales**. En el aire el oxígeno representa aproximadamente la mitad del volumen, por tanto su presión es de 206 hPa (a presión normal 1013 hPa) a 20 °C, y con respecto al aire saturado de vapor de agua. En estas condiciones, en el equilibrio de saturación con respecto al aire, los vinos contienen 6 ml/L ó 8,4 mg/L de oxígeno disuelto. Así la concentración de oxígeno disuelto aumenta proporcionalmente con la presión (Moutounet, M. et al., 2006). El efecto de la presión atmosférica sobre la solubilidad del oxígeno se debe a la absorción del aire por parte del vino y por tanto también el oxígeno cuando el vino entra en contacto con la atmósfera, hasta que el oxígeno absorbido por el vino ejerce la misma presión en la interfase líquido-aire que el oxígeno existente en el aire (Cabañes, A., 2007).

Cuando el oxígeno entra en contacto con el vino, éste se difunde progresivamente. La velocidad de difusión sigue una ley de difusión, que depende esencialmente de la **superficie de contacto gas/Líquido** ( $m^2/m^3$ ). El enriquecimiento del vino con oxígeno será, por tanto, más rápido cuanto mayor sea la superficie del vino así como la finura y persistencia de su emulsión con el oxígeno. La presencia de oxígeno disuelto en el vino no es una situación estable en el tiempo, ya que es progresivamente consumido por varios factores (Moutounet, M. et al., 2006), entre los que destacan la presencia de compuestos fenólicos. Cuando el vino se encuentra en régimen estático la cinética de disolución se vuelve inferior a la de consumo, de forma que las concentraciones de oxígeno disuelto dentro del vino son muy bajas, dentro de un intervalo medio de 10 a 40  $\mu g/L$ . En esta situación, si la superficie del vino está en contacto con una fase gaseosa que contiene una parte de oxígeno, se forma una zona muy estrecha que está en equilibrio de saturación con la fase gaseosa considerada y se establece un gradiente de concentración de oxígeno en la superficie del vino (Moutounet, M. et al., 2006), situación que ocurre cuando las barricas sufren mermas por evaporación o en depósitos que carecen de cierre hermético. Aspecto fundamental para minimizar el aporte oxígeno al vino, intentando conseguir la mínima superficie de contacto entre el oxígeno exterior y el vino, pero la mayor superficie entre el difusor y el vino para asegurar una total difusión. Para lograr este efecto en el proceso de microoxigenación, se requiere la formación de burbujas lo más pequeñas posibles. También es importante que la altura mínima del tanque

sea de 2 m y que el difusor esté colocado aproximadamente entre unos 10 ó 20 cm del fondo del tanque para que las microburbujas de oxígeno tengan el espacio vertical suficiente para disolverse completamente en el vino, y que la presión impida el aumento de tamaño de la burbuja (Sánchez, M., 2007).

La **temperatura** del vino debe ser considerada como uno de los parámetros esenciales de la microoxigenación, y que afecta al consumo del oxígeno, ya que las bajas temperaturas producen una mayor disolución de oxígeno en el vino y una reducción en su consumo, porque se produce una ralentización de las reacciones en las que interviene. Las variaciones de temperatura durante la conservación implican variaciones en los procesos de oxidación que se reflejan en una variación de hasta 100 mV en el potencial redox según la cantidad de oxígeno disuelto (Hidalgo, J., 2003). Por ello se debe mantener una temperatura adecuada, en la que exista un equilibrio entre la solubilidad y el consumo de oxígeno. Por esta razón se ha establecido para el envejecimiento de los vinos unas temperaturas óptimas que van de los 15 a los 18 °C, manteniendo valores constantes durante todo el proceso.

La **concentración de compuestos fenólicos** en el vino es la principal responsable del consumo de oxígeno ya que captan el oxígeno del medio durante el envejecimiento. Especialmente las formas libres, que consumen rápidamente el oxígeno produciendo una disminución del potencial redox (Hidalgo, J., 2003). Así uno de los efectos de la dosificación controlada de oxígeno es la modificación significativa tanto cualitativamente como cuantitativamente de la fracción fenólica de los vinos (González, M.L. et al., 2005). Este oxígeno se consume progresivamente por los compuestos fenólicos del vino; junto con los elagitaninos que catalizan los mecanismos de oxidación; generando acetaldehído mediante la oxidación del etanol, que a su vez interviene en la condensación entre taninos y antocianos actuando como puente de unión (Escribano, M. T. et al., 2001), así como las combinaciones y polimerizaciones de los antocianos con las procianidinas (Dournel, J.M., 1985). Según éstos los efectos de microoxigenación son variables; se observa que los antocianos totales disminuyen pero sin embargo su estabilidad se incrementa, ya que el porcentaje de antocianos combinados con los taninos aumenta. El grado de polimerización (índice de HCI) también se incrementa, lo que puede comportar la precipitación de la materia colorante inestable. Por tanto, la evolución de la materia colorante del vino depende en gran medida de la concentración relativa de antocianos y taninos así, hay vinos que necesitan grandes cantidades de oxígeno y cuando se aportan se obtienen vinos de color estable, mientras que en otros el aporte de oxígeno puede causarles su oxidación (Zamora, F., 2003b). Puede decirse por tanto, que la cantidad de oxígeno aportada estará en función de la actividad óxido-reductora que presentan los compuestos fenólicos en cada período de envejecimiento del vino. La adición de trozos de madera de diversos tamaños, tostados y procedencias, mejora los efectos de la microoxigenación sobre los compuestos fenólicos ya existentes en el vino, porque los procesos descritos anteriormente se ven complementados.

La **concentración de anhídrido sulfuroso (SO<sub>2</sub>)** no afecta a la disolución de oxígeno, aunque se ha podido constatar un ligero descenso del SO<sub>2</sub> total si el aporte de oxígeno es lento y adecuado, pero si hay acumulación de oxígeno disuelto, el SO<sub>2</sub> actúa como un antioxidante, reaccionando con el peróxido de hidrógeno resultante de la oxidación de los compuestos fenólicos, precipitando parte del SO<sub>2</sub> en forma de sulfatos y por tanto, descendiendo la tasa de SO<sub>2</sub> libre en el vino (Lemaire, T., 1995). Así mismo, el SO<sub>2</sub>

reacciona también con los antocianos, limitando la aparición de las reacciones de oxidación y condensación entre taninos y antocianos. Por lo tanto, concentraciones elevadas de anhídrido sulfuroso limita el efecto estructurante de la microoxigenación (Ortega, M. et al., 2007).

La presencia de lías aumenta el consumo de oxígeno en el vino, por este motivo y para evitar problemas de consumos no controlados de oxígeno se recomienda que la microoxigenación se lleve a cabo sobre vinos en los que la **turbidez** sea inferior a 100 NTU, lo que además asegura o reduce los riesgos de desarrollo microbiano. Por otra parte, se debe tener en cuenta que la presencia de coloides en el medio (turbidez química) dificulta la difusión homogénea del oxígeno por el depósito (Ortega, M., et al., 2007). Cuando lo que se pretende es efectuar una crianza sobre lías, la microoxigenación será buena aliada para minimizar un ambiente excesivamente reducido.

Teóricamente el aumento de la concentración de la **acidez volátil** y presencia de **etanol** se hace inevitable cuando se está realizando un aporte de oxígeno, por muy controlado que sea sin embargo, éste se puede minimizar ajustando el consumo a las reacciones deseadas. De este modo se evita la oxidación del etanol.

La presencia de **hierro** y **cobre** aumenta la velocidad de consumo del oxígeno; ya que son catalizadores de las reacciones de oxidación; transformando el oxígeno molecular en sus distintas formas activas (Flanzy, C., 2000).

### III.8.1.3. Acción del oxígeno en las distintas etapas de la microoxigenación

Existen varios momentos en la vinificación en los que se puede aplicar este tratamiento: es posible durante la fermentación alcohólica para simular trasiegos y aireaciones; en fermentación maloláctica si la concentración molar de antocianos es mucho menor a la presente en taninos para lograr un equilibrio tanino-antociano; también se puede hacer en vinos terminados, ya en su proceso de conservación para mejorarlos, y el último caso de aplicación ha sido durante el periodo de envejecimiento en contacto con madera, donde el vino envejece en depósitos de acero inoxidable aportándole con la microoxigenación el oxígeno necesario para evolucionar.

Uno de los fundamentos de la microoxigenación ha sido aportar las dosis de oxígeno de forma lenta y continuada, de modo tal que la velocidad de aporte sea siempre inferior a la velocidad de consumo para que nunca exista en el vino un exceso que provoque la oxidación (Pérez, S. et al., 2004). Sin embargo, el consumo de oxígeno a lo largo del período de envejecimiento es muy variable, debido a que se producen procesos de oxido-reducción y se forman nuevas moléculas oxidables en función de las distintas reacciones que tiene lugar en el vino (Flancy, C., 2000), dándose con mayor rapidez en aquellos vinos con una importante cantidad de compuestos fenólicos fácilmente oxidables. Lo que se ha demostrado es que durante la microoxigenación se pueden observar dos fases distintas en la evolución del vino (figura 20). La primera fase de estructuración; muy importante para el futuro de un vino; en ella se consigue un aumento del color, astringencia, desaparición de los caracteres vegetales y un aumento del volumen en boca. También se aprecia en esta etapa una disminución de los aromas fermentativos. Esta fase está



condicionada por el contenido inicial de compuestos fenólicos, el equilibrio entre los diferentes compuestos, la cantidad de oxígeno aportada, el momento de aplicación, el tiempo de duración de la microoxigenación, la temperatura y la concentración de SO<sub>2</sub> (Parish, M. et al., 2000).

Una vez terminada la fase de estructuración comienza la etapa de armonización, etapa en la que el vino se va haciendo cada vez más complejo, sus taninos se van redondeando y el vino se suaviza y adquiere mayor complejidad aromática. Los cambios en esta fase son irreversibles y un exceso en la cantidad de oxígeno aumenta el riesgo de desecación o sobreoxidación, que serán mayores cuanto más estructurado sea el vino.

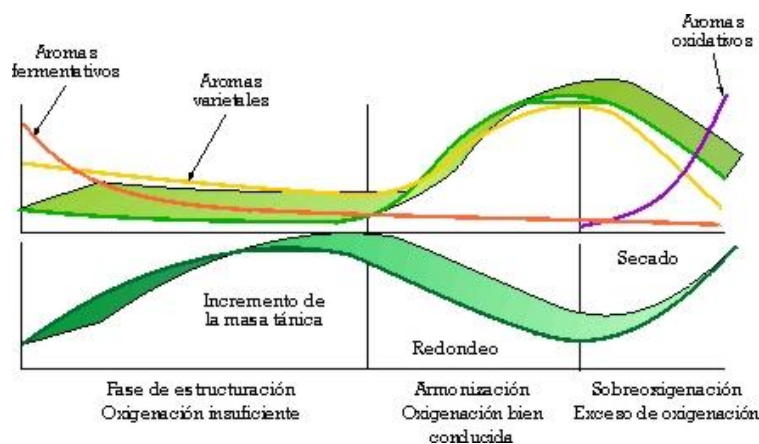


Figura 20: Esquema de las fases de evolución de un vino microoxigenado (Lemaire, T., 1995; Roig, G. et al. 2003).

De las dos fases la más interesante, es la fase estructurante, ya que refuerza la estructura, estabiliza la materia colorante y además permite obtener vinos más voluminosos y más equilibrados, que se redondearán (fase de armonización) con el tiempo. Este mismo proceso se da durante la crianza en bodega, pero de forma más lenta. Sin embargo, la crianza oxidativa de los vinos tintos en madera también puede verse favorecida si previamente han sido microoxigenados. De esta forma se puede estructurar el vino antes de su envejecimiento en madera para poder obtener al final de su permanencia en ella un vino más redondo, equilibrado y con más volumen, intensidad colorante y presencia de tonos violáceos (Ortega, M. et al., 2007).

#### III.8.1.4. Principales momentos de aplicación de microoxigenación

Existen diferentes momentos en la elaboración de un vino en los que es fundamental la presencia de oxígeno para su correcto desarrollo, y es la variedad de uva y la edad del vino los parámetros principales que definen la cantidad de oxígeno a aportar en relación con la reactividad de los componentes del vino tanto existente de forma inicial como adicionados de forma artificial. Así mismo, la identidad de la variedad de uva condiciona la dosificación por su grado de reducción o su elevada oxidación y la adición de diversos compuestos en la elaboración del vino (leucoantocianos, taninos, envueltas celulares, proantocianidinas...) desviarán las reacciones presentes, por tanto un momento importante de aplicación que requiere la presencia de oxígeno en abundancia, es durante la **fermentación alcohólica**, ya que para la gran multiplicación de levaduras el oxígeno juega un papel importante sobre la formación de esteroides y ácidos grasos insaturados de la membrana celular de la levadura, responsables de la

resistencia al alcohol de las levaduras al final de la fermentación alcohólica, por lo que la síntesis de estos compuestos asegura la supervivencia de las mismas, evitando fermentaciones largas o paradas fermentativas siendo el momento óptimo de aplicación durante la fase de crecimiento exponencial, que se corresponde con una bajada aproximada de la densidad del 20 %. (Anocibar, A., 2005). La dosis a aplicar en uva tinta puede ser definida a través de un algoritmo de cálculo en función de una serie de parámetros básicos como IPT, color, pH, el grado alcohólico y la Tª. Y por tanto, las dosis medias a aplicar en esta fase están comprendidas en torno a unos 6 mL de oxígeno total por litro de vino durante 24 o 48 horas como máximo, teniendo en cuenta la elevada temperatura que se alcanza en esta fase del proceso; ya que la temperatura juega un importante papel en la concentración de oxígeno aportado así a 15 °C, 1mg de oxígeno es igual a 1,47 mL y a 20 °C, 1 mg de oxígeno equivale a 1,5 mL (Senese, F. A., 2000).

Otro momento importante en la aplicación de microoxigenación parece ser después de la fermentación alcohólica y antes de la **fermentación maloláctica** en vinos tintos. Ya que los resultados obtenidos por un gran número de autores (Parish, M. et al., 2000; Bosso, A. et al., 2000; Castellari, M. et al., 2000; Cabanillas, P. et al., 2001; Nikfardjam, M. P. et al., 2003, Pérez, S. et al., 2002a y 2003a; González, M. L. et al., 2005; Sánchez, M. et al., 2005, Sánchez, M. 2007) han puesto de manifiesto efectos favorables en el vino en esta fase. Esto se debe a que la presencia de compuestos fenólicos en estado libre es elevada, y por tanto se producen con mayor facilidad las reacciones de condensación y polimerización entre estos compuestos. En esta etapa la cantidad de oxígeno que se aplica varía entre 10 y 60 mL/L/mes y el tiempo de aplicación varía entre 2 y 3 semanas. En general no es conveniente seguir aplicando oxígeno durante el periodo de fermentación maloláctica, ya que el exceso de acetaldehído producido es totalmente metabolizado por las bacterias lácticas y puede favorecer la aparición de ácido acético. Por ello, si durante la aplicación del tratamiento de microoxigenación el vino comenzara la fermentación maloláctica es conveniente suprimir la microoxigenación y continuar microoxigenando después. El uso de lisozima ayuda a retrasar la fermentación maloláctica, permitiendo microoxigenar sin riesgo y obtener vinos con un color más estable y mejor equilibrados en boca (Gerland, C., 2005).

Otro momento importante es la aplicación de la microoxigenación durante el almacenamiento, maduración o como tradicionalmente se conoce, **envejecimiento** de los vinos desde el final de la fermentación maloláctica hasta el embotellado. Durante este periodo la cantidad de oxígeno aportada debe ser inferior a la usada entre el final de la fermentación alcohólica y antes del inicio de la fermentación maloláctica, ya que en este caso el pH del vino aumenta tras la fermentación maloláctica provocando el desplazamiento del equilibrio de disociación de los antocianos libres hacia la forma hidratada incolora más fácilmente oxidable que la forma catión flavilium. Estudios realizados por Smith, C. (2001) estimó que la dosis de oxígeno aplicable al vino se encontraba alrededor de 1mL/L mes, sin embargo, para obtener resultados similares a los producidos en las barricas, la dosificación se debe mantener entre 0,75 y 3 mL/L mes (Flanzy, C., 2000). Teniendo en cuenta que la dosificación sea muy estable, ya que las variaciones de la dosis de oxígeno provocarán reacciones muy diversas en el vino. En el caso de Moutounet, M. (2006), estableció que las dosis de oxígeno en los vinos pueden descender hasta valores de 10 µg/L durante la crianza tanto tradicional como alternativa. También puede ocurrir que durante la crianza en bodega sean necesarios aportes adicionales de oxígeno, porque no fueran cantidades suficientes las aportadas a través de la madera. En este caso en lugar de aportar oxígeno con

un microoxigenador, se usa un sistema cliqueur que realiza un aporte puntual de oxígeno, adicionando dosis de entre 1 y 2 mL/L, cantidades similares a las introducidas durante un trasiego (Sánchez, M., et al., 2007). Las concentraciones de oxígeno en el interior de los depósitos con productos alternativos a las barricas se deben mantener en valores promedios de 10 a 40 µg/L (Nevares, I. et al., 2008).

Como se ha indicado con anterioridad, las características del vino con el que se esté trabajando es un parámetro muy importante en el cálculo de las dosis de oxígeno a aportar. Así, las mayores dosificaciones de oxígeno (hasta 2mL/Lmes) se aplicarán en vinos con estructura fenólica elevada y en vinos con carácter vegetal pronunciado. Los vinos con una concentración menor en compuestos fenólicos podrán añadirse dosis de hasta 75 mg/L mes (Flanzy, C. 2000). Pero cómo conocer la dosis de oxígeno disuelto existente en el vino en cada momento del proceso de manera precisa sería la gran herramienta que permitiría definir las necesidades de oxígeno en el vino. Estudios realizados por Moutounet, M., et al., (2001) muestran que la medición del oxígeno disuelto en los depósitos de acero inoxidable estancos se encuentra generalmente en valores de menos de 30 µg/L y se consume en el proceso de permanencia del vino en los depósitos. No obstante, se constata que no se encuentra más oxígeno disuelto de media en las barricas que en los depósitos de otro tipo de materiales. Esta observación ha conducido a definir la oxidación controlada como un aporte lento y continuo de oxígeno de manera que la velocidad de este aporte sea inferior a la velocidad de consumo del mismo, no habiendo nunca acumulación de oxígeno disuelto (Moutounet, M., et al., 2001). Dado que el control del oxígeno disuelto en el vino es fundamental para la adecuada aplicación de la técnica de microoxigenación, resulta imprescindible al desarrollo de técnicas de medición del oxígeno disuelto para la correcta gestión y control del proceso.

### III.9. FENÓMENOS DURANTE EL ENVEJECIMIENTO DE LOS VINOS TINTOS

#### III.9.1. Cambios físico-químicos del vino en barrica

Durante el envejecimiento se producen cambios en la composición del vino envejecido que van a determinar los cambios en las características organolépticas, lo que requiere un importante conocimiento de los fenómenos implicados. A modo de ejemplo se ven representados en la figura 21, y son descritos brevemente a continuación, realizando un recorrido más detallado en lo concerniente a los procesos que implican a los compuestos fenólicos.

**Evaporación.** Las pérdidas de volumen durante el envejecimiento de bebidas alcohólicas se definen con el nombre de mermas. Así, se observa un descenso del 2 % al 3 % del volumen en un año de envejecimiento, dependiendo del tamaño de la barrica, temperatura, humedad relativa, circulación de aire alrededor de la barrica. Se ha demostrado que tanto el agua como el etanol escapan de la barrica durante el envejecimiento de bebidas alcohólicas (Guymon, J. F. et al., 1972).

Cuando la humedad ambiental se eleva las pérdidas de etanol pueden superar a las de agua, en estas condiciones, se produce una extracción superior de fenoles. El agua, debido a su bajo peso molecular (PM=18), tiene un grado de difusión más alto que otras sustancias, como el etanol (PM =46) debido a la difusión y evaporación. La temperatura y la humedad influyen las pérdidas de volumen, siendo la

temperatura determinante. La humedad ambiental crea un gradiente en contra de la evaporación de agua; sin embargo el etanol no tiene que vencer gradiente alguno (Singleton, V. L., 1995). Como consecuencia, en el interior de la barrica el volumen disminuye y los constituyentes volátiles y no volátiles se concentran, pero la concentración del etanol en el volumen restante depende de la velocidad relativa de pérdida de agua y etanol. Estas pérdidas por evaporación hacen que se produzca un aumento del extracto seco y de la acidez total (Tesfaye, W. et al., 2002).

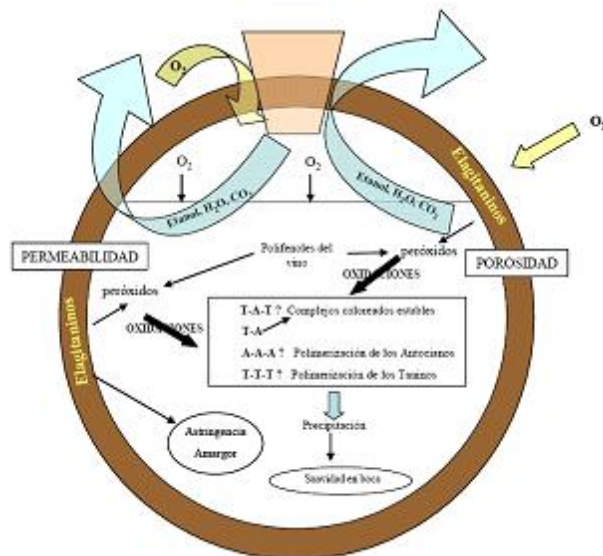


Figura 21: Procesos durante la crianza en barrica (fuentes: Feuillat, F. et al. 1998, Sánchez, M., et al., 2007).

**Extracción de componentes de la madera.** Como se ha indicado anteriormente se produce la extracción de sustancias de la madera, cuya concentración en un tiempo dado es proporcional a la relación superficie/volumen; es decir, el tamaño de la barrica tiene importancia en la concentración de los fenoles en el producto envejecido. Una barrica comercial presenta un volumen de 225 L y una relación superficie/volumen de 90 cm<sup>2</sup> /L, siendo su grado de extracción mayor que el de una barrica de mayor tamaño. Igualmente, hay que tener en cuenta la edad de la barrica, ya que conforme aumenta la edad disminuye la capacidad de cesión de sustancias.

Numerosos autores han estudiado la cinética de extracción de compuestos a partir de la madera, tanto volátiles como fenólicos, y su contribución a las características sensoriales del vino (Rous, C. et al., 1983; Aiken, J. W. et al., 1984; Maga, J. A., 1989; Pontallier, P. et al, 1992; Francis, L. et al., 1992), demostrándose en los resultados una rápida disolución los primeros días, debido a la disolución de los compuestos de la superficie de la madera, disminuyendo la extracción a partir de la segunda semana. Mediante un modelo matemático basado en la capacidad de cesión de fenoles, concluyendo que el mecanismo de transporte de fenoles se produce por la penetración del líquido en la madera, siendo éste el factor limitante. Además, cuando el etanol está en mayor contacto con la matriz de la madera y debido al efecto de la alcoholólisis de la lignina, la extracción de los aldehídos es superior, destacando la extracción de siringaldehído, coniferaldehído, sinapaldehído y vanillina (Puech, J. L., 1987). El grupo de investigación Hernández, P. et al (2014) han analizado 75 compuestos volátiles encontrando compuestos directamente relacionados con la madera. Algunos de estos compuestos tienen mayor poder

discriminativo para distinguir a los vinos envejecidos en barricas de aquellos macerados con fragmentos de roble. Así la concentración media de eugenol es tres veces mayor en los vinos envejecidos en barricas que en alternativos. Llegando a la conclusión de que la relación que mejor determina si el vino ha envejecido en barricas o macerados con fragmentos ha sido la suma de las concentraciones de vainillina y acetovanillona dividido por la concentración de eugenol. Según el criterio de estos investigadores, si la relación entre acetovanillona+vainillina/eugenol es superior a 20, esto significa que los vinos son envejecidos con fragmentos de roble ahora bien, si la relación de la vainillina + acetovanillona / eugenol es inferior a 20, los vinos habrán envejecido en barricas. Otro criterio aplicado ha sido la suma de las concentraciones de vainillina, furfural o siringaldehído, llegando a la conclusión de que si son inferiores a 20 mg/L, se considerará que los vinos han tenido una extracción mínima.

**Oxidación y reacción entre los componentes.** A través de los poros de la madera o intersticios de las duelas, así como también a través del tapón, se produce una entrada de aire y oxígeno. Este oxígeno juega un papel importante en muchas de las reacciones químicas que ocurren durante el envejecimiento. Los fenómenos de oxidación se consideran generalmente favorables, o incluso indispensables, para el apropiado desarrollo organoléptico en los vinos (Cutzach, I. et al., 2000). A lo largo de la crianza en barrica, Ribéreau-Gayon, J. (1933) estableció que la cantidad de oxígeno que penetra en los vinos tintos varía entre 15 y 40 mg/L y año, según las prácticas de las bodegas. Este oxígeno podría difundirse entre los poros de la madera, aunque previamente debe vencer la corriente de agua y alcohol que va en sentido contrario. Si fuera este el caso, podría reaccionar con los componentes de la madera susceptibles de ser oxidados tales como el ácido gálico y los elagitaninos (Mourgues, J., et al., 1973).

La reacción directa entre el oxígeno y los compuestos no es químicamente favorable, ya que el oxígeno molecular ( $O_2$ ) es una especie paramagnética que en su configuración electrónica tiene dos electrones desapareados que le confieren un estado triplete de mínima energía. El oxígeno molecular en estado normal se describe como un radical doble, condición que hace que el oxígeno no pueda reaccionar con los compuestos orgánicos (entre ellos los compuestos fenólicos) de forma directa, ya que sería un proceso sin cambio de electrones, existiendo por tanto una barrera cinética que impide el comienzo de la oxidación. Por ello, el oxígeno sólo puede reaccionar con moléculas que tengan electrones desapareados, es decir, con radicales libres, siendo de esta forma activado o excitado, para luego participar en las reacciones oxidativas acopladas a los compuestos fenólicos (Cheynier, V. et al., 2003). El oxígeno molecular puede ser excitado, al estado singlete, aumentando su reactividad, por la luz en presencia de pigmentos fotosensibles como la clorofila, vitamina B<sub>2</sub> o riboflavina, el caroteno o sus derivados (Singleton, V. L., 1987), o por acomplejamiento con iones metálicos (Ribéreau-Gayon, J., 1933; Cacho, J. F. et al., 1995; Oszmianski, J. et al., 1996; Makris, P. et al., 2000). La limitación del oxígeno molecular en estado triplete puede ser también superada por la adición de un electrón por parte de iones metálicos de transición, a través de la reducción de dichos iones, dando lugar a un radical superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ), especie que estará en equilibrio con su forma protonada, el radical hidropéroxilo ( $HO_2^{\cdot}$ ), encontrándose principalmente en esta forma al pH del vino. La transferencia de un segundo electrón produce el anión peróxido ( $O_2^{2-}$ ), el cual también está en equilibrio con su forma protonada el peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) (Danilewicz, J. C., 2003).

La oxidación del etanol se considera reacción acoplada al peróxido de hidrógeno que se produce en la oxidación de fenoles. En un segundo estadio, el ácido acético, procedente de la madera esterifica al etanol formando acetato de etilo. El oxígeno disuelto entrafia la formación de peróxidos, oxidantes intermedios, que transmiten su oxígeno a otros constituyentes que posean una forma oxidada más estable que la suya (Wildenradt, H. et al., 1974).

**Precipitaciones de diversas sustancias del vino.** Se pueden deber a simples decantaciones de sustancias y microorganismos que el vino contiene en suspensión, como restos de tejidos vegetales, levaduras y bacterias; o a la insolubilización de determinadas sustancias contenidas en los vinos, como proteínas coaguladas por los taninos de la madera, polisacáridos insolubilizados por el alcohol, precipitaciones del ácido tartárico, ya sea como tartrato cálcico o como bitartrato potásico (más frecuente), y/o de taninos polimerizados de alto peso molecular, así como también de materia colorante, que afectan al equilibrio químico del resto de los componentes del vino.

### **III.9.2. Cambios de los compuestos fenólicos del vino durante el envejecimiento en barrica**

Durante el envejecimiento de un vino tinto se producen diversas reacciones en medio ácido. Estos procesos sirven para explicar la pérdida y estabilización de color, la pérdida de taninos por polimerización y la disminución de la astringencia (Haslam, E. et al., 1980; Vidal, S. et al., 2002), fundamentando estos cambios en la presencia de compuestos fenólicos en cada momento (Glories, Y., 1984a; Ribéreau-Gayon, P. et al., 1998), destacando que también su concentración afectará a los cambios sufridos en el vino. A continuación se desarrollan los principales mecanismos que afectan a la evolución de los compuestos fenólicos durante el periodo de crianza.

#### **III.9.2.1. Reacciones que implican a los antocianos. Efecto sobre el color**

Las transformaciones de la estructura antociánica también se producen durante el envejecimiento del vino haciendo al color del vino tinto cambiar de rojo brillante a amarillo-rojizo, e incluso a amarillo-marrón, esto se fundamenta en las reacciones de degradación de los antocianos, además dentro del primer año de envejecimiento el 50 al 70 % de los pigmentos experimentan reacciones de condensación estabilizadoras con los flavan-3-oles (Sacchi, K. L. et al., 2005). Esto se explica por la carga positiva del catión flavilium que lo hace poco estable, pero puede derivar a dos formas que se traduce en especies neutras, una es el equilibrio ácido-base y otra es mediante un proceso de hidratación (Fulcrand, H. et al., 2006).

**Equilibrio ácido-base.** Este primer mecanismo de equilibrio ácido-base corresponde a la transferencia de un protón, donde el catión (AH<sup>+</sup>) es la molécula ácida y la base quinoidal neutra (A) es la especie básica. Este equilibrio se produce de manera instantánea (Brouillard, R. et al., 1977a, b) y es dependiente del pH del medio.

**Hidratación de las antocianinas.** Esta reacción se basa en la adición nucleofílica de agua al núcleo pirilio, produciéndose con mayor frecuencia en el C2 que en el C4 de la antocianina, manteniendo una posición de equilibrio por una hidratación constante. Los productos obtenidos de la hidratación son hemiacetales incoloros (AOH), que a su vez pueden convertirse en calconas. Esta reacción de hidratación, de manera más lenta que la conversión ácido-base, requiere varias horas para llegar al equilibrio. La proporción de las formas flavilium y hemiacetal se determinan por el valor del pH en el vino (Brouillard, R. et al., 1977 a y b). Así a pH medio del vino, el 90 % de las antocianinas son cationes hidratados de flavilium. En esta forma, las antocianinas reaccionan como nucleófilas a través de su anillo A, como flavanoles. Por lo tanto, se dan reacciones de estabilización del color en el vino. Las formas planas y la hidrofobicidad conferida por los anillos aromáticos favorecen apilamientos verticales entre antocianos (autoasociación) o con otras estructuras planas (copigmentación) o con residuos aromáticos conectados al pigmento (copigmentación intramolecular) (Brouillard, R. et al. 1989, Goto, T. et al., 1991, Dangles, O. et al., 1992a, b). Este mecanismo de formación de los copigmentos se verá más detenidamente en el apartado III.12.2, así como sus propiedades sobre el color en los vinos.

**Reacciones de degradación de los antocianos.** La degradación de los antocianos comporta una pérdida irreparable de color del vino y por tanto ha de ser una de las reacciones que se han de limitar para favorecer la estabilización de la materia colorante del vino. Glories, Y. (1978) estudió una degradación de tipo oxidativa en los antocianos. Los antocianos en solución en el alcohol acidificado (0,1 % HCl), expuestos a la luz, se decoloran en algunos días, ya que el oxígeno y la luz actúan como catalizadores de la reacción. También influyen en la reacción la naturaleza, concentración de alcohol (etanol, metanol,...) y presencia de dihidroflavonoles en medio de la reacción. Descubriéndose que la malvidina resiste mejor que la cianidina a la oxidación cuidada que acompaña a la crianza de los vinos tintos, debido a la sustitución del anillo B (Ribéreau-Gayon, P. et al., 1998). Los antocianos son compuestos bastante inestables cuando se encuentran en forma libre. Esta inestabilidad en formas libres se traduce en una disminución de su concentración (Ribéreau-Gayon, P. et al., 1998). La inestabilidad de los antocianos en forma libre se debe al pH del vino, puesto que el catión flavilium está en equilibrio con la forma incolora hemiacetal (Cheminat, A. et al., 1986) y en esta última forma el antociano es fácilmente oxidable. Sin embargo en su forma coloreada, el catión flavilium se estabiliza y por tanto estos compuestos son menos oxidables. Así, pigmentos en los cuales el sistema flavilium esté estabilizado; como los que se generan en las uniones de antocianos con piruvatos (Fulcrand, H. et al., 1998; Romero, C. et al., 1999); presentan menor tendencia a la oxidación.

**Reacciones en las que se ven implicados los flavanoles.** Como ya se ha indicado en varias ocasiones, la oxidabilidad es una característica de la función fenol pudiendo producirse por vía química o enzimática (tirosina). El estudio de las propiedades oxidorreductoras de los polifenoles presenta interés debido a sus reacciones con el resto de los compuestos presentes en el vino, aunque también tienen gran interés por sus implicaciones nutricionales, ya que tienen la propiedad de neutralizar a los radicales oxigenados responsables de la degradación de los tejidos que acompañan al envejecimiento celular. Los mecanismos oxidativos puestos en juego son muy complejos; sobre todo en medio ácido; la luz, la

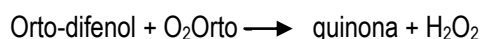
temperatura, la presencia de hidroperóxidos y de ciertos metales favorecen la formación de radicales oxigenados como veremos a continuación.

**Procesos de oxidación** La oxidación de los compuestos fenólicos que presentan grupos hidroxilo (OH) en la posición orto es muy elevada, debido a la pérdida de uno o dos electrones. Esta pérdida de electrones se produce porque en la posición orto se refuerza la densidad electrónica del anillo por efecto mesomérico de los grupos hidroxilos donadores de electrones, que al aumentar la acidez de los OH, se facilita la pérdida de un protón (H<sup>+</sup>) resultando un defenoato fácilmente oxidable, que al perder uno o dos electrones se transforma en una semiquinona o quinona respectivamente, muy reactivas.

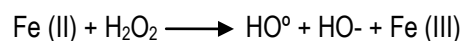
Las semiquinonas siguen siendo inestables y pueden perderse a través de procesos de dimerización o dismutación (Fulcran, H. et al., 2006). El proceso de dimerización es especialmente común entre dos semiquinonas que reaccionan para dar un oligómero (ortodifenol) nuevamente oxidable, y por otro lado por dismutación, que es una reacción común cuando la semiquinona parte de catecoles. Como resultado de esta dismutación se obtiene la correspondiente orto-quinona y la generación del catecol de partida; dando lugar a un nuevo ortodifenol (Dangles, O. et al., 2000).

La propia orto-quinona es inestable por su alto carácter electrofílico pudiendo reaccionar de tres maneras. La primera formando dímeros o polímeros de mayor tamaño cuando reacciona con el núcleo de la molécula de catecol. Según Guyot, S. et al. (1996), la oxidación de varios dímeros de catequina muestra la presencia de vínculos específicos en sus estructuras ubicadas entre el anillo B y A. En segundo lugar, puede someterse a la adición nucleofílica con otros compuestos altamente nucleófilos tales como residuos de péptidos de aminoácidos o proteínas, cisteína u otros fenoles y en tercer lugar, se oxida por la reducción de especies como el ácido ascorbato u otros fenoles. Los compuestos oxidados (nuevos orto-difenoles) se regeneran en compuestos cada vez más reductores, consumiéndose todo el oxígeno disuelto en estos sistemas que protegen así a otros muchos compuestos de la oxidación, como los antocianos libres. Proceso común en compuestos como ácido caféico, (+)-catequina, (-)-epicatequina, (+) epigalocatequina, ácido gálico, proantocianidinas y taninos hidrolizables. (Sanchez, M., et al. 2007). Y a partir de compuestos monoméricos, se pueden formar dímeros, trímeros y así sucesivamente, hasta llegar a formas poliméricas condensadas. Sin embargo, cuanto más voluminosos sean los compuestos oxidados, más débil es la probabilidad de que dos moléculas estén en posición de combinarse y la reacción de generación se hará más lenta (Lemaire, T., 1995).

En soluciones ácidas como el vino, los iones metálicos como el Fe (III) son eficientes catalizadores de los procesos de oxidación (Fulcran, H. et al., 2006) descritos anteriormente. Resumiéndose en la siguiente ecuación el proceso de autooxidación:



La reducción del peróxido de hidrógeno (HO<sup>•</sup>) con trazas de metal (Fe (II)) produce un radical hidroxilo muy reactivo (HO<sup>•</sup>) y se regenera nuevamente el ión férrico (Fe (III)), como se observa en la reacción siguiente:





Alternativamente, el peróxido de hidrógeno por su alto poder oxidante, puede oxidar el etanol ( $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ ) a acetaldehído ( $\text{CH}_3\text{CHO}$ ) en presencia de Fe (II) (Inui, T. et al., 2004) formándose preferentemente el radical  $\alpha$ -hidroxietil ( $\text{CH}_3\dot{\text{C}}\text{HOH}$ ), fuertemente reductor, que se oxida rápidamente por los iones férricos, semiquinonas o quinonas a acetaldehído (figura 22):

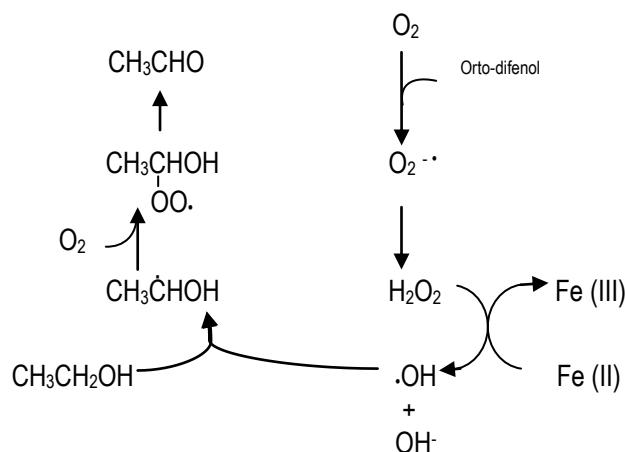


Figura 22: Reacción de oxidación del etanol a acetaldehído en presencia de Fe

Del mismo modo, el ácido tartárico se oxida en presencia de trazas de hierro y oxígeno molecular dando como resultado ácido glioxílico ( $\text{HCO-COOH}$ ) que también contiene un resto aldehído. En consecuencia, la oxidación genera dos especies que reaccionan con los polifenoles: reacción directa obteniendo productos de la oxidación, tales como semiquinonas y quinonas, y aldehídos, como el acetaldehído. El ácido tartárico al estar en una concentración elevada en el vino compite con los catecoles por el Fe (III). Además, la formación de ácido glioxílico puede participar en la condensación de flavanol-flavanol, dando lugar a la formación de compuestos tanto incoloros como amarillos (Fulcrand, H. et al., 1997). Por tanto, se admite en general, que los ácidos benzoicos se pueden generar a partir de los aldehídos correspondientes por proceso de oxidación de los fragmentos de ligninas durante el envejecimiento con la generación de vanillina y siringaldehído (Viro, C. et al., 1994).

**Adición de anhídrido sulfuroso.** El anhídrido sulfuroso ( $\text{SO}_2$ ) se utiliza comúnmente en vinificación y puede presentarse en diferentes formas químicas en función del pH del vino. El ión bisulfito puede combinarse establemente con el acetaldehído (Burroughs, L. F. et al., 1973) y de forma menos estable con otros compuestos (azúcares, ácidos y antocianos), dando lugar al anhídrido sulfuroso combinado (Burroughs, L. F. et al., 1973), el cuál carece de actividad antioxidante. Por ello, la presencia de anhídrido sulfuroso libre en exceso en el vino, puede combinarse con el acetaldehído generado durante una oxigenación moderada y evitar que el acetaldehído participe en las reacciones de combinación y polimerización de los antocianos y taninos. Sin embargo, produce un aducto no coloreado con las formas color rojo de los antocianos (Jurd, L., 1963) y esta unión antociano-sulfito permanece estable a pH del vino (3,2 a 4) (Fulcrand, H. et al., 2006).

Sin embargo, la principal función antioxidante del anhídrido sulfuroso es la reacción con el peróxido de hidrógeno, limitando la oxidación del etanol y por tanto la formación de acetaldehído, así como la

oxidación de otros compuestos del vino (Boulton, R. et al., 1996). Singleton, L. (1974) ha observado en soluciones modelo que cantidades elevadas de anhídrido sulfuroso del orden de 177 mg/L no eran suficientes para evitar la formación de acetaldehído. Sin embargo, al ser un sistema modelo no se cuantificaron todas las reacciones acopladas dependientes de la presencia de otros compuestos en el vino, como los fenoles.

**Policondensación de aldehídos.** Los aldehídos pueden someterse a reacciones de policondensación con los flavonoides, acetaldehído, ácido glioxílico, furfural, e hidroximetil furfural, que se derivan del azúcar formado durante la deshidratación sufrida por el roble en su tostado y se extraen durante crianza en barrica, reaccionan con los flavonoides y las formas hidratadas de antocianinas (Es-Safi, N. et al., 2004). Bajo condiciones ácidas el aldehído es un poderoso electrófilo, produciéndose una sustitución electrofílica en el anillo A de los flavonoides, donde el hidrógeno C8/C6 da como resultado el correspondiente alcohol. Esta deshidratación intermedia produce un nuevo carbocatión, que a su vez reacciona con un segundo flavanol nucleofílico. La reacción comienza de nuevo desde el dímero de reciente formación, lo que en última instancia, da lugar a los polímeros. Cuando las antocianinas están implicadas en la reacción, se generan pigmentos poliméricos de coloración morada (Fulcrand, H. et al., 2006).

**Formación de enlaces interflavanos y su división.** El tamaño de los taninos en los vinos se determina por la formación o rotura de los enlaces interflavanos (Haslam, E., 1980). En consecuencia, la distribución del tamaño de la fracción de taninos se debe en parte a la relación de los flavonoides de monómeros a polímeros. Como se demostrara en un vino modelo (Vidal, J. C. et al., 2002), un exceso de monomerización disminuye el grado medio de polimerización de la fracción de taninos, en un medio de control a pH conocido (2,0 a 3,2) (Vidal, J. C. et al., 2002), pero no se produce por encima de pH 3,8 (Salas, E. et al., 2003). Otros experimentos medidos a valores intermedios de pH han aclarado el impacto que tiene este proceso sobre la distribución general del tamaño de los taninos en el vino (Fulcrand, H. et al. 2006).

**Polimerización de flavanoles.** Los flavanoles monómeros y sus polímeros; los taninos condensados o procianidinas; presentan una clara tendencia a polimerizar de forma directa o por mediación del etanal. La polimerización da lugar a moléculas cada vez más grandes. Se proponen varios mecanismos de polimerización de los flavanoles:

Polimerización mediante formación de un carbocatión. Se fundamentan en la propiedad de las procianidinas de formar un carbocatión en medio ácido. Esta reacción es reversible y el carbocatión sigue reaccionando en sentido contrario, aunque la unión no tiene por qué ser con la misma molécula de flavanol. Todo esto origina un conjunto de procesos de ruptura y recombinaciones que comportan que a lo largo del tiempo se produzca un incremento en el grado de polimerización de las procianidinas. Este tipo de reacciones no requiere la presencia de oxígeno, por lo tanto tendrá lugar tanto en depósito, en barrica, como en botella (Cheynier, V. et al., 2000b). Dicha reacción se produce hasta que los polímeros alcancen tamaños tan grandes que precipiten al volverse insolubles. Como consecuencia de su

insolubilización se produce una disminución de la astringencia y del sabor amargo del vino, pero también del cuerpo y de la capacidad del vino para el envejecimiento (Rivas, J. C. et al., 1995).

Polimerización mediante formación de semiquinonas. Para esta reacción se requiere la presencia de oxígeno como sustrato y la presencia de hierro o cobre como catalizadores, como ya se viera anteriormente en el proceso de oxidación de los flavonoides. Tras la formación de semiquinonas éstas formarán un enlace estable, lo que da lugar a la unión colateral de dos moléculas de procianidina (Galvin, C., 1993; Ribéreau-Gayon, P. et al., 1998).

Polimerización mediante participación del etanal. El etanol en presencia de cationes hierro y cobre, puede ser oxidado a etanal que en medio ácido da lugar a un carbocatión (etanal activado), ya visto también en el proceso de oxidación de los flavanoles. Este carbocatión actúa sobre dos moléculas de flavanol unidas por un puente etilo. También estas uniones son susceptibles de romperse liberando así un flavanol-etilo capaz de reaccionar con otro flavanol. Al igual que en el primer caso, los polímeros están sujetos a procesos de ruptura y recombinación; que con el tiempo se traduce en un aumento del grado de polimerización (Quintana, A. M., 2001). Los dos últimos mecanismos de polimerización cruzada darán lugar a una disminución de la astringencia, ya que disminuye el número de grupos hidroxilos capaces de reaccionar con la proteína de la boca (Galvin, C., 1993; Ribéreau-Gayon, P. et al., 1998). La polimerización cruzada requiere de la presencia de oxígeno, así estos fenómenos se da al realizar los trasiegos y en las barricas debido a la microdifusión de oxígeno que existe a través de la porosidad de la madera (Zamora, F., 2003b) o en procesos de microoxigenación.

**Reacciones de estabilización: combinación entre taninos y antocianos.** El grado de reacción de los antocianos con el oxígeno disminuye cuando éstos presentan una cantidad menor de formas activas, estas formas pueden estar combinadas con otras sustancias, como los taninos, dando lugar a estructuras más estables. La evolución y estabilización del color de los vinos tintos durante su envejecimiento han sido atribuidas clásicamente a la formación de pigmentos poliméricos, por reacción entre los antocianos monómeros y los compuestos fenólicos mayoritarios de los vinos tintos, los flavan-3-oles. Los pigmentos formados son de estructura compleja, poco sensibles a la variación de pH y SO<sub>2</sub>. Estas condensaciones de taninos y antocianos pueden hacerse según varios mecanismos y conducir, en función de los enlaces puestos en juego, a compuestos de distintas características donde su color varía del naranja al malva.

Además de la oxidación y de la sustitución aromática electrofílica vista con anterioridad, los flavonoides experimentan la adición nucleofílica en el anillo central C cuando está positivamente cargado. Puesto que la carga positiva en el anillo C de antocianinas y de flavanoles es pH-dependiente, su deshidratación y las reacciones de rotura en enlace interflavano llevan a la formación de las uniones flavanol-antocianina (F-A+) en valores de pH más bajos y a las uniones de antocianina-flavanol (A+-F) sobre pH 3,8. La temperatura parece favorecer la formación de este último. Por tanto, se pueden dar dos tipos de pigmentos poliméricos, uno en los que la molécula de antociano ocupa la posición inicial del polímero (pigmento tipo A-T), y otro en los que el antociano es la parte final de éste (pigmento tipo T-A). Se sabe que el acetaldehído acelera la formación de estos pigmentos antociánicos poliméricos, actuando de nexo de unión entre los antocianos y los taninos.

**Condensación antociano-tanino (A-T).** Consiste en una adición directa, en la que la forma flavilium del antociano actúa de electrófilo y se une al flavanol que actúa como nucleófilo (Somers, T. C., 1971). Inicialmente se forma un flavano incoloro (A-F). Se puede pasar de la forma antociano-flavanol incolora, en presencia de oxígeno o de un medio oxidante, a la forma flavilium combinada (A+-F) de color rojo y en equilibrio, en función del pH, con su forma carbinol (AOH-F) que es incolora y con la forma quinona (AO-F) que es malva (Galvin, C., 1993). La conservación de soluciones de antocianinas al abrigo del aire, en presencia de flavanoles y en temperaturas superiores a 20 °C conlleva una disminución del color que puede reaparecer después de una aireación. Se otorga a estas reacciones la recuperación del color del vino que se da durante la crianza en barricas tras su pérdida en el periodo de maceración (Ribéreau-Gayon, P. et al., 1998).

**Condensación tanino-antociano (T-A).** Otro mecanismo de adición directa entre antocianos y flavanoles se fundamenta en la capacidad de las procianidinas de formar un carbocatión (Haslam, E., 1977). Este carbocatión actúa como electrófilo atacando las posiciones C6 ó C8 del antociano que está bajo forma carbinol y que actúa como nucleófilo. El producto que resulta es un aducto flavanol-antociano en forma carbinol (FAOH) incoloro y torna a rojo anaranjado tras la deshidratación. Nuevamente, en función del pH del medio se establece el equilibrio entre las otras formas coloreadas (Galvin, C., 1993). Esta reacción ocurre al abrigo del aire y no necesita oxidación, está favorecida por la temperatura y depende de la cantidad de antocianinas del medio (Ribéreau-Gayon, P. et al., 1998). Destaca en este mecanismo de acción los monómeros catequina, que por su falta de reactividad, ya que no pueden originar carbocatión (Quintana, M., 2001).

Condensación por un puente etilo. Otra posible reacción de unión entre antocianos y flavanoles implica la participación del etanal. Previo a su descripción cabe decir que un exceso de moléculas de etanal provoca una polimerización elevada de estas moléculas que da lugar a polímeros insolubles que precipitan. Esta reacción, junto con la oxidación directa de los antocianos libres, es una de las causas de pérdida de antocianos cuando la oxidación del vino es excesiva (Ribéreau-Gayon, P. et al., 1998). Se han postulado dos mecanismos posibles de condensación, según Dournel, J. M. (1985): este mecanismo implica que el antociano en forma flavilium, reacciona primero con el etanal y después el carbocatión que resulta, reacciona con el flavanol. Y según Timberlake, C. et al. (1976): el orden es el contrario, el flavanol reacciona con el etanal activado, el cual posteriormente se une al antociano.

El primer mecanismo no ha sido demostrado mientras que el segundo si ha sido confirmado por Escribano, M. T. et al. (1996), que lo ha atribuido a un fenómeno de copigmentación intermolecular, que se verá posteriormente. Otros como Timberlake, C. et al. (1976) lo han achacado a la disminución de la tendencia a hidratarse la molécula, lo que supone la no formación de carbinol en forma incolora, dando paso a las formas roja y malva. Estos compuestos son menos sensibles al efecto del pH y a la decoloración del SO<sub>2</sub> que los antocianos libres, no obstante, puede darse la rotura de los puentes etilo dando lugar a los precursores para reorganizarse nuevamente. Esta reacción se produce simultáneamente a la polimerización de flavanoles mediada por el etanal durante el envejecimiento en barricas a partir del oxígeno que atraviesa la madera. Ambas reacciones compiten entre sí y es la

proporción antociano-flavanol quien define que predomine una sobre otra. Además la despolimerización de los flavanoles deja paso a los antocianos para que reaccionen con el producto flavanol-etilo (Quintana, M., 2001 y Santos, C., 2001).

La contribución real de estos compuestos al color del vino no se ha definido completamente. Para algunos autores como Dournel, J. M. (1985) o Ribéreau-Gayon, P. et al. (1998) estas uniones son importantes en la estabilidad y evolución del color del vino siendo uno de los mecanismos más relevantes que tienen lugar durante la crianza en barrica. Para otros autores como Santos, C. (2001) o Quintana, A. M. (2001) estas uniones no pueden justificar el color del vino añejo ya que son inestables, además estas uniones presentan color rojo-violeta. Si bien difieren en esto, parece que sí hay consenso al pensar que el conjunto de combinaciones entre antocianos y flavanoles confieren al color del vino mayor estabilidad que los antocianos libres. También se señala que estas combinaciones ejercen un efecto favorable sobre la evolución de la astringencia del vino.

**Unión tanino-proteína: reacciones de complejación de las procianidinas.** Las interacciones entre taninos y proteínas pueden ser de tipo puentes de hidrógeno, de tipo hidrofóbico o por atracción electrostática aunque esta última parece tener menos importancia. Las interacciones iónicas dependen del pH y son reversibles pudiendo debilitar o reforzar los puentes de hidrógeno dependiendo de las condiciones. Esa interacción se da por medio de puentes de hidrógeno entre el oxígeno del carbonilo de los péptidos y los hidroxilos del ácido gálico. A mayor número de grupos fenólicos en el tanino, más se favorecen las oportunidades de reacción entre los taninos y las proteínas, por eso los taninos hidrolizables favorecen particularmente las uniones, ya que presentan numerosos grupos carboxilos (McLeod, M. N., 1974).

Otra explicación razonable descrita por Haslam, E. (1977) habla de un modelo que facilita la precipitación de los taninos por su interacción con las proteínas. Para pequeñas cantidades de proteínas, los polifenoles se distribuyen en monocapa en su superficie y disminuyen así su carácter hidrófilo; las proteínas se aglomeran y terminan por precipitar. Cuando la concentración en proteínas aumenta, los compuestos fenólicos distribuidos sobre su superficie sirven como agente de puente entre las distintas moléculas. La capa superficial hidrofóbica se vuelve a formar entonces y lleva a la precipitación de las proteínas. En general, las proteínas ricas en prolina, como las salivares y la gelatina (Ribéreau-Gayon, P. et al., 1998) tienen alta afinidad por los taninos, pues fácilmente forman puentes de hidrógeno con ellos (Hagerman, A. et al, 1998).

Las procianidinas también forman complejos con péptidos y polisacáridos mediante interacciones similares a las que se originan con las proteínas. Cuando ocurre, puede producirse la precipitación o no según la naturaleza concreta de la molécula acomplejante. En caso de que el complejo formado permanezca en disolución, se produce una disminución de la astringencia, ya que al estar bloqueados los grupos hidroxilos (OH), éstos no pueden unirse a las proteínas de la saliva (Haslam, E. et al., 1980; Zamora, F., 2003b).

Finalmente la unión entre las proteínas y las procianidinas da lugar a complejos macromoleculares que precipitan, comportando una disminución de la concentración de procianidinas en el vino y una disminución de la astringencia y del sabor amargo, así para evitar o forzar la precipitación de los taninos en exceso se dispone de variados elementos que influyen en la formación de estos compuestos como la adición de proteínas (gelatinas, manoproteínas), la modificación del tamaño y estructura del tanino, modificación del pH, tiempo de reacción, temperatura o fuerza iónica del solvente, aunque hasta el momento la adición de proteínas al vino parece ser la medida más eficaz empleada en enología para disminuir el exceso de astringencia en los vinos.

### III.9.2.2. Fenómenos de copigmentación

La copigmentación es un fenómeno que se produce típicamente en medio acuoso y que afecta a los antocianos monómeros en su forma de catión flavilium (los pigmentos) denominado factor, a la vez que a otros compuestos normalmente no pigmentados, denominados copigmentos o cofactores de copigmentación (Boulton, R. 2001). Las principales moléculas implicadas como cofactores son los flavan-3-oles, ácidos fenólicos, flavanoles y ácidos hidroxicinámicos, flavonoides y antocianos. Además pueden implicarse otras moléculas no fenólicas como alcaloides y aminoácidos (Zamora, F., 2003b). Se fundamentan en que las moléculas de los antocianos son planas y pueden formar asociaciones entre ellas o con otros fenoles, dando lugar a estructuras de tipo sándwich. Estos pigmentos no sólo incrementan el color del vino sino que también pueden modificar su tonalidad (Santos, C., 2001).

Los complejos de copigmentación se forman con mucha facilidad (se han medido constantes de complejación del orden de  $10^2$  -  $10^3$  mol/L), pero también se disocian fácilmente, por ejemplo diluyendo suficientemente o aumentando la proporción de ciertos solventes en el medio acuoso, como el propio etanol del vino o el ácido acético (Hermosín, I., 2003).

La copigmentación **intramolecular** se produce cuando la antocianina es portadora de su propio copigmento. Las antocianinas que sufren esta copigmentación poseen la habilidad de estabilizar preferentemente formas incolores hemiacetales con la formación de un enlace de puente de hidrógeno intramolecular entre el OH hemiacetálico y uno de los grupos hidroxilo libres del terminal del azúcar.

En el caso de la copigmentación **intermolecular** el copigmento es un compuesto diferente al antociano y mediante la interacción molecular que supone la copigmentación se protege el anillo pirilo del ataque del agua. Se ha demostrado que esta copigmentación ocurre en vinos, ya que en las uvas coexisten antocianinas y copigmentos. Este tipo de copigmentación ha sido más investigada en enología que la copigmentación intramolecular (Boulton, R., 2001). Esto es debido a que el efecto de la copigmentación intramolecular es más eficiente en la protección frente a la hidratación que en la copigmentación intermolecular. Con esta protección se logra dar estabilidad al antociano y se evita la pérdida de color (Brouillard, R. et al., 2003).

La **autoasociación de antocianos** es un caso particular de copigmentación ya que los antocianos tanto en forma flavilium como en forma quinoidal coloreada, pueden formar apilamientos verticales con hélice

de giro a izquierdas que se mantienen juntas mediante efectos hidrostáticos e hidrofóbicos (Hoshino, T. et al., 1981). Este efecto, protege al anillo de la hidratación logrando otorgar estabilidad a la molécula. A alta concentración, las formas coloreadas de los antocianos se asocian entre sí para formar dímeros covalentes por empilamiento hidrofóbico vertical. La estabilización del color es mejor cuando la antocianina lleva más de un residuo acil-aromático de la familia cinamoil.

### III.9.2.3. Color y copigmentación

El color de un vino tinto es uno de los parámetros más importantes de la calidad, que determina la evaluación perceptiblemente sensorial. Para evitar la pérdida de color de un vino durante el envejecimiento se precisa conocer la relación que guarda con el proceso de copigmentación y la forma de evitar la pérdida de copigmentos (Boulton, R., 2001).

Debido al fenómeno de copigmentación se produce un aumento de la cantidad de color, conocido como efecto hipercrómo, así como también un cambio de tonalidad hacia el color púrpura y azul, llamado efecto batocromo (Hidalgo, J., 2003) con un desplazamiento hacia longitudes de onda más elevadas, normalmente de 5 a 20 nm superiores. Este cambio espectral no está relacionado directamente con el incremento del color y viceversa. Existen algunas combinaciones que muestran primero un cambio en la longitud de onda y otras que muestran antes un incremento de color (Asen, S. et al., 1972). Sin embargo, la autoasociación se acompaña de un ligero desplazamiento de la banda de absorción en el visible hacia menores longitudes de onda (efecto hipsocromo), diferenciando este fenómeno de la copigmentación. Por tanto, aunque la autoasociación se engloba como fenómeno de la copigmentación se podría considerar un mecanismo de mejora del color, en competición con la copigmentación.

Varios grupos de investigación han observado que la magnitud del fenómeno de copigmentación va disminuyendo y, prácticamente, sus efectos sobre el color total del vino resultan inapreciables después de unos meses de envejecimiento. (Hermosín, I. et al., 2005; Schwarz, M. et al., 2005). La eficacia de los copigmentos (flavonoides monómeros) es distinta según el compuesto de que se trate, así la (-) epicatequina es mejor copigmento que su estereoisómero la (+) catequina (Broullard, R. et al., 1991; Escribano, M. T. et al., 1999). Lo mismo ocurre con sus procianidinas dímeras, la B2 (epi 4-8 epi) y B3 (cat 4-8 cat). La B2 es mejor copigmento que la (+) catequina (Cacho, J. F., 2003). Berké, B. et al. (2005) observó que la fuerza de asociación es menor en procianidinas dímeras con enlace interflavonoide C4-C8; excepto en la procianidina B1; que en las que poseían enlace C4-C6, porque los dímeros C4-C6 poseen una estructura conformacional más flexible y abierta que los respectivos dímeros C4-C8. Respecto a los flavonoles y los ácidos fenoles, son los compuestos que tienen una constante de asociación más fuerte con los cationes flavilium (Flanzy, C., 2000).

Por otra parte, ha habido estudios sobre adición de cofactores incoloros, como ácido caféico y catequina, antes de la fermentación y los resultados han mostrado una mejora significativa en la retención de los pigmentos en uvas de Pinot Noir y Listan Negro (Darias, J. et al., 2002). El aumento de color se ha debido a la mayor concentración de cofactores durante la maceración, y en consecuencia se ha elevado la extracción de antocianinas, ya que al formarse antocianos copigmentados; se facilitaba la extracción de

nuevas antocianinas libres. Darías-Martín, J. et al. (2001) mostró que la adición de catequina provocaba un aumento del color del vino, medido a 520 nm, del 13 %, mientras que el ácido caféico producía un aumento del 60 %, sin embargo con el tiempo estos valores se reducían, de tal manera que el ácido caféico alcanzaba un 33% después de 90 días y un 23 % después de 210 días. Este aumento de color era estable durante más de un año. Con la catequina, descendía el color un 8 % a los 210 días, respecto a las muestras de referencia.

#### III.9.2.4. Factores que afectan a la copigmentación durante el envejecimiento

Naturaleza del cofactor. Los mejores copigmentos son los compuestos fenólicos denominados flavonoles, pero en las uvas y en los vinos éstos se encuentran en pequeñas cantidades. Otros copigmentos de naturaleza fenólica encontrados en los vinos son los ácidos hidroxicinámicos (ácidos caféico, p-cumárico, ferúlico y sinápico), también en pequeñas cantidades. En cambio, los compuestos fenólicos más abundantes de los vinos tintos, los flavan-3-oles (monómeros como la (+)-catequina y la (-)-epicatequina, oligómeros como las proantocianidinas tipo B y polímeros como los taninos), son copigmentos poco efectivos. Finalmente, otras sustancias que pueden actuar como copigmentos son polisacáridos, aldehídos, ácidos orgánicos y aminoácidos. En cuanto a los taninos aportados por el roble, se ha encontrado que los galotaninos actúan como buenos factores de la copigmentación, no siendo tan eficaces los taninos elágicos (Chassaing, S. et al., 2010).

Concentración de copigmento y de antocianos. La concentración de antocianos de de copigmentos en el vino parece incrementar el proceso de copigmentación. La mayoría de los estudios exponen que los complejos formados por el malvidín provocan cambios en el color más acusados que los del resto de antocianos y, por otra parte, parece existir una mínima concentración de antociano para que los efectos de la copigmentación sean detectados (Jurd, L. 1963; Asen, S., et al., 1972). Esta concentración corresponde a 18,5 mg/L de malvidín-3-glucósido, concentración muy inferior a la encontrada frecuentemente en vinos tintos (300-500 mg/L) (Boulton, R., 2001). Pero además, se debe considerar que la eficacia del proceso de copigmentación no depende únicamente de las concentraciones del pigmento y del cofactor, sino también del ratio cofactor/pigmento. Así, para una pareja antociano-cofactor dada, la respuesta cromática ante un incremento del ratio cofactor/antociano sigue un desarrollo sigmoideal.

Efecto del solvente. Se ha observado que la copigmentación se produce en medios acuosos mediante ácidos en los que la mayor parte de los antocianos se encuentran en forma hemiacetal. Sommers, C. et al. (1979) mostró que se producía una importante pérdida de color cuando se añadían solventes no acuosos a los vinos. Al disminuir la cantidad de agua en la solución como solvente, también disminuye la magnitud de la copigmentación dado que dicho fenómeno recae en interacciones hidrofóbicas. La adición de sales iónicas y otros solventes capaces de romper la estructura ordenada del agua líquida, tienen un efecto destructor de la copigmentación, por la rotura de los apilamientos de copigmentación debida al debilitamiento de las interacciones hidrofóbicas como consecuencia de usar solventes orgánicos, como el etanol. Los solventes orgánicos rompen las asociaciones físicas como las formadas en la copigmentación y modifican la longitud de onda de máxima absorción. La solubilidad de los flavones aumenta a mayor



concentración de etanol, con lo que en vinos fortificados habrá más pigmentos disponibles para copigmentar (Boulton, R., 2001).

Sin embargo, los estudios encontrados son contradictorios en este respecto. Mientras que Miniati, E. et al. (1992), apreció que al aumentar el etanol se producía un aumento ligero del color a pH 3,5 para malvidina 3,5-diglucósido con catequina o quercetina, y Dangles, O. et al., (1992a), observó que la presencia de etanol debido a la fermentación, como covalente, no ejercía necesariamente una influencia negativa. Varios autores afirmaron que concentraciones de etanol reducen la copigmentación. Así, Brouillard, R. et al. (1991), encontró una pérdida de color copigmentado del 15 % en vinos de mesa y del 20 % en vinos fortificados. Esto puede deberse a la pérdida de antocianos por la desintegración de los complejos de copigmentación, formados previamente durante las primeras etapas de la fermentación, donde el color es máximo (Bautista, B. et al., 2004), ya que después de alcanzar el equilibrio de extracción se produce una adsorción secundaria por la pulpa de la uva, las pepitas y las levaduras, cuando la concentración de etanol aumenta hacia el final de la fermentación, con una reducción significativa de la copigmentación (Boulton, R., 2001). Además, Hermosín, I. (2003), observó que un vino de referencia (14 % etanol, 0.40 g/L acidez volátil) mostraba un efecto batocrómico de 4 nm y un aumento del color del 41 %, mientras que con un 22 % de etanol decrecía el color en un 18 %.

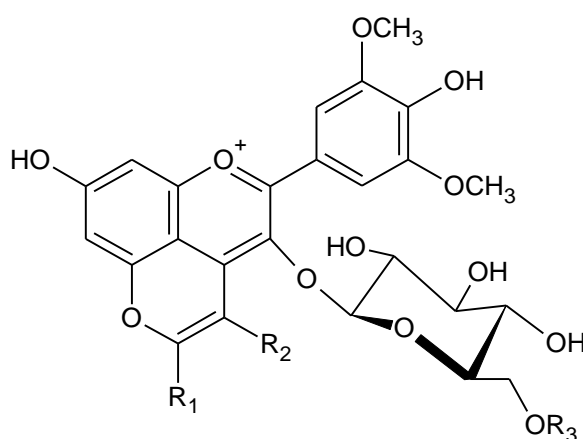
Envejecimiento en barricas. Inicialmente, se pensó que la copigmentación estaba presente solamente en vinos jóvenes (Somers, C. et al., 1988; Liao, H. et al., 1992). Durante el envejecimiento del vino se produce la adsorción tanto de antocianos libres como de cofactores en la superficie de las barricas (Ribéreau-Gayón, P. et al., 1998) y la alteración del equilibrio que se produce durante las reacciones de polimerización, podría ser la causa de la reducción de la copigmentación. Sin embargo, las formas copigmentables cedidas por la madera como ácido caféico y ácido p-cumárico, han ayudado a la precursión de la copigmentación intermolecular. En este aspecto, la copigmentación sería el paso preliminar hacia la formación de verdaderos enlaces covalentes entre antocianos y copigmentos. Destacando un dato importante en cuanto a la cata de vinos copigmentados en los que se produce una disminución del número de formas libres y por tanto, las sensaciones de astringencia y amargor (Boulton, R., 2001). Estos resultados han sugerido nuevas vías para lograr vinos con una mayor proporción de pigmentos estables, como el fomento de la hidrólisis de sus precursores durante las primeras fases de envejecimiento de los vinos tintos.

### III.9.3. Formación de piranoantocianos

Los estudios se han centrado en analizar e identificado una serie de pigmentos derivados de los antocianos monómeros que se caracterizan por poseer un anillo de pirano adicional que está fusionado con el esqueleto flavonoideo del catión flavilium del antociano original. Estos nuevos pigmentos han sido denominados piranoantocianos, y su formación ha constituido una vía adicional y bastante general, a la clásica formación de pigmentos poliméricos entre antocianos y taninos, en el proceso de estabilización del color durante el envejecimiento de los vinos tintos.

Para la formación de un piranoantociano, se necesita que un antociano monómero reaccione con una sustancia que contenga un doble enlace polarizado. Es decir, con las partes electrofílicas del catión flavilium activas; para formar nuevos pigmentos estables. Un anillo pirano adicional formado entre el hidroxilo adjunto del enlace C5 y el C4 de la antocianina original, da lugar a una piranoantocianina (figura 23). El nucleófilo de esta reacción debe tener un doble enlace polarizable, que se activa por un grupo donante de electrones. Por ejemplo, los ácidos p-hidroxicinámicos de las uvas reaccionan con los antocianos de las mismas (Schwarz, M. et al. 2003 b, c), dando lugar a la serie hidroxifenil-piranoantocianina (también denominados aductos del vinilfenol o vinilcatecol, este último también llamado pinotín A), que se obtuvo inicialmente a partir de los correspondientes vinil-derivados (Fulcrand, H. et al., 1996b, Sarni, P. et al., 1996). Otra clase de compuestos enológicos reactantes tienen en su composición el doble enlace, como acetaldehído, piruvato y otros metabolitos de las levaduras; que forman pigmentos de tipo piranoantocianinas (Fulcrand, H. et al., 1998, Benabdeljalil, C. et al. 2000, Mateus, N. et al. 2001), más comúnmente conocidos como vitisin A y vitisin B (Bakker, J. et al., 1997b, Revilla, I. et al., 1999b, Romero, C. et al. 2000a, Schwarz, M. et al., 2003c). La vitisin A procede de la reacción del 3-monoglucósido de malvidina con el ácido pirúvico, a través de la forma enólica de este último (doble enlace polarizado), y posterior descarboxilación (Fulcrand, H. et al. 1996b).

Estructuras más complejas, tales como flavavanilpiranoantocianinas se han detectado en los vinos (Francia, M. et al. 1997, Mateus, N. et al. 2002). Su formación requiere un flavanol, una antocianina, y acetaldehído. Dos vías de reacción se han propuesto (Atanasova, V., 2004). Una sería la reacción de los flavanoles con una piranoantocianina previamente formada a partir de acetaldehído y antocianina. Y la otra, un vinil-flavanol reacciona con antocianina. El vinil-flavanol resulta de la adhesión del dímero formado por la mediación del acetaldehído; por condensación de una antocianina y un flavanol (Fulcrand, H. et al., 2006).



**Metabolitos de las levaduras R<sub>1</sub>:** acetaldehído (H), piruvato (COOH). **Constituyentes del vino R<sub>2</sub>:** vinil-fenol (H), ácido caféico (COOH), flavanol (H). **R<sub>3</sub>:** H, á. caféico, á. p-cumárico, á. acético.

**Figura 23:** Estructura de las piranoantocianinas (Fulcrand, H. et al., 2006)

### III.9.3.1. Factores influyentes en la formación de piranoantocianos

Los piranoantocianoscianidines formados depende claramente de la variedad de uva (Pozo, M. et al. 2004, Schwarz, R. et al. 2004) y las condiciones de elaboración del vino; como la cepa de levadura empleada (Romero, C. et al., 2000b, Morata, A. et al., 2003), capaz de formar metabolitos secundarios como acetaldehído o el anión carboxilado del ácido pirúvico. Aunque hay estudios que definen que la formación de piranoantocianos derivados de los ácidos hidroxicinámicos a través de los 4-vinilfenoles formados por descarboxilación, catalizada enzimáticamente por las levaduras, no son activas frente al ácido caféico (Schwarz, M., et al. 2003a) y no se podría dar la reacción enzimática de formación. Lo que está bastante claro es que la variedad de uva y el proceso de elaboración de los vinos tiene un peso importante en la formación de estos compuestos y así lo abalan varios estudios realizados donde se ha encontrado pinotina A, (Alberto, M.R. et al., 2001) en vinos de la variedad Pinot Noir y formado a partir del ácido caféico. En vinos tintos de la variedad garnacha, la formación de piranoantocianos derivados de los ácidos hidroxicinámicos ocurre en dos etapas: (Rentzsch, M. et al., 2007) durante la fermentación alcohólica se forman pequeñas cantidades de los piranoantocianos derivados de los ácidos p-cumárico y ferúlico, por vía enzimática, que implicaría la hidrólisis de los precursores (ácidos cutárico y fertárico, respectivamente) y la posterior descarboxilación que originaría los muy reactivos 4-vinilfenoles; en una segunda fase, tras la fermentación maloláctica y algunos meses de envejecimiento, se observa la hidrólisis de los precursores de los ácidos caféico, p-cumárico y ferúlico (ácidos caftárico, cutárico y fertárico, respectivamente) y la reacción directa de éstos con los antocianos.

Los piranoantocianos se caracterizan por ser pigmentos antociánicos no decolorables por el bisulfito y bastante estables ante variaciones de pH en un amplio rango, porque tienen bloqueada la posición C-4 del anillo de pirano flavonoideo. Al contrario que los pigmentos poliméricos, que normalmente se encuentran en un estado coloidal en el vino y tienen tendencia a precipitar, los piranoantocianos son moléculas de un tamaño fijo y similar a la de los antocianos monómeros de los que derivan y se mantienen disueltos en el vino, por lo que tendrán poca tendencia a perderse en la precipitación de materia colorante de los vinos tintos envejecidos, o a quedarse retenidos en los filtros que se emplean en la filtración de los vinos.

Otra característica interesante de los piranoantocianos es que poseen un cromóforo distinto al de los antocianos monómeros, con distintas propiedades. Mientras los antocianos monómeros son unos pigmentos de color rojo (máximo de absorción a 520 nm para el 3-monoglucósido de malvidina, en medio acuoso a pH 1,5), los piranoantocianos lo son de color rojo-anaranjado (máximos de absorción sobre 498 - 512 nm en medio acuoso a pH < 2), la misma tonalidad de color que suelen mostrar los vinos tintos envejecidos. Además, mientras los antocianos monómeros son unos pigmentos que poseen unos cromóforos potentes (el coeficiente de absorción molar a 520 nm para el 3-monoglucósido de malvidina, a pH 1,5, es de 27000 L g<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>) y que incrementan su intensidad colorante al formar complejos de copigmentación, los piranoantocianos poseen unos cromóforos más débiles, con unos valores de coeficientes de absorción molar a 520 nm, a pH 1,5, del orden menos de la mitad de los correspondientes a los antocianos monómeros de los que derivan (Håkansson, E., et al., 2003). Por tanto para

concentraciones molares iguales, los piranoantocianos otorgan menor intensidad colorante y una tonalidad roja más anaranjada que los correspondientes antocianos monómeros, aunque con efectos sobre el color estabilizadores. Se conoce una piranoantocianina azul como pigmento, con un cromóforo más grande (Mateus, N. et al. 2003). Además la alta estabilidad de las piranoantocianinas ha provocado un creciente interés en el estudio enológico en su objetivo de lograr la estabilización del color en los vinos.

### III.10. MEDIDA DEL OXÍGENO DISUELTO EN VINOS

Las primeras mediciones del oxígeno disuelto en un vino fueron realizadas por Ribéreau-Gayon, J. (1933), con un método químico basado en la evaluación del sulfato formado por la oxidación del hidrosulfito de sodio. En 1956, Leland Clark desarrolló el sistema que lleva su nombre, la membrana de Clark. Se trata de un sistema amperométrico consistente en una célula de dos electrodos, cátodo y ánodo; los cuales están unidos por el electrolito y separados de la muestra por una membrana permeable. Los electrodos son habitualmente plomo (ánodo) y oro (cátodo) y el electrolito una solución de KOH. Cuando el oxígeno atraviesa la membrana y entra en contacto con el cátodo, éste se despolariza y se consumen los electrones, reduciendo el oxígeno electroquímicamente a iones hidroxilo. El ánodo a su vez reacciona con el producto de despolarización. De este modo se genera una corriente directamente proporcional a la cantidad de oxígeno reducida en el cátodo. La reducción del oxígeno se lleva a cabo entre 400 y 1200mV para ayudar a la celda a polarizarse (Thomas, O. et al., 2004). Desde entonces la utilización de sondas polarográficas para el análisis del oxígeno disuelto en líquidos se ha ido extendiendo a causa de su facilidad de uso.

Gilbert, T. W. et al.,(1982) basaron la medida del oxígeno disuelto en la formación de sustancias coloreadas medidas por espectrofotometría (como el carmín indigo), consiguiendo analizar muestras con rangos de concentración de oxígeno disuelto de 0,2 a 2,0 mg/L. De igual forma, White, A. F. et al. (1990), utilizaron como sustancia la Rodezina-D™, que tiene la propiedad de reaccionar con el oxígeno disuelto y formar un compuesto oxidado característico por su color rojo-azul, siendo su intensidad de color proporcional a la concentración de oxígeno y cuantificándolo a partir del porcentaje de absorbancia medida a una longitud de onda de 555 nm. Sin embargo este sistema se ve afectado por el color o la turbidez de un vino provocando desviaciones importantes.

Las tecnologías actuales de medición del oxígeno disuelto se basan en la **luminiscencia**. Se basan en la medida del oxígeno, en la intensidad y la disminución de la radiación luminiscente a lo largo del tiempo que el propio oxígeno es capaz de provocar en el material que forma la sonda (capaz de emitir luminiscencia). El oxígeno por sí sólo no tiene propiedades luminiscentes, pero puede modificar el efecto de la fluorescencia de otros compuestos sensibles al oxígeno reduciendo entonces la fluorescencia en intensidad y duración (Trygve, G., 2004). Los equipos existentes presentan diferentes opciones de medidas, desde la variación en la intensidad luminiscente provocada por el propio oxígeno presente en el medio, hasta la medida del tiempo que tarda en desaparecer la radiación luminiscente. Estos sistemas permiten la medida directamente en depósito o barricas (con sondas sumergibles) o en botella, mangueras...(con sensores), permitiendo así obtener valores reales del oxígeno disuelto en el vino en

cada momento de su producción (Nevares, I. et al., 2010). Además, los sistemas de medida del oxígeno disuelto que demanda actualmente la industria enológica son equipos de gran precisión, con capacidad de aportar mediciones fiables a niveles de  $\mu\text{g/L}$ , de fácil manejo y adaptados a las condiciones en bodega. También se cuenta con trabajos centrados en evaluar las ventajas e inconvenientes de emplear los distintos sistemas de medida para el control del oxígeno disuelto en los vinos, medida que se ve directamente afectada el grado alcohólico y los azúcares presentes en la muestra.

Por todo ello, se evidencia la importancia de determinar la cantidad de oxígeno aportado a los vinos y la gran importancia en la evolución del oxígeno disuelto de los mismos; de ahí que la medida del oxígeno bajo equipos de alta sensibilidad, precisión y en continuo sea primordial. La mayoría de los trabajos han analizado los efectos en las propiedades de los vinos de la aplicación de oxígeno en los vinos, sin evaluar ni el oxígeno real dosificado ni el oxígeno consumido por el vino (Cano, M. et al., 2007; Pérez, S. et al., 2009, Canas, S. et al., 2009; Ortega, M. et al., 2010; Cejudo, M. J. et al., 2011a, b; Pizarro, C. et al., 2013). Únicamente se cuenta con los trabajos realizados por UVaMOX (Nevares, I. et al., 2008 y 2009, Del Álamo, M. et al., 2010) en los que se evalúa el oxígeno consumido por el vino. Concretamente se realizaron trabajos para simular el envejecimiento de vinos en barricas con productos alternativos y microoxigenación, manteniendo en los vinos niveles de oxígeno disuelto semejantes a los encontrados en las barricas (unos  $20 \mu\text{g/L}$ ). Se demostró que cada tipo de madera requiere una dosificación diferente para mantener en el vino los niveles de oxígeno disuelto semejantes a los presentes en los vinos envejecidos en barricas ( $20 \mu\text{g/L}$ ). El estudio se realizó empleando astillas y tablones de diferentes maderas en una dosis que reproduzca las condiciones de barrica. Los resultados obtenidos pusieron de manifiesto que cuando se envejece con trozos de madera más grandes (tablones) el vino consume más oxígeno que cuando se trata con astillas y que el vino tratado con roble francés (*Q. petraea*) consume más oxígeno que cuando lo hace con roble americano (*Q. alba*) o roble español (*Q. pyrenaica*). Por lo tanto, la dosis de oxígeno necesaria para mantener en  $20 \mu\text{g/L}$  el nivel de oxígeno disuelto en un vino tinto será de  $2.13 \text{ mL/L.mes}$  con el empleo de astillas de roble francés,  $1.23 \text{ mL/L.mes}$  con astillas de roble americano,  $0.5 \text{ mL/L.mes}$  con astillas de roble español mientras que si se usan tablones será necesario dosificar  $3.3 \text{ mL/L.mes}$  si son de roble francés,  $2.45 \text{ mL/L.mes}$  de roble americano y  $1.34 \text{ mL/L.mes}$  si se emplean tablones de roble español. Es decir, que cuando se emplean tablones la dosis de oxígeno que debe ser superior a cuando se emplean astillas.



## **IV. MATERIALES Y MÉTODOS**





## IV. MATERIALES Y MÉTODOS

### IV.1. VINOS ESTUDIADOS

Se seleccionaron vinos elaborados a partir de uvas de *Vitis vinífera* de las variedades Tinto del País (D.O. Cigales) y Tinta de Toro (D.O. Toro). Se trabajó con vino de distintas añadas y zonas geográficas a fin de evaluar la evolución y modificación de cada vino tinto (los aspectos claves para esta tesis) a lo largo del proceso de envejecimiento, de manera que permitiera estudiar la influencia de la variedad y geografía diferente, dentro de la Comunidad Autónoma de Castilla y León. Los vinos fueron elaborados por bodegas de cada Denominación aportando a los mismos las características de procesado de vinificación tradicional en tinto de cada zona. Una vez concluidas las dos fermentaciones (alcohólica y maloláctica) los vinos se analizaron para determinar los parámetros básicos de partida del proceso de envejecimiento. A partir de esa fecha y para cada sistema estudiado, los vinos se envejecieron en la sala de crianza de la ETS de Ingenierías Agrarias de la Universidad de Valladolid, bajo condiciones controladas de humedad y temperatura. Se establecieron programas de análisis para cada vino con una periodicidad de entre 30 a 60 días durante la estancia en contacto con madera o depósito y con menor frecuencia tras su embotellado.

Vino tinto de la variedad Tinto del País. El vino se ha adquirido de la bodega La Legua S.L. (Fuensaldaña, Valladolid) acogida a la Denominación de Origen Cigales y se han empleado los materiales necesarios durante el desarrollo del envejecimiento mediante el sistema tradicional en barricas y en depósitos de acero inoxidable en contacto con distintos trozos de madera de roble americano, francés y húngaro (tabla 5).

Vino tinto de la variedad Tinta de Toro. El vino se ha adquirido de la bodega Viña Bajoz (Morales de Toro, Zamora) acogida a la Denominación de Origen Toro, y se han empleado los materiales necesarios durante el desarrollo del envejecimiento mediante el sistema tradicional en barricas y en depósitos de acero inoxidable en contacto con distintos trozos de madera de roble americano con distintos niveles de tostado (tabla 6).

**Tabla 4:** Parámetros enológicos básicos del vino Tinto del País de la DO Cigales y del DO Toro para el estudio de su comportamiento durante el proceso de envejecimiento (T0)

Parámetro	Vino inicial Cigales	Vino inicial Toro
pH	3,69	3,37
Acidez total (g/L)	4,6	5,5
Anhidrido sulfuroso libre y total (mg/L)	30 y 66	32
Azúcares (glucosa + fructosa) (g/L)	1,2	1,3
Grado alcohólico (% v/v)	13,4	13,7
Acidez volátil (g/L)	0,52	0,45
Ácido málico (g/L)	0,1	0,1
Ácido tartárico (g/L)	1,8	2,0
Potasio (mg/L)	1120	1190
Índice de polifenoles totales (IPT)	63	88
Antocianos totales (mg/L)	423	807
Extracto seco (g/L)	28,4	30,4
Glicerol (g/L)	9	8,6
Densidad relativa	0,9936	0,9937

## IV.2. DISEÑO DE LOS EXPERIMENTOS DE ENVEJECIMIENTO

**Envejecimiento del vino de la DO Cigales.** El mismo vino fue tratado en un total de 18 recipientes con madera durante 12 meses y durante los posteriores 14 meses en botella (figura 24):

- 3 barricas de roble de 225 L de distintos orígenes (1 x americano, 1 x francés y 1 x húngaro).
- 3 barricas de roble de 300 L de distintos orígenes (1 x americano, 1 x francés y 1 x húngaro).
- 12 depósitos de acero inoxidable de 100L a los que se les añadieron astillas o tablones de la misma madera que la de las barricas hasta alcanzar idéntica relación superficie/volumen. Teniendo en cuenta que la superficie de la barrica de 225L es 2,01 m<sup>2</sup> y de la de 300L es 2,73 m<sup>2</sup>, se han añadido 0,89 m<sup>2</sup> y 0,91 m<sup>2</sup> de astillas y tablones para imitar la superficie de contacto del vino con la madera de las barricas de 225 L y de 300 L. Para ello se cubicaron cada uno de los tablones y se midió la superficie de las astillas.
- 1 depósito de acero inoxidable de 100 L, denominado control.

También se ha contado con un depósito pulmón con el mismo vino que ha ayudado a lo largo de la estancia en madera a mantener las barricas completamente llenas. Los depósitos contaban con sistema siempre-lleno que permitió evitar el contacto del vino con el oxígeno. Las barricas de roble fueron adquiridas a la tonelería Magreñán, así como los tablones de madera de dimensiones 7 cm x 45 cm x 2,5 cm (ancho x alto x espesor) y las astillas de tamaño variable comprendido entre 7 y 20 mm. Las características de los robles usados para la fabricación de las barricas, los tablones y las astillas fueron las siguientes:

**Tabla 5:** Descripción de las características de las maderas de barricas, tablones y astillas para el envejecimiento del vino de la D.O. Cigales

<b>Depósito</b>	<b>Origen</b>	<b>Madera</b>	<b>Sistema de envejecimiento</b>
D0	no	0	control
B1	Americano	Barrica	Barrica 225L
B2	Francés	Barrica	Barrica 225L
B3	Húngaro	Barrica	Barrica 225L
B4	Americano	Barrica	Barrica 300L
B5	Francés	Barrica	Barrica 300L
B6	Húngaro	Barrica	Barrica 300L
D7	Americano	0.89 m <sup>2</sup>	Astillas
D8	Francés	0.89 m <sup>2</sup>	Astillas
D9	Húngaro	0.89 m <sup>2</sup>	Astillas
D10	Americano	0.91 m <sup>2</sup>	Astillas
D11	Francés	0.91 m <sup>2</sup>	Astillas
D12	Húngaro	0.91 m <sup>2</sup>	Astillas
D13	Americano	0.89 m <sup>2</sup>	Tablones
D14	Francés	0.89 m <sup>2</sup>	Tablones
D15	Húngaro	0.89 m <sup>2</sup>	Tablones
D16	Americano	0.91 m <sup>2</sup>	Tablones
D17	Francés	0.91 m <sup>2</sup>	Tablones
D18	Húngaro	0.91 m <sup>2</sup>	Tablones

El tiempo de envejecimiento ha sido de 12 meses en barrica y de 14 meses en botella, muestreándose cada 60 días en el período de envejecimiento en madera y aproximadamente cada 90 días durante el período de botella. Se han realizado un total de 11 muestreos de cada sistema por duplicado.



**Figura 24:** Vista general del montaje de los sistemas de envejecimiento del vino D.O. Cigales en la sala de barricas de la E.T.S. Ingenierías Agrarias de Palencia (Universidad de Valladolid)

**Envejecimiento del vino de la DO Toro.** El mismo vino tinto fue tratado en un total de 15 recipientes (figura 25):

- 6 barricas de 225 L de madera de roble francés (*Q. petraea*) y diferente grado de tostado: ligero (2 unidades), medio (2 unidades) y fuerte (2 unidades) de la tonelería Doreau.
- 9 depósitos de acero inoxidable de 210L y una altura de 2m que asegura la correcta disolución del oxígeno dosificado. Se emplearon astillas de la misma madera que la de las barricas hasta alcanzar idéntica relación superficie/volumen  $2,01 \text{ m}^2$  y así imitar la superficie de contacto del vino con la madera de las barricas de 225 L.
- 1 depósito de acero inoxidable de 100 L, denominado control.

Tanto las barricas como las astillas se han fabricado con roble de origen Francés (*Q. petraea* (Allier) suministradas por OenoAZ3 (Guipúzcoa). Los distintos niveles de tostado de las astillas se han obtenido con la mezcla de 4 tipos: astillas de madera fresca (BF, cuyo tratamiento ha sido el secado natural), astillas de secado simple (SCA), astillas a las que se le ha aplicado un tostado fuerte a  $180 \text{ }^\circ\text{C}$  (DC 180) y finalmente astillas con aplicación sobre ellas de un tostado fuerte plus a  $210 \text{ }^\circ\text{C}$  (DC210).

La tabla 6 presenta un resumen de las características de cada sistema de envejecimiento ensayado. El tiempo de envejecimiento ha sido de 6 meses en barrica y de 22 meses en botella, muestreándose cada

30 días en el período de envejecimiento en madera. Se han realizado un total de 9 muestreos en cada sistema por duplicado.

**Tabla 6:** Descripción de los tostados de las astillas empleadas en el envejecimiento del vino D.O. Toro

Depósito	Tostado	Mezcla	Tipo de envejecimiento	Recipiente
D0	no	no	control	Depósito
D1	Ligero	2 g/L BF + 2 g/L SCA	Astillas-MOX 1	Depósito + MOX
D2	Ligero	3 g/L BF	Astillas-MOX 2	Depósito + MOX
D3	Medio	2 g/L BF + 2 g/L DC180	Astillas-MOX 1	Depósito + MOX
D4	Medio	3 g/L DC180	Astillas-MOX 2	Depósito + MOX
D5	Fuerte	2 g/L BF + 2 g/L DC210	Astillas-MOX 1	Depósito + MOX
D6	Fuerte	3 g/L DC210	Astillas-MOX 2	Depósito + MOX
D7	Ligero	2 g/L BF + 2 g/L SCA a los 45 días	Astillas-MOX 3	Depósito + MOX
D8	Medio	2 g/L BF + 2 g/L DC180 a los 45 días	Astillas-MOX 3	Depósito + MOX
D9	Fuerte	2 g/L BF + 2 g/L DC210 a los 45 días	Astillas-MOX 3	Depósito + MOX
D10-D11	Ligero	Ligero	Barrica	Barrica
D12-D13	Medio	Medio	Barrica	Barrica
D14-D15	Fuerte	Fuerte	Barrica	Barrica



**Figura 25:** Vista general del montaje de los sistemas de envejecimiento del vino D.O. Toro en la sala de barricas de la E.T.S. Ingenierías Agrarias de Palencia (Universidad de Valladolid)

### IV.3. GESTION Y CONTROL DE LA MICROOXIGENACIÓN DE LOS VINOS

El tratamiento de microoxigenación se efectuó para el vino variedad Tinta de Toro. Se ha optado por la realización de este tratamiento a lo largo del proceso de envejecimiento del vino ya que en el estudio realizado para el vino variedad Tinto del País se observó una elevada astringencia en los vinos que permanecían en depósito frente a aquellos vinos que evolucionaron en bodega. Como se ha indicado, para la aplicación de la microoxigenación se empleó un Microoxigenador Ducounau-Laplace, de la marca OENODEV (figura 26). El equipo gestiona el aporte de oxígeno disuelto en concentraciones de mg/L a los recipientes de forma independiente por medio de cabezales provistos de difusores. A partir de una dosificación programable, el oxígeno circula (desde una bombona en la que se encuentra a una presión de 6 bares, a través de tubos de poliamida de 4 mm de diámetro) hasta el difusor que se encuentra inmerso en el vino. Este difusor se compone de una cerámica protegida por un cuerpo de acero inoxidable.

La cantidad de oxígeno aportada se fijó en función de las características del vino inicial, de los valores de oxígeno disuelto medido con un equipo LDO HQ10 de la marca HACH® con resolución 0,01 mg/L. Estas medidas han permitido mantener las dosis de oxígeno en todos los vinos envejecidos en los distintos sistemas, entre 0,01 a 0,1 ml/L.mes de acuerdo a las necesidades.

Se controló la temperatura y humedad relativa en las muestras de vino mediante un termómetro de bulbo húmedo y un termómetro de bulbo seco, graduados ambos de 0 a 60 °C QUIMILID, manteniendo mediante equipo refrigerador automático la temperatura de  $15 \pm 1$  °C y la humedad de  $85 \pm 5$  % durante el tratamiento.



Figura 26: Microoxigenador empleado en el envejecimiento del vino D.O. Toro

Los vinos tras su permanencia en contacto con la madera (en barricas o en depósitos) fueron embotellados en botellas de cristal verde de 750 mL y taponadas con corcho natural suministrado por Rich Xiberta.

#### IV.4. ANALISIS QUIMICOS DE LOS VINOS DURANTE EL ENVEJECIMIENTO

El estudio analítico se centró en los parámetros enológicos básicos, la familia y naturaleza de compuestos fenólicos, los parámetros cromáticos, la edad química y copigmentación así como los compuestos fenólicos de bajo peso molecular y los antocianos monómeros y sus derivados acilados de los vinos tintos envejecidos.

##### IV.4.1. Determinación de los parámetros enológicos básicos

Los parámetros determinados y los métodos analíticos empleados para el análisis básico de los vinos fueron los que se describen en el cuadro siguiente, y fueron realizados por el laboratorio del Instituto Tecnológico Agrario acreditado (Norma UNE-EN ISO/IEC 17025) de la Estación Enológica de Castilla y León.

**Tabla 7:** Parámetros básicos y métodos analíticos empleados en el análisis de los vinos.

Parámetro	Método analítico
pH	método CE (Reglamento nº 2676/90)
Acidez total (g/L)	método CE (Reglamento nº 2676/90)
Anhídrido sulfuroso libre y total (mg/L)	método iodométrico automatizado
Azúcares (glucosa+fructosa) (g/L)	método enzimático (Novakit)
Grado alcohólico (% v/v)	método CE (Reglamento nº 2676/90)
Acidez volátil (g/L)	método enzimático (Chema-Italia)
Ácido málico (g/L)	método enzimático (Boehringer-Mannheim)
Ácido tartárico (g/L)	método colorimétrico
Potasio (mg/L)	método CE (Reglamento nº 2676/90)
Índice de polifenoles totales (IPT)	D.O. 280 nm en cubeta de 1 cm (vino diluido 1/100)
Antocianos totales (mg/L)	Método ultravioleta-visible
Extracto seco (g/L)	Método densimétrico
Glicerol (g/L)	Método enzimático
Densidad relativa	PNT1-09 Densimetría electrónica

##### IV.4.2. Determinación de los compuestos fenólicos

Se determinaron los polifenoles totales (PT como mg/L de ácido gálico) (Rossi, J.A. et al., 1965), los polifenoles poco polimerizados (PPP como mg/L de ácido gálico) usando el método descrito por Masquelier, J. et al. (1961) y los polifenoles muy polimerizados (PMP como mg/L de ácido gálico), catequinas (CAT mg/L de d-catequina), y taninos condensados (TAN como mg/L de cianidina) según lo establecido por Ribéreau-Gayon, P. et al. (1998), y modificado por Glories, Y. (1984b). Los métodos analíticos están basados en la espectrofotometría UV-Vis, y los resultados finales se obtuvieron directamente como índice de absorbancia-densidad óptica, o se expresaron en mg/L del compuesto mayoritario de la familia fenólica correspondiente. Se cuantificó a través de una recta de calibrado o a través del coeficiente de extinción molar del compuesto.

Las muestras fueron previamente centrifugadas durante 20 minutos a 2500 rpm.

Los equipos de fotometría empleados para llevar a cabo las pruebas analíticas han sido:

- Espectrofotómetro GENESYS.
- Espectrofotómetro SAFAS-MONACO UV-visible, con espectro de longitudes de onda entre 215 y 620 nm. Los resultados obtenidos a partir de este equipo permiten ser procesados a través del software para PC.

#### IV.4.2.1. Fenoles totales

La determinación de los fenoles totales se realizó siguiendo el método de Folin-Ciocalteu (Rossi, J. A. et al., 1965) que se basa en la propiedad de oxidación de los grupos hidroxilos de los compuestos fenólicos del vino en medio básico y presencia del reactivo de Folin-Ciocalteu (mezcla de los ácidos fosfotungstácico ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) y fosfomolibdico ( $H_3PMo_{12}O_{40}$ )) dando lugar a una mezcla de óxido de wolframio ( $W_3O_{23}$ ) y óxido de molibdeno ( $Mo_8O_{23}$ ), de coloración azul. Esa coloración presenta un máximo de absorción entre 725 y 760 nm y es directamente proporcional a la concentración de compuestos fenólicos en el vino. La lectura de absorbancia se realizó a 750 nm y su valor se transformó en mg/L de ácido gálico a través de una recta de calibrado.

##### Reactivos:

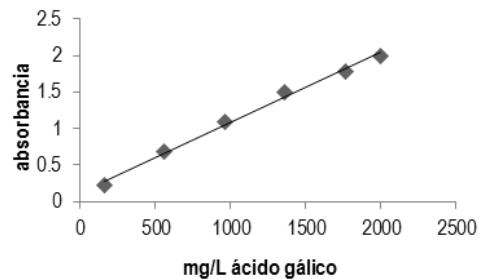
- Reactivo de Folin-Ciocalteu (Panreac).
- Solución de carbonato sódico anhidro ( $Na_2CO_3$ ) 75 g/L (Panreac).
- Patrón de ácido gálico (Sigma) disuelto en etanol al 12 % (SCHARLAU) ayudando a la disolución con un equipo de ultrasonidos.
- Agua destilada.

Procedimiento: Se disponen dos matraces aforados de 25 ml en los que se añaden en uno de ellos 0,2 ml de vino y el segundo se usa de testigo con 0,2 ml de agua destilada, 0,5 ml de reactivo de Folin-Ciocalteu y 10 ml de  $Na_2CO_3$  (75 g/L), enrasando finalmente con agua destilada. Al cabo de 1 hora se mide la absorbancia de la muestra frente al blanco a 750 nm ( $A = A_{\text{muestra}} - A_{\text{blanco}}$ ) en cubetas de plástico de 1 cm de longitud de camino óptico.

Cuantificación: La medida de la absorbancia a 750 nm se interpola en una recta de calibrado para obtener la concentración de polifenoles totales expresada en mg/L de ácido gálico, a partir de disoluciones patrón muy concentradas de ácido gálico (2500 mg/L), y de ella se realizan varias disoluciones (aproximadamente 7) de distinta concentración que vayan de 0 a 2500 mg/L, por dilución con etanol al 12 % v/v. Esta recta de calibrado se emplea para determinación de polifenoles totales y polifenoles poco polimerizados. La lectura de absorbancia se transforma en mg/L de ácido gálico mediante una recta de calibrado que se ha empleado para determinación de polifenoles totales y polifenoles poco polimerizados (gráfica 1).

$$PT \text{ (mg/L ácido gálico)} = \frac{A(750nm) - 0,0488}{0,0007} \text{ Coeficiente de correlación } r = 0,9958$$





**Gráfica 1:** Recta de calibrado empleada en la determinación de fenoles totales y poco polimerizados

#### IV.4.2.2. Polifenoles poco y muy polimerizados

Se siguió el método descrito por Masquelier, J. et al. (1965), basado en el fraccionamiento de los compuestos fenólicos según su grado de polimerización. Se basa en la saturación con sal (NaCl) que provoca una disminución de la solubilidad de los fenoles muy polimerizados, por el aumento de la concentración iónica, causando su precipitación y eliminación por centrifugación.

##### Reactivos:

- Reactivo de Folin-Ciocalteu (Panreac).
- Solución de carbonato sódico anhidro ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) 75 g/L (Panreac).
- Patrón de ácido gálico (Sigma) disuelto en etanol al 12 % (SCHARLAU) ayudando a la disolución con un equipo de ultrasonidos.
- Agua destilada.

Procedimiento: Se toman 15 ml de vino y se saturan con NaCl. Se centrifuga a 2500 rpm durante 20 minutos y se separa el sobrenadante del residuo. A continuación se añade al residuo 15 ml de disolución saturada de NaCl y se vuelve a centrifugar a 2500 rpm durante 20 minutos. El sobrenadante resultante se junta con el anterior y se determinan los polifenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu, dando el valor de los polifenoles poco polimerizados, considerando que los que permanecen en el sobrenadante son los polifenoles que no han precipitado con el exceso de sal.

- PASO 1: Tubo de centrifuga + NaCl  $\Rightarrow$  residuo 1 + sobrenadante 1 (muestra-vino)
- PASO 2: Tubo de centrifuga + NaCl  $\Rightarrow$  residuo 2 + sobrenadante 2 (residuo 1)
- PASO 3: Sobrenadante 1 + Sobrenadante 2  $\rightarrow$  Método Folin Ciocalteu

Cuantificación: El sobrenadante obtenido se analiza siguiendo el método de Folin-Ciocalteu. Si al valor obtenido se resta el dato obtenido como polifenoles totales se obtiene el valor de los polifenoles muy polimerizados.

$$\text{PPP (mg/l ácido gálico)} = \frac{A(750nm) - 0,0488}{0,0007}$$

$$\text{PMP (mg/L ácido gálico)} = \text{PT} - \text{PPP}$$

#### IV.4.2.3. Catequinas

Para la determinación de este grupo de compuestos se empleó el método descrito por Swain, T. et al. (1959) que se fundamenta en la capacidad de condensación de las catequinas con compuestos carbonílicos en medio ácido. El reactivo empleado fue vanillina, un aldehído relativamente estable a altas concentraciones de ácido clorhídrico o ácido sulfúrico. El catión carbonilo de la vanillina ataca a las posiciones electrofílicas C6 y C8 del anillo B de la catequina, dando lugar a una estructura cromófora de color rosa, con un máximo de absorción a 500 nm. La presencia de grupos carbonilo u oxanio en el anillo A lo desactiva, lo que impide la reacción de la vanillina con los ácidos fenólicos, antocianos y flavonas, de esta forma la condensación se produce solamente con flavan-3-oles y flavan-3,4-dioles (catequinas y leucoantocianos).

##### Reactivos:

- Solución de ácido clorhídrico (HCl) al 70 %. Preparado a partir de HCl al 37 % (PANREAC).
- Solución de reactivo de vanillina al 1 % p/v en HCl al 70 % (MERCK).
- Patrón de D-catequina (Sigma-Aldrich).
- Agua destilada.

Procedimiento: En tres tubos de ensayo aforados de 10 ml denominados A, B, y C, se disponen respectivamente:

Tubo A (muestra): 0,1 ml de vino, 2 ml de reactivo de vanillina y se enrasa a 10 ml con HCl al 70 %

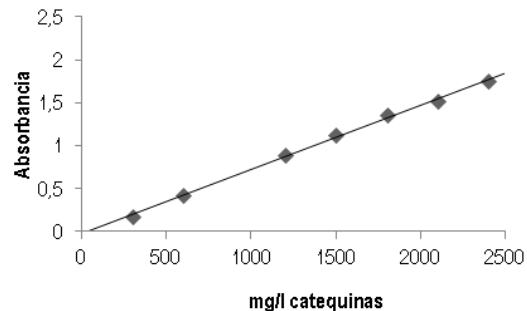
Tubo B (muestra): 0,1 ml muestra y se enrasa a 10 ml con HCl al 70 %.

Tubo C (blanco): 2 ml de reactivo vanillina y se enrasa a 10 ml con HCl al 70 %

Transcurridos 25 minutos, se mide la absorbancia de la disolución del tubo denominado A y del tubo denominado B, frente a la del tubo C (blanco), a una longitud de onda de 500 nm en una cubeta de cuarzo de 1 cm de longitud de camino óptico.

Quantificación: La medida de absorbancia a 500 nm de la diferencia entre A y B, frente al C se interpola en una recta de calibrado para obtener la concentración de catequinas expresada en mg/L de D-catequina (gráfica 2). Para la obtención de la recta de calibrado se prepara una solución patrón muy concentrada de D-Catequina (3000 mg/L) que se disuelve en etanol al 12 % y a partir de éste se realizan sucesivos patrones de concentraciones comprendidas entre 150 y 2400 mg/L. Se aplica a todos ellos el método descrito y se obtienen los valores de absorbancia para las distintas concentraciones de D-Catequina, ajustando los resultados a una recta:

$$\text{CAT. (mg/L)} = \frac{A(500nm) - 0,0259}{0,0007} \quad \text{Coeficiente de correlación } r = 0,999$$



Gráfica 2: Recta de calibrado empleada en la determinación de catequinas.

#### IV.4.2.4. Taninos condensados o proantocianidinas

Se siguió el procedimiento descrito por Bate-Smith, C. (1981), basado en la transformación de las proantocianidinas en antocianidinas, ya que en medio ácido y caliente, se rompen, y liberan un carbocatión reactivo, que por oxidación da una antocianidina, la cianidina principalmente, por lo que el resultado se expresa en mg/L de cianidina.

##### Reactivos:

- Solución clorhídrico (HCl) al 37 % (Panreac).
- Solución de etanol 96 % v/v (Scharlau).
- Agua destilada.

Procedimiento: En un matraz aforado de 50 ml se prepara una dilución 1:50 de la muestra de vino tinto. Se dispone de 2 tubos que se preparan de la siguiente manera:

Tubo A (muestra): 4 ml de muestra diluida 1:50, 2 ml de agua destilada y 6 ml de HCL al 37 %

Tubo B (blanco): 4 ml de muestra diluida 1:50, 2 ml de agua destilada y 6 ml de HCL al 37 %

Los tubos A y B se tapan y protegen de la luz. A continuación, el tubo A se pone al baño maría a 90 °C durante 30 minutos, mientras que el tubo B se deja a temperatura ambiente. Al cabo de 30 minutos de ebullición se saca el tubo A del baño y se deja enfriar en la oscuridad. Posteriormente se añade 1 ml de etanol a los tubos A y B para estabilizar y resaltar el color.

En 1978, Glories puso a punto dos métodos de cálculo de la concentración de taninos en los vinos siguiendo método analítico similar, pero modificando la forma de cuantificación. Esa modificación en el sistema de cuantificación ha sido la seguida para esta cuantificación.

Cuantificación: El método de cuantificación descrito por Glories, Y. (1978) se basa en la medida de la absorbancia de los tubos A y B a tres longitudes de onda: 470, 520 y 570 nm, eligiendo aquella que presente el valor menor al restar las absorbancias entre el tubo A y el tubo B de las tres longitudes de onda.  $\Delta Abs_{520}$  medido

$$\Delta Abs_{520} = 1,1 \times \Delta Abs_{470}$$

$$\Delta Abs_{520} = 1,54 \times \Delta Abs_{570}$$

A fin de unificar los resultados a lo largo del proceso evolutivo del mismo vino y tras varios muestreos, se ha observado de manera generalizada (> 80 % de los casos) que la diferencia de medida menor se produce cuando se comparan ambos tubos a una longitud de onda de 470 nm. Por ello, se ha considerado 470 nm como única longitud de onda a medir. Se mide, por tanto, la absorbancia de los tubos A y B a una longitud de onda de 470 nm en cubetas de cuarzo de 1cm de camino óptico. Por comparación con una solución de procianidinas provenientes de las pepitas de las uvas, se obtiene la concentración de taninos por la relación:

$$\text{TAN. (g/L)} = 15,7 \times 1,1 \times \text{Abs}_{470} (\text{A-B})$$

#### **IV.4.3. Indicadores de la naturaleza de los antocianos y taninos**

La característica fundamental del análisis de los compuestos fenólicos bajo el parámetro de indicador se basa en la diferencia de medida, antes y después de la precipitación, provocada por un agente precipitante, de las sustancias a determinar (Blouin, J. et al., 2000), obteniendo de esta manera un valor en términos relativos. Con estos parámetros se analizarán algunos aspectos de gran importancia para el color del vino tinto debidos a los pigmentos antocianicos y se verán también aspectos relacionados con la estructura de los pigmentos tánicos. Los índices de ionización, HCl (ácido clorhídrico), gelatina y etanol se determinaron siguiendo el método establecido por Somers, C. et al. (1974) y Glories, Y. (1978) y posteriormente descrito por Ribéreau-Gayon, P. et al. (1998). Siendo el índice de ionización el encargado de determinar el porcentaje de antocianos libres y combinados que contribuyen al color del vino, el índice de HCl representa el porcentaje de taninos con un alto grado de polimerización, el índice de gelatina mide el porcentaje de taninos que reaccionan con las proteínas y contribuyen a la astringencia del vino y el índice de etanol representa el porcentaje de taninos combinados con polisacáridos.

##### **IV.4.3.1. Índice de Ionización**

El índice de ionización indica el porcentaje de antocianos que contribuyen al color del vino. Se basa en la propiedad de las antocianinas de variar su color en función del pH y decolorarse mediante dióxido de azufre (Ribéreau-Gayon, P. et al., 1998). Se decolora el vino mediante un exceso de SO<sub>2</sub>, por una parte a pH del vino y por otra a pH 1, obteniendo el valor final por la relación entre ambos.

##### Reactivos:

- Solución de ácido clorhídrico (HCl) 0,1 N preparado a partir de HCl al 37 %.
- Solución de NaHSO<sub>3</sub> al 7 % preparado a partir de NaHSO<sub>3</sub> al 40 %.
- Agua destilada.

Procedimiento: En dos tubos de ensayo se dispone lo siguiente:

Tubo A: 5 ml de vino y 1 ml de agua destilada

Tubo B: 5 ml de vino y 1 ml de NaHSO<sub>3</sub> al 7 %

Tanto el tubo A como el B se tapan y agitan. Tras 10 minutos se lee la absorbancia a 520 nm en cubetas de vidrio de 1 mm de longitud de camino óptico. Se calcula  $\Delta d\beta$ :

$$\Delta d\beta = (\text{Abs. A} - \text{Abs. B}) * 12 / 20$$

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

Tubo C: 1 ml de vino, 7 ml de HCl 0,1 N y 2 ml de agua destilada

Tubo D: 1 ml de vino, 7 ml de HCl 0,1 N y 2 ml de NaHSO<sub>3</sub> al 7 %

Tanto el tubo C como el tubo D se tapan y se agitan. Tras esperar 10 minutos, se mide la absorbancia de ambos tubos a 520 nm, en cubeta de vidrio de 1 mm para el tubo C y se multiplica el resultado por 10 para corregir la medida, y en cubeta de vidrio de 1 cm para el tubo D. Se calcula  $\Delta d\gamma$  de la siguiente manera:

$$\Delta d\gamma = (\text{Abs. C} - \text{Abs. D}) * 100 / 95$$

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

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

#### IV.4.3.2. Índice de Etanol

Se siguió el método descrito por Glories, Y. (1978), basado en la propiedad de precipitación de los taninos combinados con sales y polisacáridos en el vino cuando el medio presenta un exceso de etanol. Su valor depende de la edad del vino y este índice debe intervenir para explicar algunas características organolépticas ligadas a la estructura o ligereza del vino (Blouin, J. et al., 2000), ya que las combinaciones de los taninos y los polisacáridos dan a la degustación sensaciones de cuerpo y untuosidad muy buscadas en la degustación de los vinos, motivo por el cual se caracteriza este índice. Igualmente estas combinaciones favorecen el sabor del vino, pues producen una inactivación de los taninos frente a las proteínas y refuerzan el carácter del cuerpo (Ribéreau-Gayon, P. et al., 1998).

Reactivos: Etanol absoluto al 96 % (Panreac) y agua destilada.

Procedimiento: En dos tubos de ensayo se dispone lo siguiente:

Tubo A: 0,5 ml de vino y 4,5 ml de etanol al 96 %.

Se homogeniza y se deja reposar durante 24 horas. Transcurrido este tiempo se centrifuga a 3500 r.p.m. durante 10 minutos. Posteriormente se procede a realizar una dilución 1/10 del sobrenadante con agua destilada y sobre la disolución resultante se determina la absorbancia a 280 nm utilizando cubeta de cuarzo de 10 mm de camino óptico.

Tubo B: 0,25 mL de vino enrasando a 25 mL con agua destilada. (Dilución 1/100)

Se mide la absorbancia a 280 nm en cubeta de cuarzo de 10 mm de longitud de camino óptico.

Cuantificación: El índice de etanol calcula el porcentaje de taninos que se han combinado con polisacáridos, por la presencia de etanol en exceso en el medio. Calculado de la siguiente manera:

$$\text{Índice de etanol} = (\text{Abs. A} - \text{Abs. B}) / \text{Abs. A} * 100$$

#### IV.4.3.3. Índice de Clorhídrico (HCl)

Se siguió el método de Glories, Y. (1978), en el que se representa el estado de condensación y polimerización de los taninos (taninos muy condensados, taninos condensados, taninos polisacáridos y taninos sales), basado en la inestabilidad de las procianidinas en medio ácido fuerte. Este índice es proporcional al grado de polimerización de los taninos, por lo que indica el porcentaje de taninos presentes en el vino, con un alto grado de polimerización (Blouin, J. et al., 2000). La velocidad de precipitación está condicionada por el grado de polimerización.

Reactivos: Ácido clorhídrico (HCl) al 37 % (Scharlau) y agua destilada.

Procedimiento: Se prepara una muestra compuesta de: 2 ml de vino, 1 ml de agua destilada y 3 ml de HCl al 37 %. A partir de ella se preparan dos tubos:

**Tubo A<sub>0</sub>:** Se homogeniza y posteriormente se hace una dilución 1/30 con agua destilada. Se realiza un centrifugado a 3500 r.p.m. durante 10 minutos y se mide la absorbancia a 280 nm en cubeta de cuarzo de 10 mm de longitud de camino óptico frente a un blanco de agua destilada.

**Tubo A<sub>7</sub>:** Se homogeniza y se deja en reposo durante 7 horas a temperatura ambiente, posteriormente se diluye 1:30 con agua destilada. Se centrifuga a 3500 r.p.m. durante 10 minutos y se mide la absorbancia a 280 nm en cubeta de cuarzo de 10 mm de longitud de camino óptico frente a un blanco de agua destilada.

Cuantificación: Se calcula posteriormente el índice de HCl como: **Índice de HCl** =  $((A_7 - A_0) / A_7) * 100$

#### IV.4.3.4. Índice de Gelatina

Se ha realizado siguiendo el método de Glories, Y. (1978). Se basa en las propiedades 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. Esta capacidad de reacción de los taninos del vino con las proteínas de la gelatina interviene en la sensación de astringencia que comunica la degustación del vino tinto.

Reactivos:

- Ácido clorhídrico (HCl) al 37 % (Scharlau).
- Etanol absoluto al 96 % (Panreac).
- Solución de gelatina (35 g/L) 80-100 Booms (PANREAC).
- Agua destilada.

Procedimiento: En dos tubos de centrifuga se prepara lo siguiente:

Tubo A: 25 ml de vino, 5 ml de agua destilada.

Tubo B: 25 ml de vino, 5 ml de solución de gelatina (35 g/L).

El tubo A y B se tapan y se dejan en reposo bajo refrigeración durante 72 horas. Una vez pasado este tiempo se centrifugan las muestras y se determina la concentración en taninos del sobrenadante a partir del método de determinación de taninos condensados o proantocianidinas (Bate-Smith, C., 1981).

Cuantificación: Para cuantificar el índice de gelatina se estableció la fórmula siguiente:

$$\text{Índice de gelatina} = ((\text{Tubo A} - \text{Tubo B}) / \text{Tubo A}) * 100$$

#### IV.4.4. Edad química: potencial de envejecimiento

Para la determinación de la edad química se siguió el método descrito por Somers, C. et al. (1977). La edad química de un vino tinto se define como su potencial de envejecimiento, y este potencial se cuantifica mediante los parámetros de edad química.

Reactivos:

- HCl 1 M: partiendo de HCl al 37 %, se realizan los oportunos cálculos y añadimos a un matraz aforado de 1000 ml, 82.9 ml de HCl al 37 %, enrasamos con agua destilada.
- HCl al 37 % puro comercialmente (PANREAC)
- Agua destilada.
- Solución de hidrógenosulfito sódico 0.54 M. Hidrógenosulfito sódico al 40 % comercial (SCHARLAU)
- Solución acuosa de acetaldehído al 10 %: se toman 1.26 ml de acetaldehído y se añaden a 6 ml de agua destilada a temperatura inferior a 5 °C, se diluye a 10 ml con ese mismo agua destilada almacenada en el frigorífico (MERCK)

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

- $A_{520}^{HCl}$  : se toman 100 µl de vino tinto y se añaden sobre 10 ml de HCl 1 M, se tapa y agita. Después de 3 horas se mide su absorbancia a 520 nm en cubetas de vidrio de 1 cm de longitud de camino óptico frente agua destilada. La medida obtenida se corrige debido a la dilución multiplicándola por 101.
- $A_{520}^{SO_2}$  : se toman 2 ml de muestra y se añaden 160 µl de solución de hidrógenosulfito sódico 0.54 M, se mezcla por inversión y tras esperar un minuto se mide la absorbancia a 520 nm en cubeta de vidrio de 1 mm de longitud de camino óptico frente agua destilada. La medida se corrige multiplicando por 1.08 y como se refiere a la cubeta de 1 cm por 10.
- $A_{520}^{CH_3CHO}$  : se añaden 20 µl de solución acuosa de acetaldehído al 10 % a una muestra de 2 ml de vino, se agita, tapa y después de esperar 45 minutos se mide la absorbancia en cubeta de vidrio de 1 mm de longitud de camino óptico. Esta medida se corrige multiplicando por 1.01 y para referirla a una cubeta de 1 cm de longitud de camino óptico por 10.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

#### IV.4.5. Copigmentación

El método seguido para determinar el color y las fracciones de color que experimentan los compuestos fenólicos libres y copigmentados se determinaron a través del método descrito por Boulton, R. (2001).

#### Reactivos:

- Solución de hidrogenosulfito sódico (Scharlau) 0.9 M.
- Solución acuosa de acetaldehído al 10 %: se toman 1,26 ml de acetaldehído (Merck) y se añaden a 6 ml de agua destilada a temperatura inferior a 5 °C, se diluye a 10 ml con la misma agua destilada almacenada en refrigeración.
- Disolución tampón: 24 ml de etanol puro (Scharlau) a 176 ml de agua destilada. A continuación se disuelven 0,5 g de tartrato sodio potasio 4-hidrato (Panreac) y se ajusta el pH a 3,6 con HCl (Scharlau) o NaOH (Panreac).
- Agua destilada.

Procedimiento: Para llevar a cabo esta determinación se necesita que el pH sea ajustado a un valor de 3,6, de esta manera las componentes de coloración en los distintos vinos pasan a ser independientes del pH en todas las muestras de vino, y dado que el efecto del pH influye en la ionización de los antocianos



libres, en el color de la forma copigmentada y del polímero coloreado. El ajuste se realizó con HCL (Scharlau) o NaOH (Panreac). A continuación, las muestras de vino se centrifugaron a 2500 rpm durante 15 minutos.

Una vez preparadas las muestras se realizaron los ajustes que a continuación se establecen para medir espectrofotométricamente cada muestra a diferentes longitudes de onda bajo los procedimientos que a continuación se exponen:

$A_{520}^{CH_3CHO}$  : Se añaden 20  $\mu$ l de solución acuosa de acetaldehído al 10 % a una alícuota de vino de 2 ml. Pasados 45 minutos se coloca en una cubeta de vidrio de 1 mm de longitud de camino óptico y se mide la absorbancia a 520 nm. La lectura se corrige por el menor camino óptico (X 10) y (X 1,01) para corregir la dilución.

$A_{520}^{SO_2}$  : Se añaden 160  $\mu$ l de una solución de hidrogenosulfito sódico 0,9 M a una alícuota de vino de 2 ml. Se espera 1 minuto y se mide la absorbancia a 520 nm en cubetas de vidrio de 1 mm de longitud de camino óptico. La medida obtenida se corrige por la dilución (X 1,08) y se refiere a la cubeta de 1 cm de longitud de camino óptico (X 10).

$A_{520}^{20}$  : Se colocan 500  $\mu$ l de vino tinto junto con 9.500  $\mu$ l de disolución tampón. Pasados unos minutos se mide la absorbancia a 520 nm en cubeta de 1 cm de longitud de camino óptico. La medida obtenida se corrige (X 20) debido a la dilución. Se emplean para la medida cubetas de cuarzo a fin de poder emplear la muestra en la medida de la absorbancia a 280 y 365 nm.

$A_{280}$  : Se utiliza la disolución realizada para determinar  $A_{520}^{20}$  y se mide la absorbancia a 280 nm en cubetas de cuarzo de 1 cm de longitud de camino óptico. La medida obtenida se corrige por la dilución (X 20). En aquellas medidas en las que el rango sea mayor que el permitido en la medida espectrofotométrica, se realiza una dilución 1/100 y la lectura se corrige (X 101).

$A_{365}$  : Se realiza la medida a 365 nm de la muestra preparada con la solución de hidrogenosulfito sódico 0,9 M.

Quantificación: Los resultados se obtuvieron a partir de la aplicación de las siguientes fórmulas empíricas:

Color debido a los **antocianos copigmentados**:  $C = (A_{520}^{CH_3CHO} - A_{520}^{20})$

Color debido a los de **antocianos libres**:  $TA = (A_{520}^{20} - A_{520}^{SO_2})$

Color debido al **pigmento polimérico**:  $Ep = A_{520}^{SO_2}$

Estimación del contenido de **cofactores flavonoles**:  $FC = A_{365}$

Estimación del contenido de **fenoles totales** (monómeros y taninos):  $TP = A_{280}$

Todos estos parámetros se expresan en unidades de absorbancia (nm), pero para obtener un resultado numérico relativo se establecieron tres parámetros más, definidos como fracciones de color debidas a:

Fracción de color debida a la **copigmentación**:  $COP = (A_{520}^{CH_3CHO} - A_{520}^{20}) / A_{520}^{CH_3CHO}$

Fracción de color debida a los **antocianos libres**:  $AL = (A_{520}^{20} - A_{520}^{SO_2}) / A_{520}^{CH_3CHO}$

Fracción de color debida al **pigmento polimérico**:  $PP = A_{520}^{SO_2} / A_{520}^{CH_3CHO}$

#### IV.4.1. Determinación de los parámetros cromáticos del vino

Las medidas de color se realizaron con un espectrofotómetro de diodo array UV-vis (SAFAS-MONACO) sobre la muestra de vino centrifugada.

##### IV.4.1.1. Método de Glories

La intensidad colorante y el tono, definidos por Sudraud, P. (1958), hacen intervenir exclusivamente el color rojo y el amarillo, medidos a 520 nm y a 420 nm. El conocimiento de estos dos valores nos interesa para el estudio del color de los vinos evolucionados (más de un año) pero no refleja el aspecto más o menos oscuro de los vinos jóvenes. La componente azul atribuida a las formas quinonas de los antocianos libres y combinados fue también un hecho a tener en cuenta sobre todo cuando el vino presenta un pH próximo a 4. Probablemente debido al estado coloidal de la materia colorante, no existe proporcionalidad entre la absorción y la dilución; por lo tanto las mediciones espectrofotométricas se realizaron bajo 1 mm de recorrido óptico sobre la muestra multiplicada por 10, a valores de longitud de onda de 420, 520 y 620 nm. A partir de estas medidas, se calcularon diferentes valores utilizados para caracterizar el color del vino (Glories, Y., 1984b):

- **Intensidad colorante (IC)** representa la importancia del color:  $IC = Abs_{420} + Abs_{520} + Abs_{620}$
- **Tonalidad (T)** corresponde al nivel de evolución del color hacia el naranja  $T = Abs_{420} / Abs_{520}$
- **Composición del color** es la contribución (bajo forma de porcentaje) de cada uno de los componentes al color global:

$$\% \text{ amarillo: } \% A_{420} = (Abs_{420}/IC) \times 100$$

$$\% \text{ rojo: } \% A_{520} = (Abs_{520}/IC) \times 100$$

$$\% \text{ azul: } \% A_{620} = (Abs_{620}/IC) \times 100$$

- **Brillo del color rojo o aspecto de 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 relativamente amplio cuando es rojo oscuro o rojo teja.

$$dA (\%) = (1 - \frac{Abs(420) + Abs(620)}{2 \times Abs(520)}) \times 100$$

Cuanto más elevado es el valor del %dA, más predomina el color rojo sobre la muestra de vino, así si el espectro presenta un máximo estrecho, el vino se caracteriza por un color rojo vivo (60-80 %). Cuando posee un máximo aplanado, el color rojo del vino es débil en comparación con el amarillo y el azul, entonces el vino es rojo, teja o rojo oscuro y %dA es inferior a 40 %. La variación de color de una solución de antocianos y de un vino tinto joven con el pH, será un buen ejemplo de utilización de estos índices. A

medida que el pH aumenta, la intensidad colorante (IC) de la solución de antocianos disminuye, mucho más que la de un vino joven, debido a la ausencia de combinaciones tanino-antociano. El espectro se aplana (la tonalidad aumenta). A pH 4 los colores del vino y de la solución de antocianos son distintos, su composición muestra que el color dominante de la solución de antocianos se mantiene rojo; en el caso del vino, si la suma amarillo-azul es mayor al rojo, el vino se oscurece y presenta reflejos amarillos (Glories, Y., 1984b).

#### IV.4.1.2. Método CIELab

El método CIE (1986), actualmente recomendado para determinar el color de muestras transparentes como el vino, requiere la medida del espectro de transmitancia cada 5-10 nm entre 380 y 780 nm. Para la evaluación de estas medidas la CIE recomienda el uso del observador estándar 10° (1964) y el iluminante D65 (1967). El cálculo simple de estos valores triestímulo se obtiene tras la lectura de la transmitancia a 450, 520, 570 y 630 nm en cubeta de 1 mm de camino óptico de acuerdo con las siguientes ecuaciones (Negueruela, A. I. et al., 2001):

$$X = 19,717 T_{450} + 1,884 T_{520} + 42,539 T_{570} + 32,474 T_{630} - 1,841$$

$$Y = 7,950 T_{450} + 34,764 T_{520} + 42,736 T_{570} + 15,759 T_{630} - 1,180$$

$$Z = 103,518 T_{450} + 4,190 T_{520} + 0,251 T_{570} - 1,931 T_{630} + 0,818$$

En 1986 la CIE adaptó un nuevo espacio del color llamado espacio CIELab como un mejor sistema de medida del color. Este espacio tridimensional es una transformación no lineal de los valores triestímulo del CIE XYZ y cada color se define por sus coordenadas en los ejes  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  (Pérez, S. et al., 2003b). El eje vertical  $L^*$  es una medida de la claridad. El término claridad ( $L^*$ ) se emplea para caracterizar el atributo de la sensación visual según la cual un cuerpo aparenta reflejar o transmitir una fracción de luz más o menos incidente. La percepción acromática, variando del negro al blanco pasando por el gris, se representa por puntos a lo largo del eje vertical. Valorando el 0 para el negro u opaco y el 100 para el blanco o transparente. Las coordenadas cromáticas  $a^*$  y  $b^*$  indican dos ejes de color antagónicos; el eje  $a^*$  se compone de rojo (o  $-a^*$  de verde) y  $b^*$  se compone de amarillo (o  $-b^*$  de azul) (figura 27).

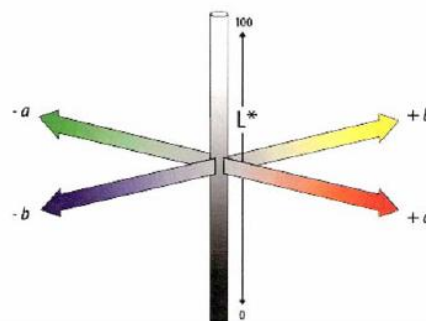


Figura 27: Coordenadas y parámetros CIELab.

El cálculo de  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  se determina a partir de los valores de X, Y, Z mostrados anteriormente y de acuerdo con las siguientes ecuaciones (Bakker, J. et al., 1986a):

$$\begin{aligned}\text{Claridad o luminosidad } (L^*) &= 116(Y/100)^{1/3} - 16 \\ \text{Tonalidad rojo-verde } (a^*) &= 500 [(X/94,825)^{1/3} - (Y/100)^{1/3}] \\ \text{Tonalidad amarillo-azul } (b^*) &= 200 [(Y/100)^{1/3} - (Z/107,383)^{1/3}]\end{aligned}$$

Las coordenadas CIELab permiten una definición mucho más precisa del color que la establecida por los parámetros de Glories, y más cercana a la percepción real del observador. Además permite calcular, a partir de los parámetros  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ , la llamada diferencia de color CIELab ( $\Delta E^*$ ), que cuantifica numéricamente la diferencia de percepción de color para el ojo humano, entre dos muestras de vino. Por tanto, si se consideran las coordenadas rectangulares  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ , la diferencia de color entre dos muestras viene dada por la fórmula (Negueruela, A. I. et al., 1995):

$$\Delta E^*_{a,b} = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2} \text{ (Unidades CIELab)}$$

Teóricamente el ojo humano es capaz de diferenciar dos colores cuando  $\Delta E^* > 1$ . Sin embargo, cuando un catador ha observado un vino a través de una copa, aun en condiciones normalizadas, la capacidad de discriminar dos colores disminuye (Negueruela, A. I. et al., 1995; Gonnet, J. F., 1998), aunque este parámetro no se ha calculado en esta tesis. La percepción cromática de una muestra coloreada se define esencialmente por su ángulo de color ( $H^*$ ) y su croma ( $C^*$ ). Los diferentes matices se sitúan en la circunferencia materializando la extremidad del plano mediante perpendiculares al eje de la claridad. La croma es el segmento horizontal, partiendo del centro que alcanza la proyección de un punto en el plano medio es decir, el objeto coloreado en función del blanco y el ángulo de color es el ángulo que este segmento forma con el eje de las abscisas; es el atributo de apariencia por el cual un color se identifica de acuerdo a su semejanza con el rojo, amarillo, verde, o azul, o a una combinación de dos de estos colores. Este ángulo sitúa el color en su cuadrante correspondiente y toma valores, medidos en grados, de  $0^\circ$  para rojo,  $90^\circ$  para amarillo,  $180^\circ$  para verde y  $270^\circ$  para azul. Para simplificar más la expresión del color, las coordenadas  $a^*$  y  $b^*$  del espacio CIELab pueden transformarse en las coordenadas esféricas  $H^*$  y  $C^*$  de acuerdo con las ecuaciones:

$$\begin{aligned}\text{Ángulo de color o tono } (H^*) &= \arctg(b^*/a^*) \\ \text{Croma o saturación } (C^*) &= (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}\end{aligned}$$

Este método se ha propuesto como método de referencia de la OIV (Negueruela, A. I. et al., 2001), aunque para utilizar este método, se necesita un programa para Windows® que permita hacer los cálculos a partir de las absorbancias medidas en las longitudes de onda 420, 540, 570 y 630 nm en cualquier espesor de cubeta, aunque los cálculos se refieran a 2 mm de espesor de cubeta para vinos tintos y rosados y a 10 mm de espesor de cubeta para vinos blancos y brandis. Este programa se identifica con las siglas MSCV® (método simplificado para el color de vinos) y se accede a través de la página web <http://www.unizar.es/negueruela/MSCVes.zip>. (Sanchez, M., 2007)

#### IV.4.2. Compuestos fenólicos de bajo peso molecular y antocianos monómeros y acilados

El análisis pormenorizado de compuestos fenólicos de bajo peso molecular y antocianos se ha realizado empleando el sistema de cromatografía líquida de alta resolución a partir del equipo Agilent Technologies liquid chromatography Serie 1100, equipado con un inyector automático y un detector de fotodiodos alineados (DAD), realizándose el registro y tratamiento de datos a través del programa HPCHEM. Para la separación de los distintos compuestos se han empleado dos métodos analíticos distintos, utilizándose para la separación de los compuestos fenólicos el descrito por Casado, L. (2002) y Del Álamo, M. et al., (2004 c y d) y el descrito por Del Álamo, M. et al. (1997, 2004b y 2006b) y De Castro, R. (2002) para la separación de los antocianos pormenorizados, en ambos casos optimizando las condiciones cromatográficas.

Inicialmente y previo a su análisis, las muestras de vino han sido centrifugadas a 2500 rpm durante 15 minutos y posteriormente concentrados 15 ml de vino en un rotavapor (Büchi R-200) a 36 °C y 70 mbar, hasta obtener un volumen final de 1 mL. El extracto obtenido ha sido redisoluelto en 3 ml de una disolución que se asemeja a una solución de vino (12 % etanol – 3.5 g/L ácido tartárico).

##### IV.4.2.1. Compuestos fenólicos de bajo peso molecular (HPLC)

Los compuestos fenólicos determinados han sido los que se muestran en la tabla 7. Una vez obtenida la muestra rehidratada según se ha indicado en el apartado anterior, ha sido necesario realizar una extracción de la misma cuya finalidad ha sido separar los fenoles de bajo peso molecular del resto de los componentes presentes en el vino, y así evitar el mayor número de interferencias en la cuantificación de los compuestos con bajas concentraciones en los vinos. El aislamiento de estos compuestos se ha llevado a cabo mediante una extracción sólido/líquido. Para obtener el soporte sólido se ha empleado cartuchos Oasis HLB de 200 mg, y para la fase líquida se ha empleado el siguiente gradiente:

Acondicionamiento del cartucho Oasis HLB: 3 mL de AcN, 3 ml de H<sub>2</sub>O, 3 mL de 12 % EtOH, 3.5 g / L TH<sub>2</sub>.  
Carga de la muestra 1 mL de vino concentrado.

Lavado del cartucho: 5 mL de MeOH al 12 %.

Elución de los compuestos: 1,5 mL de AcH al 5 % en AcH/H<sub>2</sub>O (10:90), 1.5 mL NH<sub>3</sub> al 2 % en AcH/H<sub>2</sub>O (10:90).

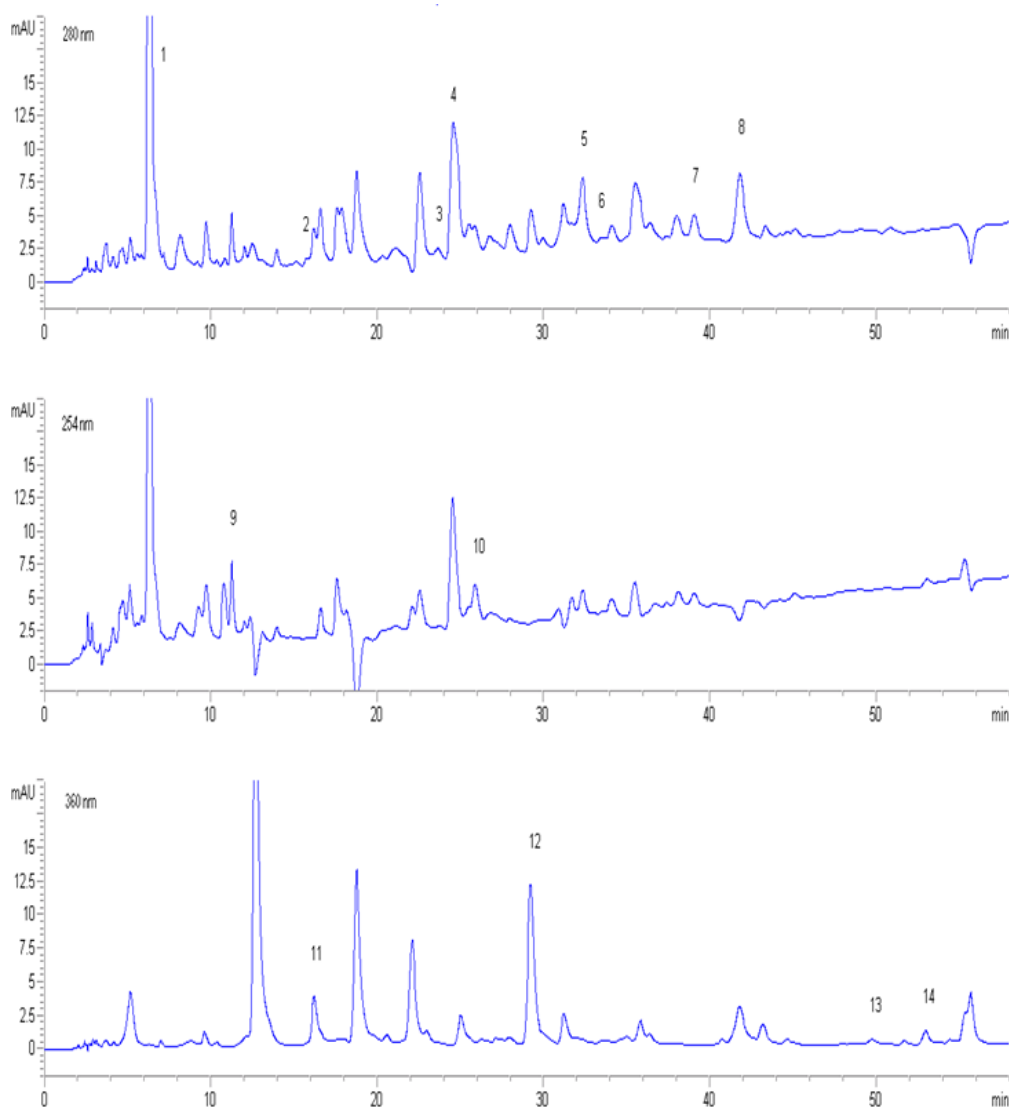
El volumen de elución obtenida sirvió como muestra para la determinación de los compuestos fenólicos de bajo peso, empleando un equipo cromatográfico HPLC-DAD –modelo 1100 (AGILENT). Se ha realizado la inyección de 10 µL de muestra a un flujo de 1mL/min de los solventes A (agua mili Q), B (Acetonitrilo), C (2 % ácido acético / 85 % agua), y D (2 % ácido acético/ 20 % acetonitrilo / 78 % agua) y usando en siguiente gradiente de elución: 100 % C (min 0); 30 % C + 70 % D (min 55); 100 % A (min 56); y 100 % a (min 60); a un flujo constante de 1 mL/min. La columna empleada para la separación ha sido

una Hypersil ODS de 200 mm de longitud y 4.6 mm de diámetro interno (SUGELABOR) que se mantuvo durante el tiempo de separación termostatada a 25 °C.

La identificación y cuantificación se llevó a cabo por medio de patrones de cada uno de los compuestos, estableciéndose los tiempos de retención, máximos espectrales y sus respectivas rectas de calibrado Casado, L. (2002) y Del Álamo, M. et al. (2004 c y d). En la tabla 8 se presenta un ejemplo de las rectas de calibrado obtenidas periódicamente.

**Tabla 8:** Rectas de calibrado empleadas en la determinación de los compuestos fenólicos de bajo peso

Compuesto	Ecuación	R2	Rango (mg/L)	tr (min)	λ máx (nm)
Á. gálico(Sigma)	$y = 24,483x + 2,4768$	0,9996	0,48-60,00	6,18	280
Ald.Protocatéquico (Sigma)	$y = 30,733x - 1,5159$	0,9997	0,05-15,00	17,30	280
p-hidroxibenzaldehído (Sigma)	$y = 73,117x - 1,7771$	0,999	0,05-15,00	25,42	280
Catequiza (Sigma)	$y = 5,2384x - 6,0258$	0,9953	0,48-75,00	26,58	280
Á. siríngico (Sigma)	$y = 26,65x - 6,1075$	0,9991	0,48-15,00	33,71	280
Ald. vanillínico (Merck)	$y = 33,727x - 11,262$	0,9946	0,10-15,00	35,34	280
Epicatequina (Sigma)	$y = 3,083x + 3,0092$	0,9918	0,48-30,00	39,53	280
Á. p-cumárico (Sigma)	$y = 39,413x - 16,183$	0,9994	0,48-15,00	43,46	280
Á. protocatéquico (Sigma)	$y = 33,44x - 2,0953$	0,9994	0,48-15,00	11,77	254
Á. vanillínico (Sigma)	$y = 31,602x - 6,579$	0,9985	0,48-15,00	27,52	254
Á. gentísico (Sigma)	$y = 12,37x - 12,826$	0,9797	1,02-15,00	18,11	340
Á. caféico (Sigma)	$y = 35,407x - 7,8843$	0,9984	0,48-15,00	30,64	340
Á. ferúlico (Sigma)	$y = 35,929x - 10,255$	0,9984	0,10-15,00	50,89	340
Á. sinápico (Fluka)	$y = 14,376x - 2,8628$	0,999	0,48-15,00	54,14	340



**Figura 28:** Cromatogramas de identificación de los compuestos fenólicos de bajo peso molecular numerados según la tabla 8 correspondiente a un vino tinto

#### IV.4.2.2. Antocianos monoméricos y sus derivados (HPLC)

En este caso las muestras rehidratadas se filtraron a  $0,45\ \mu\text{m}$  de membrana de nylon (PFTE) con el fin de eliminar partículas en suspensión existentes en el vino. El método empleado se basó en las experiencias de Del Álamo, M. (1997, 2004b y 2006b), y De Castro, R. (2002). Se inyectaron  $30\ \mu\text{L}$  de vino a un flujo de  $0,8\ \text{mL}/\text{min}$  en un cromatógrafo de líquidos (HPLC-DAD 1100 (AGILENT)). La columna empleada Hypersil ODS ( $250 \times 4,6\ \text{mm.i.d.}$ ;  $5\ \mu\text{m}$  de tamaño de partícula), que se mantuvo termostatada a  $30\ ^\circ\text{C}$ , bajo las siguientes condiciones: A (agua mili Q), B (MeOH), C (45 % MeOH / 45 % agua / 10 % ácido fórmico), y D (10 % ácido fórmico / 90 % agua). El gradiente de elusión empleado ha sido: 25 % C + 75 % D (min. 0); 80 % C + 20 % D (min. 25), 80 % C + 20 % D (min. 35); 100 % B (min. 38); y 100 % B (min. 43).

Para la cuantificación de los compuestos identificados se emplearon dos procedimientos dependiendo del tipo de vino. Los vinos de la experiencia de Cigales, se cuantificaron empleando como patrón el Oenin chloride (Extrasynthèse), realizando dos rectas de calibrado para cuantificar antocianos en cantidades comprendidas entre los 0,83 - 20,85 mg/L y los 20,83 - 150,00 mg/L, mostrado en la tabla 9.

**Tabla 9:** Patrones empleados en la identificación de los antocianos monómeros y acilados para el vino D. O. Cigales

Patrón	Ecuación	R <sup>2</sup>	Rango (mg/L)
Oenin chloride (Extrasynthèse)	$y = 61,008x - 218,31$	0,9998	20,83-150,00
Oenin chloride (Extrasynthèse)	$y = 50,572x - 37,89$	0,9979	0,83-20,85

En el caso de los vinos de Toro, se han incorporado más patrones estándar para la cuantificación de los antocianos. Myrtellin chloride (Extrasynthèse), Kuromanin chloride (Extrasynthèse), Peonidine-3-o-glucoside chloride (Extrasynthèse) y Oenin chloride (Extrasynthèse). Mostrándose en la tabla 10 un ejemplo de las rectas de calibrado obtenidas.

**Tabla 10:** Patrones empleados en la identificación de los antocianos monómeros y acilados en el vino D. O. Toro

Patrón	Ecuación	R <sup>2</sup>
Myrtellin chloride (Extrasynthèse)	$y = 57,91144x - 93,04085$	0,99527
Kuromanin chloride (Extrasynthèse)	$y = 105,00055x - 44,06526$	0,99901
Peonidine-3-o-glucoside chloride (Extrasynthèse)	$y = 103,14703x - 17,21875$	0,99717
Oenin chloride (Extrasynthèse)	$y = 105,03824x - 146,54359$	0,99988

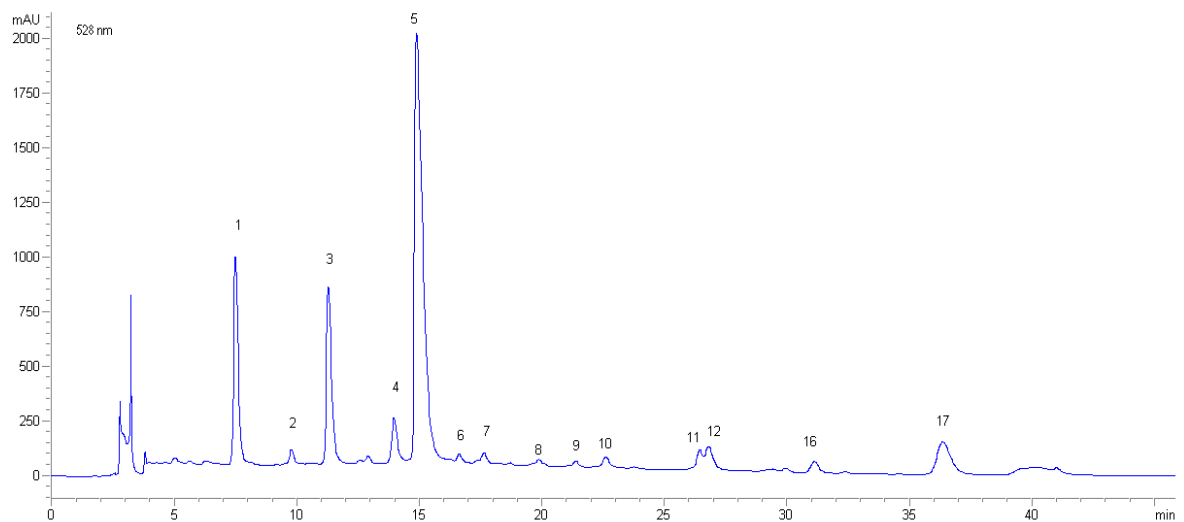
Los tiempos de retención y sus máximos espectrales fueron establecidos con los patrones y la bibliografía consultada, identificando así a los compuestos presentados en la tabla 11

**Tabla 11:** Identificación y cuantificación de los antocianos monómeros y sus derivados

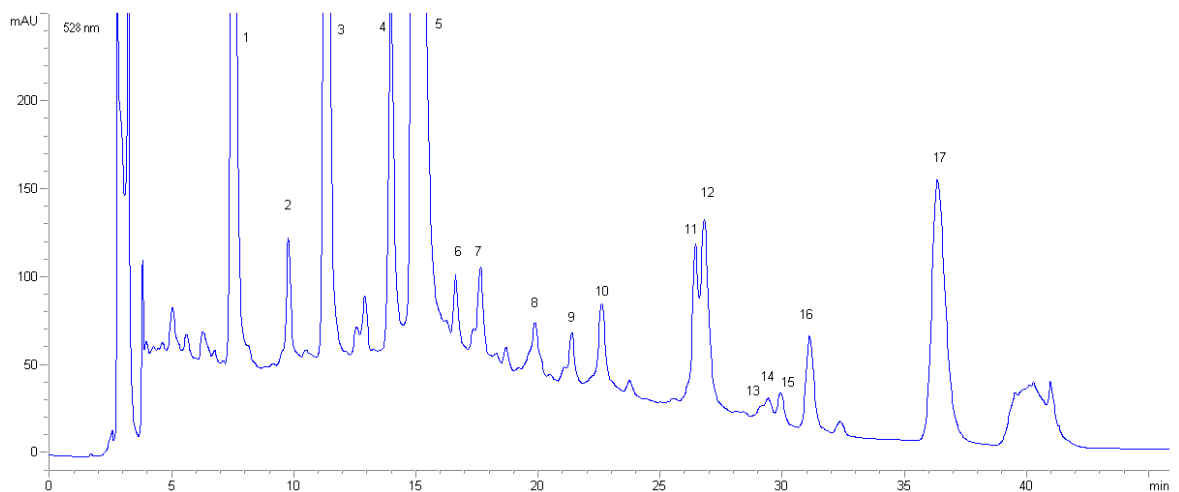
Pico nº	Antociano	Notificación	tr (min)	λ máx (nm)
1	Delfinidín-3-O-glucósido	Df-3-Gl	7,370	278/ 526
2	Cianidín 3 O-glucósido	Cn-3-Gl	9,772	292/ 516
3	Petunidín 3 O-glucósido	Pt-3- Gl	11,291	278/ 528
4	Peonidín 3 O-glucósido	Pn-3-Gl	14,086	280/ 518
5	Malvidín 3 O-glucósido	Mv-3-Gl	14,962	278/ 530
6	Vitisín A (Malvidín 3 O-glucósido-piruvato)	Vit A	16,931	252/ 296/ 372/ 512
7	Delfinidín 3 O-acetilglucósido	Df-3-Gl-Ac	17,963	276/ 528
8	Cianidín 3 O-acetilglucósido	Cn-3-Gl-Ac	20,388	282/ 544
9	Petunidín-3 O-acetilglucósido	Pt-3-Gl-Ac	22,025	280/ 544
10	Peonidín-3 O-acetilglucósido	Pn-3-Gl-Ac	23,199	278/ 532
11	Delfinidín-3 O-cumarilglucósido	Df-3-Gl-Cm	27,044	282/ 298/ 316/ 534
12	Malvidín-3 O-acetilglucósido	Mv-3-Gl-Ac	27,511	278/ 532
13	Malvidín-3 O-cafeilglucósido	Mv-3-Gl-Cf	29,855	336/ 520
14	Cianidín-3 O-cumarilglucósido	Cn-3-Gl-Cm	30,377	280/ 296/ 308/ 540
15	Petunidín-3 O-cumarilglucósido	Pt-3-Gl-Cm	30,882	284/ 316/ 524
16	Peonidín-3 O-cumarilglucósido	Pn-3-Gl-Cm	32,150	282/ 300/ 308/ 534
17	Malvidín-3 O-cumarilglucósido	Mv-3-Gl-Cm	38,103	284/ 298/ 310/ 532



La identificación y cuantificación de los antocianos monómeros y sus derivados se estableció a una única longitud de onda de 528 nm, dividiéndolos en dos grupos de compuestos. El primer grupo correspondiente a compuestos que han alcanzado concentraciones elevadas (mayoritarios) y el segundo grupo correspondiente a compuestos presentes en baja concentración (minoritarios) en una muestra de vino, como se observa respectivamente en las figuras 29 y 30. Cada número corresponde a la identificación de cada compuesto según asignación en la tabla 11.



**Figura 29:** Cromatograma de identificación de los antocianos monómeros y derivados de un vino tinto



**Figura 30:** Ampliación del cromatograma de identificación de los antocianos monómeros y derivados de un vino tinto

#### **IV.5. ANÁLISIS SENSORIAL DE LOS VINOS**

La evaluación sensorial se realizó mediante la técnica del análisis descriptivo. Esta herramienta permite describir las diferentes percepciones sensoriales de los vinos con una serie de términos y magnitud mediante una escala. Para ellos se utilizó una recta continua dividida en un determinado número de apartados para cada descriptor donde cada degustador debía marcar la intensidad de la sensación (Garriga, A. et al., 2002). Durante varias sesiones preliminares el grupo de integrantes del panel seleccionaron y definieron por consenso cada descriptor que serviría posteriormente para diferenciar los vinos, definiendo la ficha de cata final. Los catadores a su vez fueron entrenados en sesiones especiales para la detección los aromas aportados por el tostado de la madera, la relación vino-madera y los cuatro tipos de taninos descritos en la ficha de cata empleada para el vino de la D.O. Toro. Estas sesiones fueron dirigidas por José Antonio Fernández Escudero, Director Técnico de la Estación Enológica de Castilla y León.

Con ellas se ha tratado de diferenciar la evolución de los vinos tras el tratamiento bajo el que han sido sometidos tanto en presencia de madera como sin ella, con tratamiento de microoxigenación como aquellos sin tratamiento de oxígeno han sido evaluados organolépticamente a lo largo de su proceso de envejecimiento. También se ha tratado de evaluar aspectos como el tostado de la madera empleado o la dosis de madera aportada, ya que se ha considerado un aspecto importante como complemento y apoyo al estudio químico de forma paralela en la consecución y comparación de los objetivos establecidos.

La temperatura de servicio de las muestras fue de 18°C, el volumen de servicio de 50 ml y las copas utilizadas fueron ISO de degustación de cristal transparente, de 200 ml de capacidad. La sala de catas utilizada, se encuentra en la ETSIIAA de la Universidad de Valladolid (Palencia), y cumple con las condiciones exigidas por la Norma UNE 87-004-79. La toma de las muestras a evaluar se realizó 6 horas antes de la sesión, conservándolas en botellas de color verde de 750 ml de capacidad. Debido a que los factores determinantes de la respuesta percibida están relacionados con la respuesta dada para la copa anterior, se realizó una aleatorización de las copas para cada degustador. Todos los vinos han sido analizados sensorialmente por una comisión experta de 10 catadores (5 mujeres y 5 hombres), entre los que se encontraban jueces especializados de la ETSIIAA, así como personal de comités de cata del Consejo Regulador Cigales y de la Estación Enológica de Rueda. Cada catador valoró para cada vino, en una escala del 0 al 10 o de 0 a 5, las cualidades sensoriales que se describen en las fichas de cata correspondientes a las figuras 31, 32 y 33. Se han establecido sesiones de cata correspondientes a los períodos objeto de estudio y se han realizado tandas de catas seleccionando partidas de vinos para cada sesión, a fin de evitar agotamiento entre los catadores.

<b>FECHA</b>		
<b>CATADOR</b>		<b>VINO</b>
<b>DESCRIPTORES</b>		
<b>1. COLOR</b>		
Intensidad (luminosidad)	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	Madera
Intensidad (opacidad)		Lácteos
Limpidez		Frutos secos
Rojos		Tabaco
Azules		Cuero
Tejas		Balsámico
Lágrima		Yodo
<b>2. AROMAS</b>		
2.A. Primarios	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	Acidez
Afrutados		Tanino
Vegetal		Astringencia
2.B. Secund y terci.	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	Untuosidad
Lácteos		Retrogusto
Espaciados		Persistencia
Otros		
2.C. Bouquet	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	
Plano		
Corbo		
Largo		
Primarios		
Herbáceo		
<b>3. BOCA</b>		

Figura 31: Ficha de cata empelada para el análisis sensorial de los vinos tintos de la D.O. Cigales

FECHA					
CATADOR				VINO	
<b>DESCRIPTORES</b>					
<b>1. COLOR</b>					
Intensidad	0	1	2	3	4 5
Limpidez					
Rojos					
Azules					
Tejas					
<b>2.AROMAS</b>					
Intensidad	0	1	2	3	4 5
<b>2.A. VARIETAL</b>					
Afrutados	0	1	2	3	4 5
Fruta roja					
Fruta sobremadura					
Vegetal					
Balsámico					
<b>2.B. FERMENTATIVO</b>					
Alcohol	0	1	2	3	4 5
Etanal					
Lácticos					
Reducción					
Acetales:	0	1	2	3	4 5
Acetato de etilo					
Ácido acético					
<b>2.C. ANIMAL</b>					
Cuero					
Clavo					
Pimienta					
Regaliz					
Canela					
Sudor					
Vainilla					
<b>2.D. ESPECIADO</b>					
Coco	0	1	2	3	4 5
Frutos secos					
<b>2.E. EMPIREUMÁTICO</b>					
Yodo	0	1	2	3	4 5
Asfalto					
<b>Tostado ligero:</b>					
pan	0	1	2	3	4 5
madera					
<b>Tostado medio:</b>					
Café con leche					
Caramelo					
<b>Tostado fuerte:</b>					
Ahumado					
Quemado					
Café tostado (torrefacto)					
<b>3. BOCA</b>					
<b>3.B. TACTO LINGUAL</b>					
Grasa	0	1	2	3	4 5
Casticidad					
Acidez					
<b>3.A. TANICIDAD</b>					
Intensidad tánica	0	1	2	3	4 5
Dulces					
Secos					
Redondos					
Vegetales					
<b>4.IMPRESIÓN FINAL</b>					
Armonía	0	1	2	3	4 5
Plano					
Persistencia					
Postgusto					
<b>VALORACIÓN FINAL</b>					

Figura 32: Primera ficha de cata empleada para el análisis sensorial de los vinos tintos de la D.O. Toro

<b>FICHA DE CATA DE VINOS TINTOS</b>		E.T.S. Ingenierías Agrarias Dpto. Química Analítica
<b>FECHA</b>		
<b>CATADOR</b>		<b>VINO</b>
<b>DESCRIPTORES</b>		
<b>1. COLOR</b>		
Intensidad	0 1 2 3 4 5	
Limpidez	0 1 2 3 4 5	
Rojos	0 1 2 3 4 5	
Azules	0 1 2 3 4 5	
Tejas	0 1 2 3 4 5	
<b>2. AROMAS</b>		
<b>2.A. VARIETAL</b>		
Afrutados	0 1 2 3 4 5	
Fruta roja	0 1 2 3 4 5	
Fruta sobremadura	0 1 2 3 4 5	
Vegetal	0 1 2 3 4 5	
Balsámico	0 1 2 3 4 5	
<b>2.B. FERMENTATIVO</b>		
Alcohol	0 1 2 3 4 5	
Etanal	0 1 2 3 4 5	
Lácticos	0 1 2 3 4 5	
Reducción	0 1 2 3 4 5	
<b>Acetales:</b>		
Acetato de etilo	0 1 2 3 4 5	
Ácido acético	0 1 2 3 4 5	
<b>2.C. ANIMAL</b>		
Cuero	0 1 2 3 4 5	
Clavo	0 1 2 3 4 5	
Pimienta	0 1 2 3 4 5	
Regaliz	0 1 2 3 4 5	
Canela	0 1 2 3 4 5	
Sudor	0 1 2 3 4 5	
Vainilla	0 1 2 3 4 5	
<b>2.D. ESPECIADO</b>		
Coco	0 1 2 3 4 5	
Frutos secos	0 1 2 3 4 5	
<b>2.E. EMPIREUMÁTICO</b>		
Yodo	0 1 2 3 4 5	
Asfalto	0 1 2 3 4 5	
<b>Tostado ligero:</b>		
pan	0 1 2 3 4 5	
madera	0 1 2 3 4 5	
<b>Tostado medio:</b>		
Café con leche	0 1 2 3 4 5	
Caramelo	0 1 2 3 4 5	
<b>Tostado fuerte:</b>		
Ahumado	0 1 2 3 4 5	
Quemado	0 1 2 3 4 5	
Café tostado (torrefacto)	0 1 2 3 4 5	
<b>3. BOCA</b>		
<b>3.B. TACTO LINGUAL</b>		
Grasa	0 1 2 3 4 5	
Causticidad	0 1 2 3 4 5	
Acidez	0 1 2 3 4 5	
<b>3.A. TANICIDAD</b>		
Intensidad tánica	0 1 2 3 4 5	
Dulces	0 1 2 3 4 5	
Secos	0 1 2 3 4 5	
Redondos	0 1 2 3 4 5	
Vegetales	0 1 2 3 4 5	
<b>4. IMPRESIÓN FINAL</b>		
Armonía	0 1 2 3 4 5	
Plano	0 1 2 3 4 5	
Persistencia	0 1 2 3 4 5	
Postausto	0 1 2 3 4 5	
<b>VALORACIÓN FINAL</b>		
	0 1 2 3 4 5	

Proyecto Toro

Figura 33: Ficha de cata final empleada para el análisis sensorial de los vinos tintos de la D.O. Toro

## IV.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los resultados obtenidos del análisis químico y sensorial de los vinos se evaluaron matemáticamente a través del análisis estadístico, analizándose los datos procedentes de los diferentes momentos de su envejecimiento tanto oxidativo (deposi to-madera) como reductor (botella). Se empleó el análisis de varian za (ANOVA) para determinar la existencia o no de diferencias estadísticamente significativas en los parámetros evaluados debidas al tratamiento de microoxigenación, al sistema de envejecimiento o al origen geográfico del roble, así como a su intensidad de tostado. La existencia de diferencias estadísticamente significativas se determinó mediante el empleo del test de Fisher denominado LSD (Least Significant Difference) para un nivel de significación  $\alpha = 0,05$ . Se utilizó el Test de Newman-Kleus para determinar los grupos homogéneos y las diferencias se expresaron como la media de cada variable seguida de una letra, con un nivel de significación del 5,00 %.

Para lograr información resumida y sintetizada del gran conjunto de variables estudiadas y comprender mejor el efecto del tratamiento aplicado en el envejecimiento de los vinos, se usaron técnicas estadísticas multivariantes. Empleando análisis discriminante y análisis factorial sobre las variables tipo y origen de madera, tipo de tostado y tratamiento de microoxigenación, como métodos de reducción de información.

El objetivo del **análisis discriminante lineal** ha sido encontrar las funciones discriminantes, combinación lineal de las variables iniciales, con mayor poder discriminatorio entre los grupos establecidos, y proporcionar tantas funciones como grupos menos uno. Se aplicó para determinar las variables que permitan diferenciar los vinos que habían sido microoxigenados de aquellos que no lo habían sido, y para clasificar o diferenciar los vinos en función del origen del roble, tamaño, tostado y formato de la madera en que habían sido envejecidos.

El análisis discriminante se realizó por pasos eligiendo el estadístico F como criterio de selección de las variables. En este modo operativo, en cada paso se selecciona la variable con mayor poder discriminatorio de los grupos. La selección de variables se aplica para cuando ya no existen variables con un poder discriminatorio superior al límite impuesto, valor de F elegido. En este caso se trabajó con un valor de F de 4.

El análisis factorial trata de explicar el número de variables medidas mediante un número más reducido de factores hipotéticos que ayude a la interpretación de los datos. Este análisis se llevó a cabo eligiendo el **método de componentes principales (APC)** el cual determina nuevas variables, los factores o componentes principales, que son combinaciones lineales de las variables iniciales, que se correlacionan, en otras que serán combinaciones lineales de las iniciales (factores o componentes principales), y que a diferencia de las iniciales, no estarán correlacionadas entre sí. Para asegurar este hecho, los factores finales se obtienen usando la rotación Varimax, que minimiza los errores y busca la combinación de factores ortogonales entre sí, que explique la máxima variabilidad de los datos. Sin ningún tipo de restricción el análisis proporciona tantos factores como variables iniciales. Por ello, habitualmente se establece algún criterio de selección de factores para así obtener un número reducido de nuevas

variables. De las diversas opciones habituales en los trabajos experimentales, en este trabajo se optó por aplicar como criterio de selección de factores tomar los factores con un valor propio o eigenvalue mayor que uno, ya que un valor propio menor que uno indica que la cantidad de información recogida por este factor es poco significativa.

Para evitar asignar un mayor peso a las variables con un mayor valor absoluto se necesitó eliminar el efecto de las unidades de medida y obligar a que todas las variables participen por igual en la definición de las componentes. Esto se consigue igualando las varianzas de todas las variables, es decir, estandarizando los datos. Por otra parte, y por razones similares, se eliminó o no se introdujo en el análisis de variables dependientes, transformaciones matemáticas directas de otras ya consideradas.

Las herramientas utilizadas para la valoración de los resultados obtenidos han sido Statistica v 7.0 (Copyright 1984–2007. Statsoft, Inc., Tulsa, OK), Statgraphics Plus Professional 16.0.03 (2007-2011) y Microsoft Office Excel v.2007.





## V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN



## V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Con el fin de alcanzar los objetivos planteados se presentan los resultados obtenidos divididos en tres grandes capítulos según se ha descrito en el apartado de plan de exposición:

CAPÍTULO 1: Importancia del sistema de envejecimiento (barricas, astillas y tablonos de roble americano, francés y húngaro) en la composición antociánica y color de los vinos tintos. Evolución en madera y en botella. Capítulo centrado en la evaluación del efecto del tamaño del producto y su origen en la propiedades del vino tinto de la DO Cigales, en comparación con el mismo vino envejecido en barricas fabricadas con las mismas maderas que los alternativos.

CAPÍTULO 2: Efecto de la dosificación de oxígeno en las características fenólicas de los vinos elaborados con la variedad tempranillo y tratados con astillas de roble francés. Capítulo centrado en el análisis del efecto de la adición o no de oxígeno en las propiedades de los vinos tintos tratados con astillas de roble francés y tostado medio.

CAPÍTULO 3: Efecto del tipo de tostado y momento de adición de las astillas junto a microoxigenación en las características fenólicas de los vinos tintos. Capítulo centrado en evaluar la importancia de la gestión de la adición de las astillas al vino, tanto en la elección de la mezcla de astillas de diferentes tostados para conseguir un tipo de tostado como el momento de la adición al vino, su efecto en las propiedades de los vinos tintos tratados con astillas y microoxigenación.



## **V.1. CAPÍTULO 1: IMPORTANCIA DEL SISTEMA DE ENVEJECIMIENTO (BARRICAS, ASTILLAS Y TABLONES DE ROBLE AMERICANO, FRANCÉS Y HÚNGARO) EN LA COMPOSICIÓN ANTOCIÁNICA Y COLOR DE LOS VINOS TINTOS. EVOLUCIÓN EN MADERA Y EN BOTELLA**

### **V.1.1. Resumen**

Este capítulo recoge los resultados obtenidos del estudio de la influencia del tipo de tratamiento de envejecimiento sobre la evolución de los parámetros enológicos básicos y la composición antociánica del vino variedad Tinto del País de la DO Cigales. los resultados obtenidos del estudio de la influencia del sistema de envejecimiento (astillas, tablones y barricas), así como del origen de la madera de roble (americano, francés y húngaro), y la influencia de la relación volumétrica del envase (225 y 300 L) sobre las características fenólicas del vino tinto elaborado. Se han comparado los resultados obtenidos de la evolución de los vinos que han permanecido en contacto con astillas, tablones y barricas de los distintos orígenes.

La finalidad del estudio ha sido determinar el efecto de la aportación de madera al vino de distintos tamaños y con diferente relación volumétrica, durante su fase de envejecimiento en contacto con madera y sus repercusiones a lo largo de la permanencia en botella. Además se ha comparado el comportamiento de estos sistemas en maderas de diferentes orígenes geográficos, así para el roble americano se ha empleado la especie *Quercus alba* y para el roble de origen francés y húngaro se ha empleado la especie *Quercus petraea*.

Se presentan los resultados de los vinos obtenidos tras su permanencia en barricas de roble americano, francés y húngaro de 225 y 300 L de capacidad, imitando estas características en depósitos de acero inoxidable con incorporación de astillas y tablones durante 12 meses de envejecimiento. También se presentan los resultados de los vinos en su posterior envejecimiento en botella (14 meses). Los resultados obtenidos en el análisis estadístico indicarán si el compuesto analizado aumenta o disminuye su concentración a lo largo del proceso de envejecimiento en función del sistema u origen de la madera en el que ha permanecido el vino.

Se han analizado parámetros básicos, compuestos fenólicos, color, edad química y antocianos monómeros y acilados de los vinos durante un período de 0 a 26 meses de envejecimiento total, compuestos fenólicos de bajo peso molecular desde el inicio hasta los 24 meses de envejecimiento, parámetros de copigmentación entre los 21 y 24 meses de envejecimiento en botella y un análisis sensorial entre los 2 y 18 meses de envejecimiento.

### V.1.2. Vino estudiado

El vino tinto empleado para el desarrollo experimental ha sido elaborado con la variedad Tinto del País de la DO Cigales elaborado en la bodega La Legua S.L. (Fuelsaldaña). Se ha envejecido durante 12 meses en 6 barricas de roble americano, francés y húngaro, en 6 depósitos de acero inoxidable con astillas y 6 depósitos de acero inoxidable con tabloncillos de las mismas maderas (ver descripción del apartado de materiales y métodos). Posteriormente se ha estudiado su estancia en botella durante 14 meses (durante este segundo período, para diferenciar a los vinos, se ha mantenido la nomenclatura que se asignó durante su estancia en madera).

El vino tinto inicial ha finalizado la fermentación maloláctica, se ha clarificado mediante la adición de 400 mg/L de bentonita y de 10 mg/L de gelatina, posteriormente se ha efectuado una estabilización tartárica mediante refrigeración a -4 °C y sulfitado con metabisulfito potásico ( $K_2S_2O_5$ ) para mantener una concentración de anhídrido sulfuroso libre en valores próximos a los 33 mg/L. Se mostrarán por tanto, los datos del vino inicial (T0), y su evolución durante su período de estancia en recipiente en contacto con madera durante 12 meses (T1-T12) y su estancia en botella (T15-T26). Los muestreos se han realizado cada 60 días en el período de envejecimiento en madera y aproximadamente cada 90 días durante el período de botella. Se han realizado un total de 11 muestreos de cada sistema por duplicado.

### V.1.3. Parámetros enológicos básicos del vino

Para conocer el vino de partida así como información complementaria del comportamiento del vino se han seleccionado diversos parámetros, constituidos básicamente por pH, acidez total, anhídrido sulfuroso libre y total, grado alcohólico, acidez volátil, ácido tartárico, extracto seco y potasio. Los datos iniciales (T0) del vino de variedad Tinto del País de la DO Cigales de los que se ha partido han sido de un pH de 3,69, una acidez total de 4,6 g/L, el anhídrido sulfuroso libre y total de 30 mg/L y 66 mg/L respectivamente, grado alcohólico 13,4 % v/v, acidez volátil 0,52 g/L, ácido tartárico 1,8 g/L, índice de polifenoles totales (IPT) 63, antocianos totales 423 mg/L y extracto seco de 28,4 g/L (tabla 4).

Con los datos observados en la tabla 4 puede deducirse que el vino cumple los criterios necesarios para ser envejecido, dado que ha seguido un correcto proceso de elaboración en la fase de fermentación alcohólica, en la que los azúcares han alcanzado un valor de 1,2 g/L, logrando un grado alcohólico de 13,4 % v/v. Estos componentes han permitido efectuar correctamente la fermentación maloláctica hasta agotar prácticamente la cantidad de ácido málico presente en el vino, quedando un residuo de 0,1 g/L. Ambas fermentaciones han llevado al vino a una acidez volátil media de 0,52 g/L.

La información obtenida estadísticamente mediante un análisis de varianza (ANOVA), para los parámetros básicos del vino, desde que inicia su proceso de envejecimiento en contacto con madera hasta el final de su seguimiento en botella, se muestran en las tablas 12 y 13, en ellas se han comparado las dosis de madera empleada (225 L y 300 L), origen de la madera (americano, francés y húngaro), así

como el sistema de envejecimiento (astillas, tablonos y barricas) diferenciando entre período de madera y botella. Las tablas recogen los p-valores, donde se indica la importancia estadística de cada uno de ellos. Los p-valores inferiores a 0.05 tienen efecto estadísticamente significativo sobre el parámetro correspondiente para un 95,00 % y se indican en negrita.

**Tabla 12:** Valores medios de los parámetros básicos de los vinos envejecidos en un año en relación volumétrica (225-300), sistemas (astillas, tablonos y barricas) y origen de la madera (americano, francés y húngaro). Resultados de la ANOVA

	Relación			Sistema			Origen			p level	
	superficie	volumen	p level	Astillas	Tablonos	Barricas	Americano	Francés	Húngaro		
	225 L	300 L									
Ácido tartárico <sup>1</sup>	1,9a	1,8a	0,298	1,8a	1,8a	1,9a	0,352	1,8a	1,8a	1,8a	0,800
Glicerol <sup>1</sup>	8,5a	8,6a	0,660	8,5a	8,4a	8,7a	0,374	8,6a	8,4a	8,6a	0,528
Antocianos totales <sup>2</sup>	433a	429a	0,441	430a	425a	439a	0,081	436a	428a	430a	0,495
K <sup>2</sup>	1076a	1075a	0,933	1079a	1078a	1069a	0,878	1066a	1084a	1076a	0,703
IPT	65,6a	65,03a	0,142	65,0a	64,92a	65,98a	0,076	65,42a	65,66a	64,90a	0,299
Grado alcohólico <sup>3</sup>	13,4a	13,4b	<b>0,006</b>	13,4a	13,4a	13,5b	<b>0,000</b>	13,4a	13,4a	13,4a	0,341
Ext. Seco <sup>1</sup>	28,1b	27,9a	<b>0,003</b>	27,9a	27,9a	28,2b	<b>0,000</b>	27,9a	28,0a	28,0a	0,058
Acidez total <sup>1</sup>	4,5b	4,5a	<b>0,000</b>	4,4a	4,5a	4,6b	<b>0,000</b>	4,5a	4,5b	4,6c	<b>0,000</b>
Acidez volátil <sup>1</sup>	0,78a	0,76a	0,226	0,75a	0,76a	0,81b	<b>0,008</b>	0,75a	0,77ab	0,80b	<b>0,027</b>
SO <sub>2</sub> total <sup>2</sup>	75a	76a	0,556	76a	74a	76a	0,128	75a	76a	75a	0,524
SO <sub>2</sub> libre <sup>2</sup>	32a	32a	0,535	32a	31a	33a	0,328	32a	32a	31a	0,479
Azúcares <sup>1</sup>	1,3a	1,3a	0,501	1,3a	1,3a	1,3b	<b>0,002</b>	1,3a	1,3a	1,3a	0,448
Densidad	0,9935b	0,9934a	<b>0,000</b>	0,9934a	0,9934a	0,9935a	0,056	0,9934a	0,9934b	0,9935b	<b>0,000</b>
pH	3,70a	3,72a	0,086	3,72a	3,71a	3,70a	0,051	3,71a	3,71a	3,71a	0,814

Para cada factor, letras distintas en filas indican diferencias estadísticamente significativas. En negrita se muestra el p level con significación > 95,00 % (p<0,05) <sup>1</sup> expresado en g/L, <sup>2</sup> expresado en mg/L, <sup>3</sup> expresado en % (v/v)

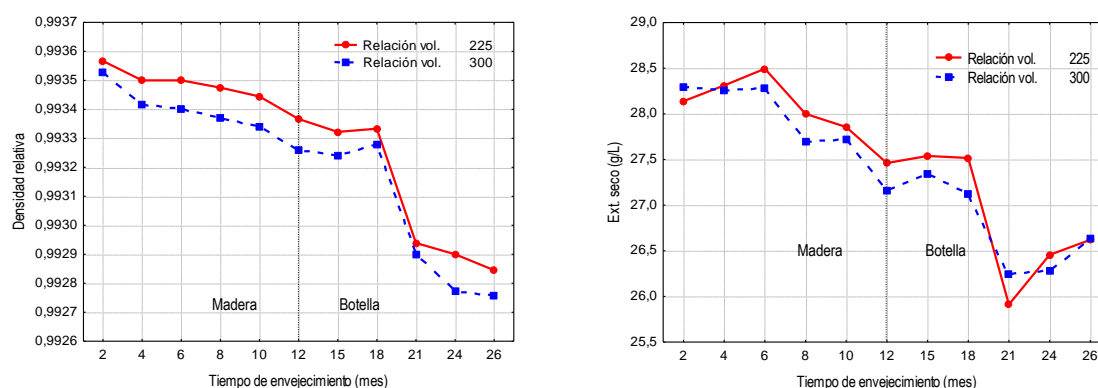
Se han encontrado diferencias significativas entre parámetros analizados en los vinos envejecidos debido al **tamaño del recipiente (225 L y 300 L)** para el grado alcohólico, extracto seco, acidez total y densidad durante el período de contacto vino-madera (2 a 12 meses) (tabla 13). Sin embargo, estas diferencias pierden significación después de un período prolongado de botella (15 a 26 meses) (tabla 13), aunque se mantienen las diferencias y por consiguiente, la influencia del tamaño del envase en el que se conserva el vino, para los parámetros acidez total y densidad.

La gráfica 3a muestra la evolución de la **densidad** en los vinos analizados durante todo el envejecimiento (período de madera y botella). Se ha observado un descenso de la densidad a lo largo del tiempo, este descenso puede ser explicado por la clarificación espontánea que tiene lugar durante el envejecimiento y que determina la precipitación de sustancias presentes en el vino, tanto disueltas como en suspensión.

**Tabla 13:** Valores medios de los parámetros básicos de los vinos envejecidos en botella (15-26 meses) en relación volumétrica (225-300), sistemas (astillas, tablonos y barricas) y origen de la madera (americano, francés y húngaro). Resultados de la ANOVA

	Relación			Sistema			Origen			p level	
	superficie volumen		p level	Astillas	Tablonos	Barricas	p level	Americano	Francés		Húngaro
	225 L	300 L									
Ácido tartárico <sup>1</sup>	1,7a	1,7a	0,383	1,7a	1,7a	1,8b	<b>0,000</b>	1,7a	1,7a	1,7a	0,270
Glicerol <sup>1</sup>	7,5a	7,5a	0,354	6,8a	6,8a	8,8b	<b>0,000</b>	7,6b	7,6b	7,2a	<b>0,002</b>
Antocianos totales <sup>2</sup>	242a	235a	0,222	226a	221a	268b	<b>0,000</b>	249b	237ab	228a	<b>0,009</b>
K <sup>2</sup>	1038a	1034a	0,729	1037a	1039a	1032a	0,907	1030a	1035a	1044a	0,656
IPT	51,89a	55,75b	<b>0,000</b>	57,52c	53,91b	50,02a	<b>0,000</b>	53,52a	54,28a	53,66a	0,713
Grado alcohólico <sup>3</sup>	13,3a	13,3a	0,644	13,2a	13,3a	13,5b	<b>0,000</b>	13,4a	13,3a	13,3a	0,480
Ext. Seco <sup>1</sup>	26,8a	26,7a	0,465	26,3a	26,2a	27,9b	<b>0,000</b>	26,7a	26,9a	26,7a	0,589
Acidez total <sup>1</sup>	5,5b	5,4a	<b>0,047</b>	5,7b	5,7b	5,0a	<b>0,000</b>	5,3a	5,3a	5,8b	<b>0,000</b>
Acidez volátil <sup>1</sup>	0,99a	0,98a	0,660	1,02a	0,98a	0,95a	0,072	0,91a	0,94a	1,09b	<b>0,000</b>
SO <sub>2</sub> total <sup>2</sup>	60a	62a	0,472	62a	57a	64a	0,099	59a	63a	61a	0,483
SO <sub>2</sub> libre <sup>2</sup>	23a	23a	0,989	22a	21a	25b	<b>0,001</b>	23a	23a	22a	0,367
Azúcares <sup>1</sup>	1,5a	1,4a	0,190	1,4a	1,4a	1,6b	<b>0,000</b>	1,5b	1,5b	1,4a	<b>0,008</b>
Densidad	0,9931b	0,9930a	<b>0,000</b>	0,9929b	0,9928a	0,9933c	<b>0,000</b>	0,9930a	0,9931b	0,9930a	<b>0,005</b>
pH	3,60a	3,62a	0,054	3,58a	3,58a	3,66b	<b>0,000</b>	3,61a	3,62a	3,59a	0,140

Para cada factor, letras distintas en filas indican diferencias estadísticamente significativas. En negrita se muestra el p level con significación > 95 % ( $p < 0,05$ ) <sup>1</sup> expresado en g/L, <sup>2</sup> expresado en mg/L, <sup>3</sup> expresado en % (v/v)



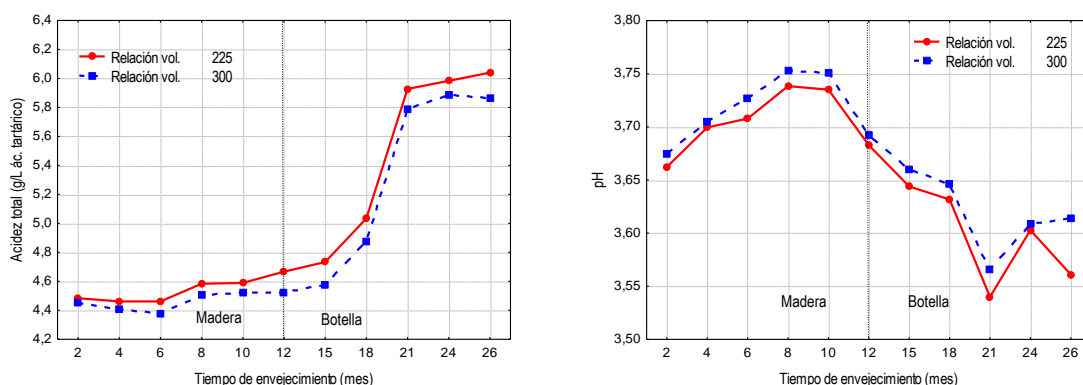
**Gráfica 3:** Evolución de la densidad relativa (a) y del extracto seco (b) del vino durante la crianza en madera y botella de diferente relación volumétrica (225 y 300 L)

Este mismo efecto (descenso en concentración) se repite para el **extracto seco** del vino. La pérdida de estas sustancias en el vino se atenúa cuando se emplean recipientes de mayor tamaño (300 L frente a 225 L). Cabe destacar que el extracto seco se mantiene en la última fase del período de botella (21 a 26 meses), podría explicarse por el aumento de sustancias en suspensión, también se aprecia en dicho período una caída menos acusada de la densidad (gráficas 3 a y b). La relación entre la **acidez total** y el **pH** del vino se definen como parámetros inversamente relacionados, demostrándose en la gráfica 4 (a y



b) que la acidez total en el vino en volumen de 225 L alcanza valores más elevados, si se compara con los vinos en volumen de 300 L, y por tanto las medidas de pH son inferiores en vinos de recipientes de 225 L. Por ello, podría decirse que el pH y la acidez total desempeñan un papel fundamental en el comportamiento del color del vino. Además, como en el vino analizado no se han obtenido diferencias significativas en los valores del pH en función del tamaño del envase, podría decirse que de manera general, la importancia del tamaño del envase no afectará a las modificaciones debidas en los parámetros de color y los antocianos monómeros y acilados presentes en el vino, objeto de estudio (tablas 14, 15, 16 y 17) causados por las modificaciones del pH.

Si se analiza el comportamiento del vino envejecido en **diferentes sistemas (astillas, tablonés, barricas)**, las diferencias aumentan especialmente cuando el vino permanece en bodega. Analizando los vinos en contacto con astillas y tablonés, se encuentran menos diferencias, incluso se definen como grupos homogéneos al analizar la mayoría de los compuestos básicos (tabla 12). A medida que el vino permanece en botella, estas diferencias entre el vino que permaneció en barricas y los sistemas alternativos (astillas, tablonés) aumenta, alcanzando valores de 99,99 % de significación, para los parámetros ácido tartárico, glicerol, antocianos totales, etanol, extracto seco, acidez total, acidez volátil, sulfuroso libre, azúcares, densidad y pH.



**Gráfica 4:** Evolución de la acidez total (g/L ácido tartárico) (a) y pH (b) del vino durante la crianza en madera y botella de diferente relación volumétrica (225 y 300 L)

**El origen de la madera de roble** apenas presenta diferencias significativas en los parámetros básicos durante su permanencia en madera, aunque destaca el comportamiento en parámetros como extracto seco, acidez total, acidez volátil y densidad donde sí hay diferencias significativas entre los vinos analizados que permanecieron en contacto con cada tipo de roble (americano, francés y húngaro). En el período en que el vino ha permanecido en botella, se ven incrementadas las diferencias significativas de los parámetros básicos, destacando el vino que ha permanecido en contacto con roble húngaro, que presenta una mayor diferencia en concentración que los vinos en contacto con roble americano y francés. Encontrando diferencias significativas para este período en parámetros como glicerol, antocianos totales, acidez total, acidez volátil, azúcares y densidad.

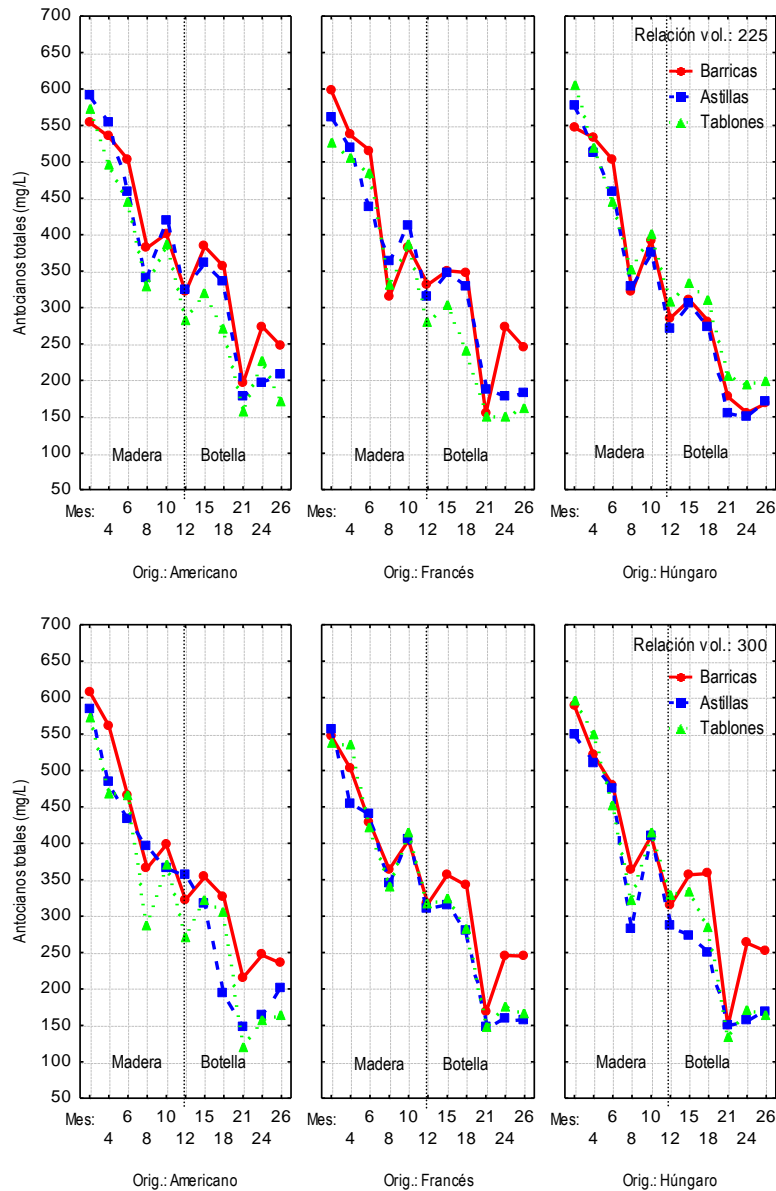
La **acidez total** es significativamente distinta en todos los vinos estudiados, así los valores más bajos de acidez total se encuentran en vinos que han permanecido en barricas de roble francés y americano

(tablas 12 y 13). También se observa una menor concentración de acidez total en los vinos que permanecieron en recipientes de 300 L de capacidad. Este resultado ha podido deberse a una menor acidez volátil, ya que la madera de 300 L cede menor cantidad de grupos acetilos procedentes de la hemicelulosa (Del Álamo et al, 2006c) o lo hacen más lentamente, amortiguando la subida de la acidez volátil de los vinos y por tanto, su acidez total. Los resultados indican que cuando los periodos de envejecimiento son más prolongados, las diferencias entre los vinos procedentes de distintos sistemas y orígenes de la madera se ven acentuados. Por lo que a continuación se analiza (tablas 12 y 13), la evolución a lo largo del tiempo de las variables con diferencias significativas.

Se observa una mayor presencia de **antocianos totales** en vinos provenientes de barricas y por tanto su mayor conservación en el tiempo (gráfica 5 a y b). La mayor pérdida de antocianos en el vino tratado con tabloncillos y astillas puede estar relacionada con un mayor número de precipitaciones y la absorción de los compuestos por la madera (Dallas, C. et al.; 1995, Pazo, M., 1997). Aunque también debe tenerse en cuenta que la incorporación de fragmentos de madera al vino han podido aportar suficiente oxígeno, en las primeras fases del envejecimiento, como para fomentar los procesos de estabilización de estos compuestos, pero no mantuvieron el mismo nivel de antocianos totales que las barricas, en un período prolongado de envejecimiento, disminuyendo entonces la hipótesis debida a los procesos de estabilización.

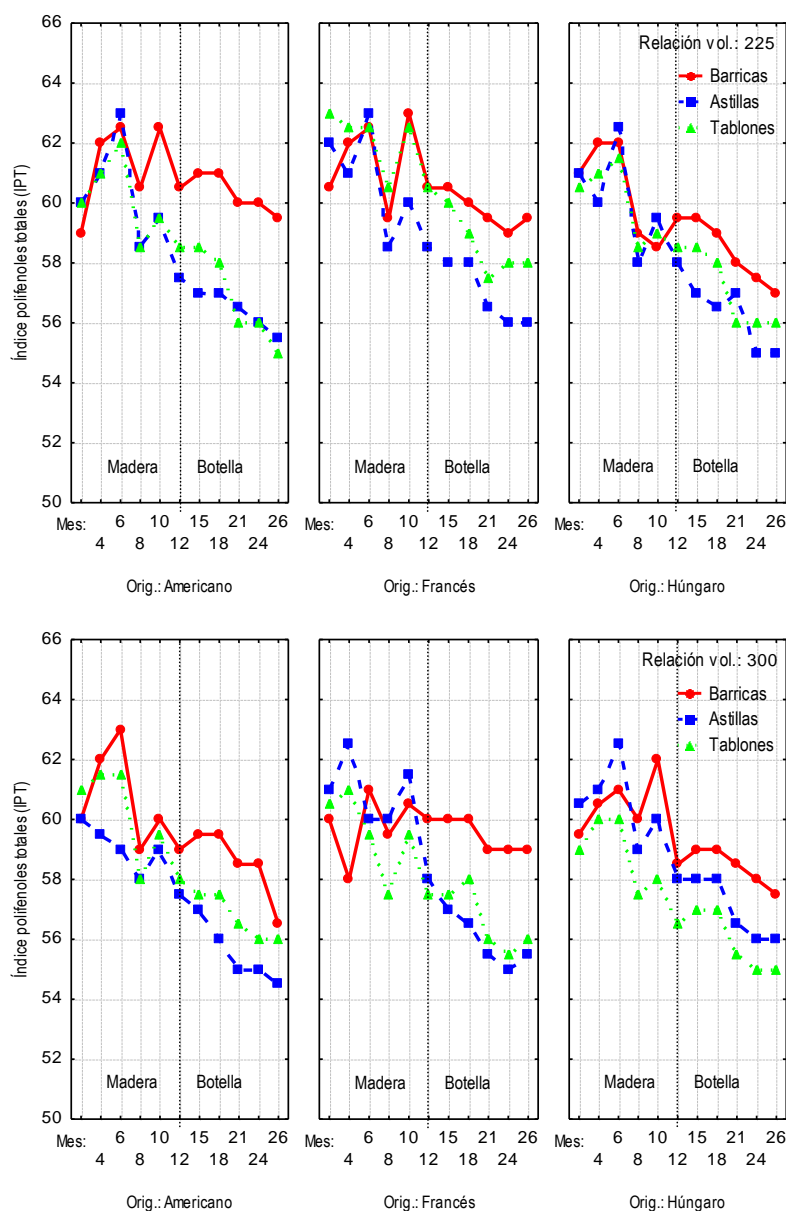
Como ya indicara Ojeda, S. (2012) son numerosos los autores (Martínez, J. 1998; Pomar, M. et al., 2001; Pérez, L. J. et al., 2003d; Hernández, I. et al. 2007; Puech, C. et al., 2006; Gambuti, A. et al., 2010; Puértolas et al., 2010) que apreciaron un descenso del contenido de antocianos de los vinos embotellados debido a reacciones de degradación, precipitación y polimerización, para dar lugar a otros complejos (antocianos polímeros, etc...). Más adelante se han analizado las posibles reacciones que se dan entre los antocianos y otros compuestos presentes en el vino o la madera para mitigar o acelerar esa pérdida.

Puede comprobarse también en las gráficas 5 (a y b) que el tiempo de envejecimiento en botella marca las mayores diferencias en la concentración de antocianos totales de los vinos estudiados. Así los vinos que fueron envejecidos en barricas, han mantenido los niveles más altos de antocianos totales, resultados publicados en el artículo Del Álamo M., et al.; (2004b).



**Gráfica 5:** Evolución de los antocianos totales del vino durante la crianza en madera y botella de diferente relación volumétrica 225L (a) y 300 L (b) de distintos orígenes y sistemas de envejecimiento

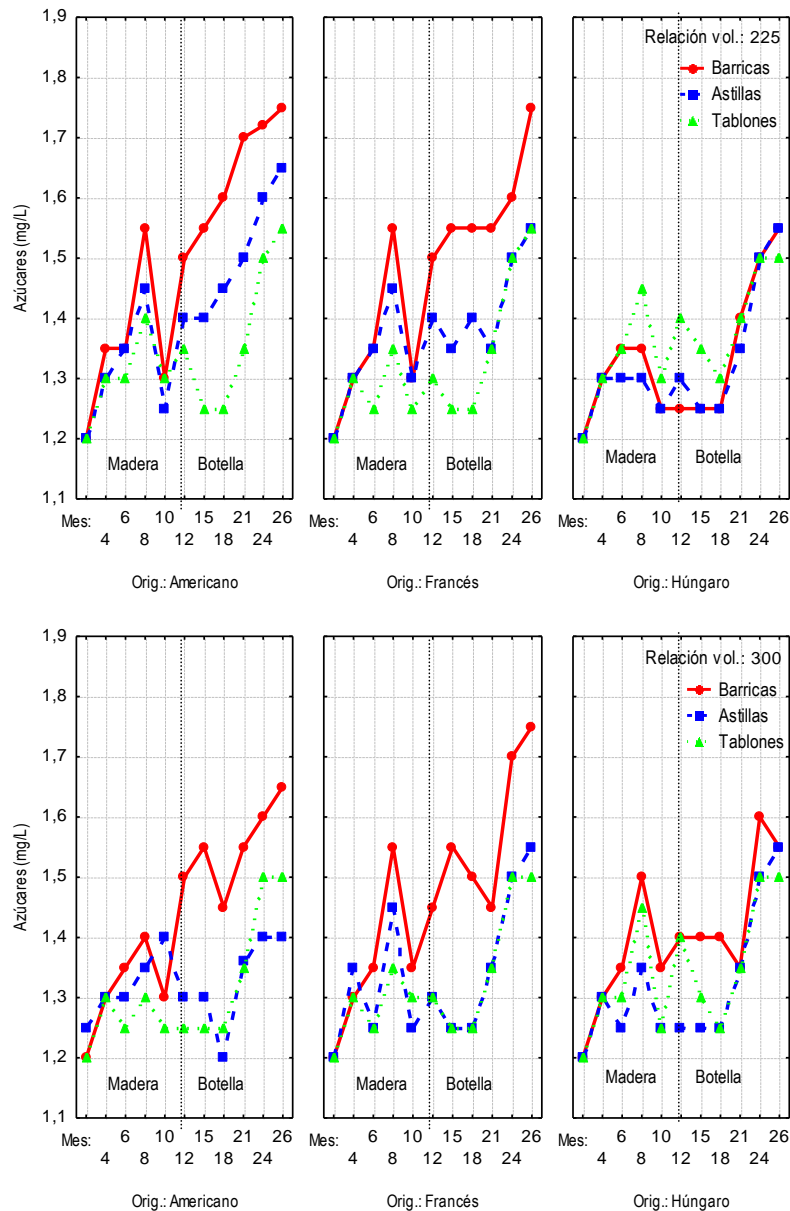
Se observa en las gráficas 6 (a y b) que el tratamiento del vino en depósitos (astillas y tablones) dio lugar al menor valor de la variable IPT, posiblemente debido a una rápida polimerización que provocó la oxidación de polifenoles y formación de moléculas que precipitaron por a su gran tamaño. Otra explicación encontrada por autores como Vivas, N. et al (1993) y Haba, M. et al (1995), podría ser que la aportación de elagitaninos de la madera y oxígeno compensara esta pérdida como en el caso del tratamiento del vino en barricas., donde observaron un menor valor del IPT de los vinos criados en depósito de acero inoxidable en comparación con los vinos de las barricas. Corroborándose así los resultados obtenidos en este trabajo.



**Gráfica 6:** Evolución del Índice de polifenoles totales (IPT) del vino durante la crianza en madera y botella de diferente relación volumétrica 225L (a) y 300 L (b) de distintos orígenes y sistemas de envejecimiento

Las mayores concentraciones de **azúcares (glucosa y fructosa)** se alcanzan en los vinos que han permanecido en contacto con barricas de roble americano y francés. Sin embargo, no hay diferenciación con los vinos tratados con roble húngaro para los distintos sistemas, por tanto la aportación de azúcares alcanzados en el roble húngaro, limita diferenciar los vinos envejecidos en sistemas alternativos comparados con los vinos envejecidos en barricas. Del Álamo, M. (1997) encontró incrementos en la cantidad de azúcares reductores durante el envejecimiento del vino, que se explica por la hidrólisis de los antocianos glucosilados, pasando a agliconas, con liberación de azúcares. La madera de roble cede al vino taninos hidrolizables que derivan en glucosa, y ácidos gálico y elágico (Zamora, F., 2003a). El secado de la madera es fundamental en la concentración de azúcares reductores presentes en los vinos como ya indicara Gallego, L. (2013) donde observara que las mayores concentraciones se alcanzaban

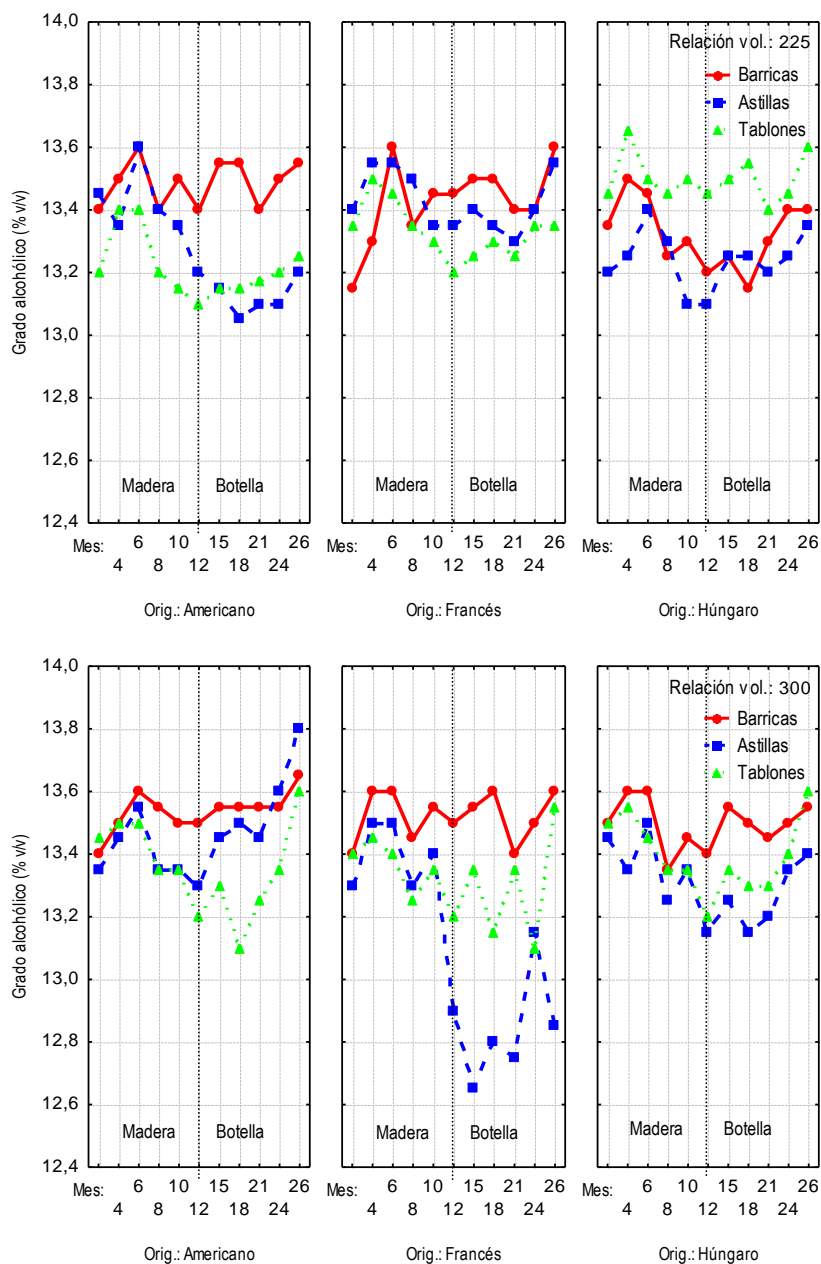
para vinos en contacto con madera, que ha recibido un secado tradicional (barricas), frente a los métodos de secado acelerado (astillas y tablones).



**Gráfica 7:** Evolución de los azúcares (glucosa+fructosa) del vino durante la crianza en madera y botella de diferente relación volumétrica 225L (a) y 300 L (b) de distintos orígenes y sistemas de envejecimiento

Cuando se emplea roble en el envejecimiento, se ha encontrado que la presencia de grado alcohólico afecta a los parámetros básicos principalmente por su relación con la etanólisis de la madera. El roble húngaro cortado en tablones provoca en el vino menor concentración de glicerol, antocianos totales, azúcares y pH, acidez total y acidez volátil y mayor presencia de etanol principalmente cuando el vino envejece en recipientes de 225 L de capacidad. Esta mayor presencia de etanol en el vino además podría ayudar a aumentar la cantidad de antocianos totales, azúcares presentes en el vino y a disminuir valores de i, ii, a, aa.

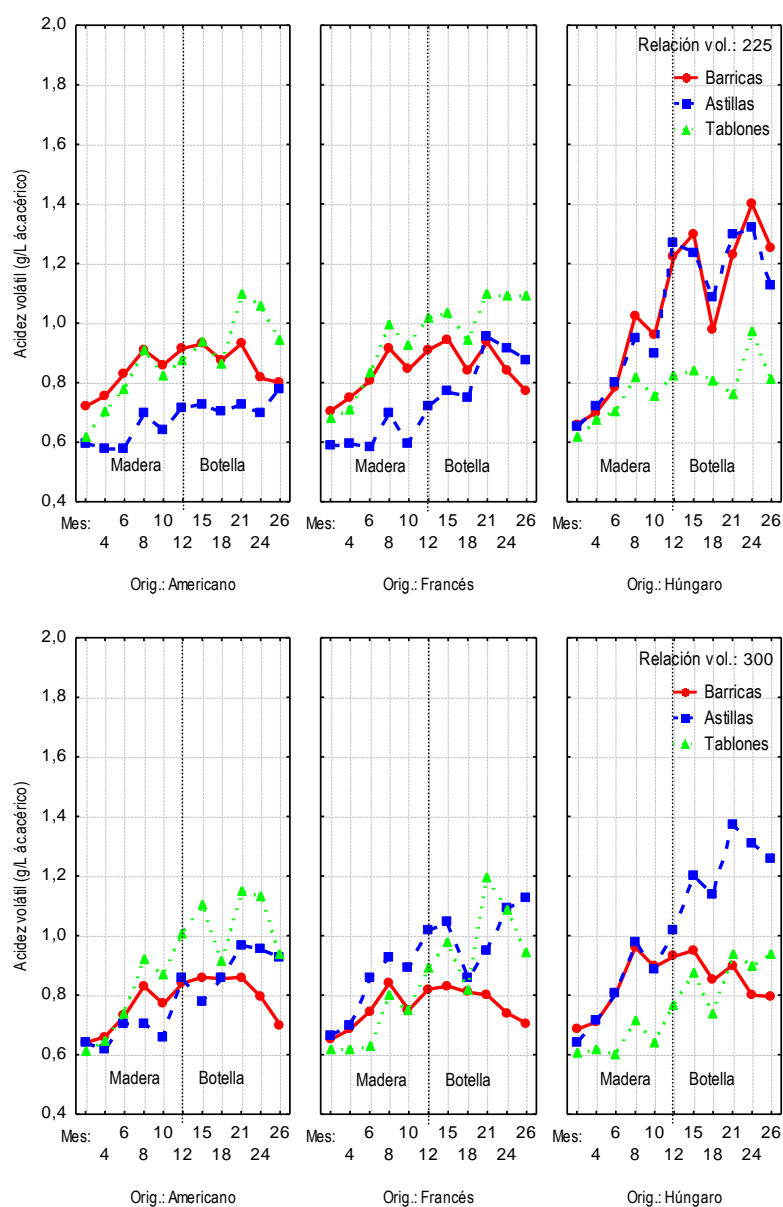
El contenido en **grado alcohólico** (% v/v) presenta valores más elevados en vinos que han permanecido en recipientes de mayor tamaño, debido a una menor evaporación del mismo o una menor absorción por la madera (gráfica 8). Destacan los vinos de las barricas con los niveles más elevados de alcohol, seguido de los vinos en contacto con tablones. También se observa un mayor grado alcohólico en los vinos que han permanecido en contacto con roble húngaro, seguido del roble francés, corroborando así los resultados descritos por Ojeda, S. (2012) y justificando estos resultados por el corte de las duelas en aserrado, lo que hace a la madera más porosa que la técnica de hendido. Estos resultados coinciden con lo observado por otros autores (Pomar, M. et al., 2001; González, L. A. et al., 2006; Martínez, J., 2004). Sin embargo, esto no puede ser la única justificación, ya que el corte en hendidura se realiza en el roble francés. Posiblemente habría que analizar con mayor profundidad la estructura física de la madera y su relación con la mayor o menor porosidad, densidad, evaporación, etc.



**Gráfica 8:** Evolución del grado alcohólico (% v/v) del vino durante la crianza en madera y botella de diferente relación volumétrica 225L (a) y 300 L (b) de distintos orígenes y sistemas de envejecimiento

La **acidez total** y la **acidez volátil** de los vinos presentan evoluciones similares, se observa que el aumento de la acidez volátil produce una variabilidad en la acidez total. De manera general, se aprecia una evolución de la acidez volátil ascendente con el paso del tiempo a excepción de los vinos envejecidos en la última fase de botella (21-26 meses) que desciende su contenido en acidez volátil (gráficas 9 a y b). Una de las causas del aumento de la acidez volátil es la cesión de la madera de unidades de xilosa provenientes de la hemicelulosa. Esta xilosa presenta grupos acetilo, que al liberarse forman ácido acético. Esta reacción se produce por procesos de hidrólisis que tienen lugar durante el tostado de la madera (Martínez, J., 1999 y 2004; Zamora, F., 2000 y 2003b; Del Álamo et al., 2000; Pomar, M., 2001; Martínez, J. et al., 2005a y 2006b). Esta podría definir la causa del aumento más acusado de la acidez volátil del vino en el período de envejecimiento en contacto con la madera. Destacando una menor cesión de los tablonos de roble húngaro, que podría dificultar la extracción del ácido acético formado en el tostado medio de la madera. Otra explicación al aumento de la acidez volátil sería la presencia de oxígeno en el período de contacto con madera, sobre todo al inicio de la incorporación del vino en la bodega o de los trozos de madera al vino. Esta aportación de oxígeno fomenta los fenómenos oxidativos, produciéndose pérdida de alcohol por oxidación a ácido acético (González, L. A. et al. 2006). Además, la cantidad de oxígeno cedida por la madera nueva cortada en astillas es de 14 mg de oxígeno por cada 100 gramos, frente a los 9 mg de oxígeno que ceden al vino los tablonos. Estos datos explicarían la aparente disminución de grado alcohólico en los vinos envejecidos en depósitos (tablas 12 y 13), al no producirse una interacción con el exterior como ocurre en la bodega, no se produce la evaporación de agua. Fenómeno que ocurre en los vinos envejecidos en bodegas, donde la pérdida de agua por evaporación fomenta la concentración de los componentes del vino, entre los que destaca el etanol, siempre que las condiciones ambientales ayuden a que se produzca este fenómeno.

Si se analiza lo ocurrido en la fase de madera (tabla 12), se comprueba que se alcanzan los valores de **acidez total** más elevados en los vinos envejecidos en bodega, especialmente de roble húngaro, seguido del roble francés, y manteniendo valores más bajos los vinos de bodegas de roble americano. Otros autores observaron un valor más alto de acidez total en el vino envejecido con roble francés que en americano (Aiken, J. W. et al., 1984; Martínez, J., 1999; Martínez, J., 2004). Incluso han observado que la acidez total en los 6 primeros meses de envejecimiento en madera ha sido superior en el vino en contacto con bodegas de roble americano, pero cuando han aumentado el tiempo de permanencia en bodega a 24 meses, los valores más elevados se han dado en los vinos en contacto con roble francés y húngaro (Ojeda, S., 2012).



**Gráfica 9:** Evolución de la acidez volátil (g/L ác. acético) del vino durante la crianza en madera y botella de diferente relación volumétrica 225L (a) y 300 L (b) de distintos orígenes y sistemas de envejecimiento

#### V.1.4. Compuestos fenólicos, parámetros de color y edad química en el vino.

Las diferencias encontradas en los compuestos fenólicos y parámetros de color de los vinos aumentan con el transcurso del tiempo, especialmente los vinos envejecidos en las barricas frente a una mayor similitud entre los vinos tratados con las astillas y los tablones; teniendo en cuenta que en las barricas existe un importante factor no analizado en este primer estudio, que es la microoxigenación. Se observa, para los datos analizados en relación con el **sistema de envejecimiento** que desde el período de madera los parámetros diferenciadores de los vinos envejecidos en barrica son la componente roja (%A520), tonalidad (T), importancia de la componente roja %dA, coordenada a\* y croma (C\*). Destaca la diferenciación entre los vinos envejecidos en barricas, astillas y tablones después de un período



prolongado de botella (14 meses), en parámetros como polifenoles totales (PT), poco polimerizados (PPP), polifenoles muy polimerizados (PMP), componente amarilla (%A420), componente azul (%A620), intensidad colorante (IC), tonalidad (T), importancia de la componente roja (%dA), relación de los pigmentos poliméricos con respecto a los antocianos del vino (i), relación de los pigmentos poliméricos con respecto a los antocianos ión flavilium (ii), relación de los antocianos del vino en forma flavilium con respecto a los antocianos del vino (i/ii), antocianos libres ión flavilium ( $\alpha$ ), antocianos libres ión flavilium sin SO<sub>2</sub> ( $\alpha\alpha$ ) L, relación rojo-verde (a\*), relación amarillo-azul (b\*), croma (C\*) y tono o matiz (H) (tablas 14 y 15).

En relación al **tamaño del envase** destaca la influencia sobre la alta polimerización de fenoles (PMP) en el tiempo de contacto con madera y los polifenoles totales (PT) encontrado en los vinos durante su período en botella. Una mayor polimerización se produce en recipientes de 225 L, sin embargo esta diferenciación deja de ser significativa en el período de botella. Respecto a la presencia de fenoles en el vino (PT) la mayor concentración se logra en recipientes de 300 L durante el período de permanencia en botella (15-26 meses) (tablas 14 y 15). De lo que se deduce que el envejecimiento en recipientes de mayor tamaño mitiga la polimerización de los fenoles en general y por tanto, ayuda a mantener en el vino niveles más elevados de estos compuestos. Parece que el tamaño del envase de madera produce un efecto diferenciador en la concentración de compuestos fenólicos presentes en el vino como indicara Zhang, B. et al. (2015b).

El **origen de la madera** parece no ser un factor diferenciador de los vinos tratados con los tres tipos de roble estudiados: americano, francés y húngaro. Sólo se aprecian diferencias significativas para el tono (H) en el período de madera. Cuando el vino evoluciona en el tiempo, en ambiente reductor, las diferenciaciones se incrementan alcanzando diferencias significativas en parámetros como componente amarilla (%A420), intensidad colorante (IC), tonalidad (T), importancia de la componente roja (%dA), relación de los pigmentos poliméricos con respecto a los antocianos del vino (i), relación de los antocianos del vino en forma flavilium con respecto a los antocianos del vino (i/ii), color debido a los antocianos libres en forma de ión flavilium ( $\alpha$ ), luminosidad (L), coordenada a\*, coordenada b\*, croma (C) y tono (H), obteniéndose estadísticamente valores homogéneos entre el roble americano y francés. Es por tanto, el roble húngaro el origen de la madera diferenciador de los vinos en relación a sus parámetros de color.

**Tabla 14:** Valores medios de los parámetros de color y compuestos fenólicos de los vinos envejecidos en un año en relación volumétrica (225-300), sistemas (astillas, tablonos y barricas) y origen de la madera (americano, francés y húngaro). Resultados de la ANOVA

	Relación volumen			Sistema			Origen				
	225 L	300 L	p level	Astillas	Tablonos	Barricas	p level	Americano	Francés	Húngaro	p level
PT <sup>2*</sup>	2011,66a	1995,22a	0,226	2003,64a	2009,05a	1997,64a	0,789	2009,94a	2008,25a	1992,14a	0,496
PPP <sup>2</sup>	1301,43a	1321,68a	0,055	1309,30a	1320,39a	1304,99a	0,465	1305,32a	1325,40a	1303,94a	0,177
PMP <sup>2</sup>	710,23b	673,54a	<b>0,025</b>	694,34a	688,66a	692,66a	0,958	704,62a	682,85a	688,19a	0,522
CAT <sup>2</sup>	818,79a	823,94a	0,646	806,34a	826,07a	831,68a	0,157	818,72a	829,82a	815,55a	0,553
TAN <sup>1</sup>	2,56a	2,58a	0,586	2,56a	2,56a	2,59a	0,766	2,60a	2,55a	2,57a	0,495
%A420	34,48a	34,58a	0,263	34,60a	34,59a	34,40a	0,127	34,53a	34,57a	34,47a	0,664
%A520	50,72a	50,57a	0,295	50,48a	50,49a	50,95b	<b>0,011</b>	50,61a	50,58a	50,73a	0,670
%A620	14,81a	14,88a	0,561	14,92a	14,95a	14,65a	0,080	14,88a	14,84a	14,80a	0,830
IC	13,29a	13,20a	0,419	13,17a	13,28a	13,28a	0,592	13,20a	13,23a	13,30a	0,733
T	0,68a	0,69a	0,184	0,69b	0,69b	0,68a	<b>0,015</b>	0,68a	0,68a	0,68a	0,559
%dA	51,35a	51,03a	0,263	50,87a	50,88a	51,81b	<b>0,010</b>	51,11a	51,08a	51,38a	0,631
L	64,11a	64,33a	0,314	64,29a	64,17a	64,20a	0,896	64,34a	64,22a	64,09a	0,654
a*	32,00a	31,64a	0,057	31,52a	31,58a	32,36b	<b>0,000</b>	31,60a	31,73a	32,12a	0,062
b*	1,25a	1,42a	0,192	1,44a	1,43a	1,13a	0,106	1,34a	1,39a	1,27a	0,767
C*	32,05a	31,71a	0,067	31,58a	31,66a	32,41b	<b>0,001</b>	31,67a	31,80a	32,18a	0,072
H	4,73a	4,88a	0,452	4,94a	4,81a	4,65a	0,496	4,77a	4,49ab	5,15b	<b>0,029</b>
i	0,35a	0,35a	0,263	0,35a	0,35a	0,34a	0,103	0,35a	0,35a	0,35a	0,663
ii	0,10a	0,10a	0,492	0,10a	0,10a	0,10a	0,099	0,10a	0,10a	0,10a	0,577
i/ii	3,73a	3,80a	0,234	3,77a	3,73a	3,77a	0,693	3,77a	3,78a	3,75a	0,861
α	24,89a	23,93a	0,107	24,61a	24,68a	23,93a	0,519	24,56a	24,06a	24,61a	0,700
αα	20,05a	20,11a	0,851	19,65a	20,08a	20,50a	0,122	19,83a	20,05a	20,36a	0,422

Para cada factor, letras distintas en filas indican diferencias estadísticamente significativas. En negrita se muestra el p level con significación > 95 % (p<0,05) <sup>1</sup> expresado en g/L, <sup>2</sup> expresado en mg/L, <sup>3</sup> expresado en % (v/v), \*Folin

**Tabla 15:** Valores medios de los parámetros de color y compuestos fenólicos de los vinos envejecidos en botella (15-26 meses) en relación volumétrica (225-300), sistemas (astillas, tablonos y barricas) y origen de la madera (americano, francés y húngaro). Resultados de la ANOVA

	Relación volumen			Sistema			Origen				
	225 L	300 L	p level	Astillas	Tablonos	Barricas	p level	Americano	Francés	Húngaro	p level
PT <sup>2*</sup>	2091,86a	2164,97b	<b>0,000</b>	2218,35c	2146,10b	2020,80a	<b>0,000</b>	2125,04a	2131,06a	2129,14a	0,969
PPP <sup>2</sup>	1215,56a	1199,04a	0,186	1182,34a	1191,77a	1247,79b	<b>0,000</b>	1211,47a	1204,28a	1206,14a	0,886
PMP <sup>2</sup>	936,13a	914,75a	0,130	962,62b	938,70b	875,00a	<b>0,000</b>	936,07a	914,40a	925,86a	0,452
CAT <sup>2</sup>	647,19a	643,81a	0,771	650,53a	645,82a	640,14a	0,764	654,50a	637,92a	644,08a	0,500
TAN <sup>1</sup>	2,71a	2,71a	0,833	2,70a	2,69a	2,74a	0,519	2,74a	2,72a	2,68a	0,454
%A420	37,09a	37,08a	0,837	37,07b	36,85a	37,34c	<b>0,000</b>	37,15b	37,15b	36,96a	<b>0,000</b>
%A520	48,53a	48,44a	0,286	48,47a	48,44a	48,55a	0,485	48,46a	48,39a	48,61a	0,071
%A620	13,82a	13,87a	0,577	13,87b	14,01b	13,64a	<b>0,001</b>	13,84a	13,87a	13,83a	0,915
IC	13,50a	13,50a	0,926	13,35a	13,84b	13,31a	<b>0,000</b>	13,32a	13,42a	13,76b	<b>0,000</b>
T	0,73a	0,73a	0,055	0,73a	0,72a	0,74b	<b>0,000</b>	0,74b	0,73b	0,73a	<b>0,000</b>
%dA	47,34a	47,31a	0,873	47,07a	47,04a	47,85b	<b>0,000</b>	47,00a	47,38ab	47,58b	<b>0,026</b>
L	63,47a	63,63a	0,264	63,47b	62,95a	64,23c	<b>0,000</b>	63,82b	63,89b	62,93a	<b>0,000</b>
a*	27,95a	28,31a	0,225	27,19a	28,68b	28,51b	<b>0,000</b>	27,68a	28,00a	28,71b	<b>0,014</b>
b*	4,66a	4,70a	0,485	4,68ab	4,78b	4,59a	<b>0,006</b>	4,61a	4,63a	4,81b	<b>0,001</b>
C*	28,26a	28,28a	0,935	27,63a	28,58b	28,60b	<b>0,000</b>	27,84a	28,07a	28,90b	<b>0,000</b>
H	6,23	6,17	0,425	6,01a	6,03a	6,56b	<b>0,000</b>	6,25a	6,21a	6,13a	0,452
i	0,42a	0,43a	0,079	0,44b	0,44b	0,40a	<b>0,000</b>	0,42a	0,42a	0,43b	<b>0,002</b>
ii	0,17a	0,17a	0,695	0,18b	0,18b	0,15a	<b>0,000</b>	0,17a	0,17a	0,18b	<b>0,001</b>
i/ii	2,66a	2,68a	0,355	2,59a	2,56a	2,87b	<b>0,000</b>	2,73b	2,70b	2,59a	<b>0,000</b>
α	31,85a	31,85a	0,992	33,25b	35,30c	27,00a	<b>0,000</b>	31,27a	30,88a	33,39b	<b>0,031</b>
αα	32,29a	32,07a	0,751	33,32b	34,45b	28,77a	<b>0,000</b>	31,82a	31,46a	33,26a	0,085

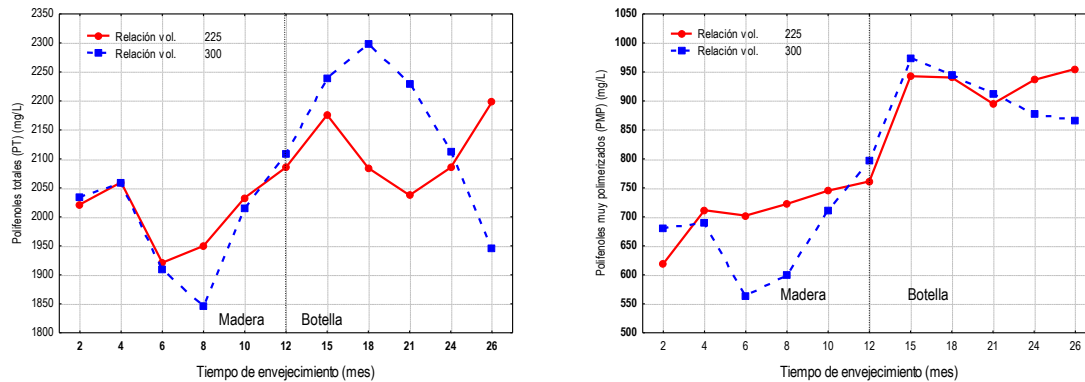
Para cada factor, letras distintas en filas indican diferencias estadísticamente significativas. En negrita se muestra el p level con significación > 95 % (p<0,05) <sup>1</sup> expresado en g/L, <sup>2</sup> expresado en mg/L, <sup>3</sup> expresado en % (v/v), \*Folin

#### V.1.4.1. Compuestos fenólicos en el vino

Los tratamientos en los que el vino ha permanecido en barricas han tenido menor nivel de polifenoles totales (PT Folin) en los últimos meses de envejecimiento en botella con respecto a los otros tratamientos (astillas-tablonos) (Gráficas 10a y 11). Este resultado se podría explicar teniendo en cuenta la polimerización experimentada por estas alternativas de crianza, o causada por una mayor extracción de elagitaninos y otros compuestos de la madera (Chatonnet, P. et al., 1997; Fernández, B. et al., 1999b y 2003b; Pérez, L. J. et al., 2003a y b; Cadahía, E. et al., 2004; Fernández, B., 2007).

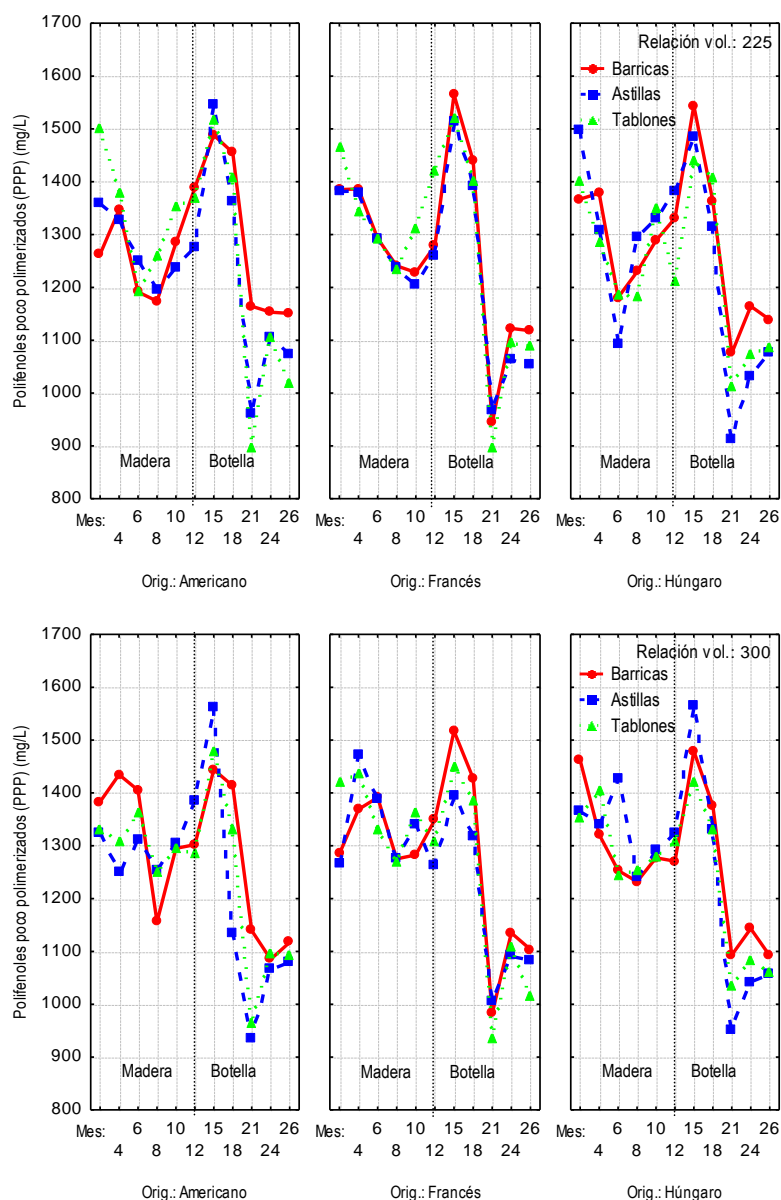
La concentración de polifenoles totales (PT Folin) en el vino se mantiene estable e incluso aumenta en cantidad para los vinos en contacto con astillas y tablonos a lo largo del proceso de envejecimiento, y principalmente las mayores transformaciones se dan en la fase de botella, donde se observa desde el comienzo del período reductor un importante descenso en la concentración de fenoles totales en vinos que en el primer período permanecieron en contacto con barricas. En esta fase, los fenoles poco

polimerizados (PPP) disminuyen hasta valores inferiores a los vinos envejecidos en barricas, esto demostraría que los sistemas alternativos experimentan procesos de polimerización más rápidos, lo que se traduce en una evolución más acelerada cuando se emplean alternativos, permitiendo esta técnica acortar los tiempos de envejecimiento ya que la aportación de polifenoles totales en los sistemas alternativos aumentan. Estas diferencias en los valores corroboran los resultados descritos por Del Álamo, M. (2004a) (tablas 14 y 15).



**Gráfica 10:** Evolución de los polifenoles totales (PT Folin) (a) y polifenoles muy polimerizados (PMP) (b) del vino durante la crianza en madera y botella de diferente relación volumétrica (225 y 300 L)

Los fenoles poco polimerizados (PPP) (gráficas 11 a y b) no son significativamente diferentes en los vinos tratados en los distintos sistemas durante el primer período de envejecimiento (2-12 meses). Sin embargo cuando el vino pasa a la fase de envejecimiento en botella, comienzan a diferenciarse los vinos envejecidos en barrica, ya que mantiene una mayor concentración de compuestos fenólicos libres, como ya se comentara anteriormente. Se observa también un aumento en la concentración de fenoles libres en los vinos en períodos en los que la presencia de oxígeno es menor, podría decirse que en ambiente reductor o con un descenso de la presencia de anhídrido sulfuroso los compuestos fenólicos poco polimerizados experimentan una liberación, siendo detectables a longitudes de onda de 750 nm.



**Gráfica 11:** Evolución de los polifenoles poco polimerizados (PPP) del vino durante la crianza en madera y botella de diferente relación volumétrica 225L (a) y 300 L (b) de distintos orígenes y sistemas de envejecimiento

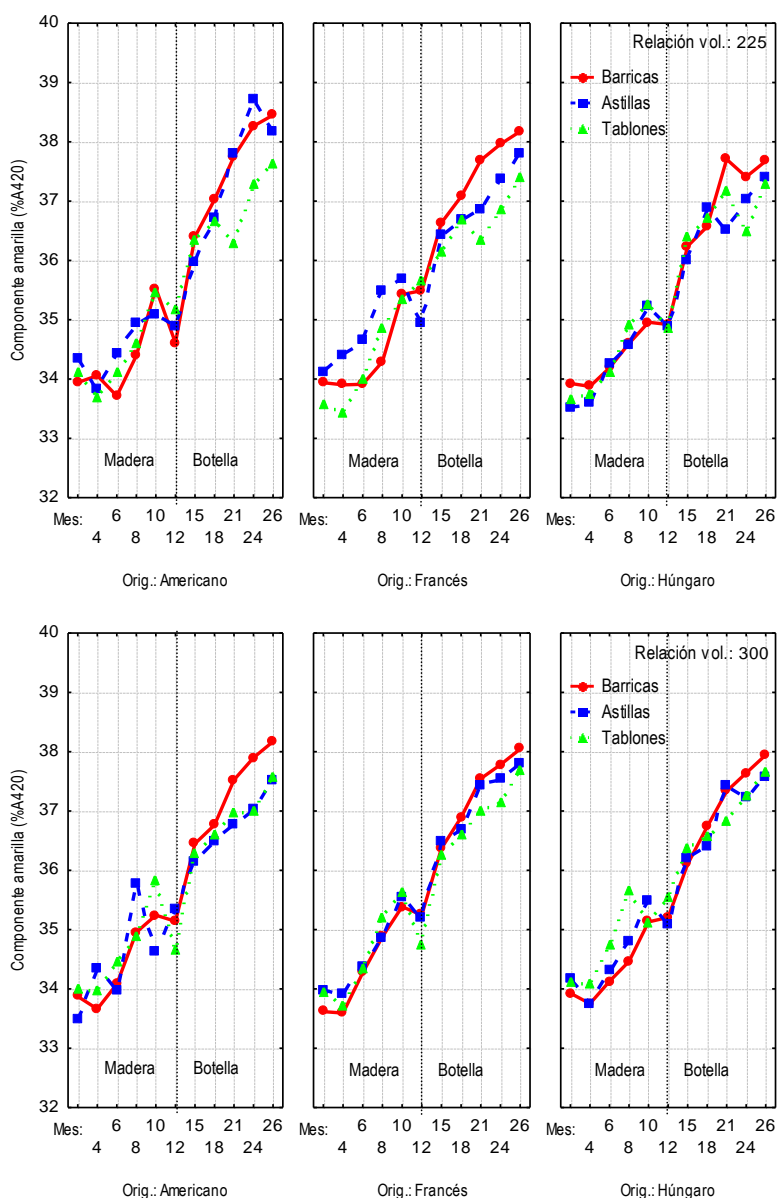
En términos generales puede decirse que los compuestos fenólicos del vino disminuyen durante su envejecimiento, pérdida que se ve mitigada en aquellos vinos que permanecieron en barricas frente a depósitos de acero inoxidable. Las diferencias más significativas se alcanzan en el período de permanencia en botella, lo que explicaría que los polifenoles de los vinos en contacto con barricas presentan una mayor estabilidad, hecho que se refleja en que hacen que sus concentraciones sean superiores a lo largo del tiempo. Diversos autores también apreciaron un descenso de estos compuestos en el vino durante el tiempo de bodega y botella (Peyron, E., 1994, Ojeda S., 2012). Además, se ha encontrado que los vinos tratados con roble francés alcanzan valores más elevados de polifenoles totales (PT Folin e IPT) que los envejecidos en roble americano y húngaro, como ya observara González, L. A. et

al. (2006), aunque tales diferencias no son significativas, confirmarían la mayor extracción de elagitaninos en el envejecimiento con roble europeo (francés y húngaro).

#### V.1.4.2. Parámetros de color

El color de los vinos se ha estudiado mediante los métodos de Glories, Y. y CIELab descritos en el Capítulo 2. La componente amarilla (%420) de los vinos ha experimentado una evolución diferente en función del tamaño y origen de la madera empleada (nivel de significación 100 % para período de botella) (tabla 14) (gráficas 12 a y b). Los vinos envejecidos en barrica 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 (Cadahia, E. et al., 2008); fenómenos modulados por el aporte de oxígeno a través de las duelas de la barrica. Destaca el final del envejecimiento en botella, donde se observa una mayor importancia de componente amarilla en los vinos que estuvieron en barrica al inicio del envejecimiento. Además los vinos tratados con roble húngaro, especialmente con la madera cortada en tablones, muestran valores más bajos de porcentaje de color amarillo, podría ser atribuido a una menor polimerización y condensación de los taninos en estos vinos. Autores como Pomar, M. (2001), Pérez, L. J. et al. (2003a) y González, L. A. et al. (2006), atribuyeron un porcentaje de amarillo más elevado a la mayor extracción de compuestos fenólicos de la madera hacia el vino.

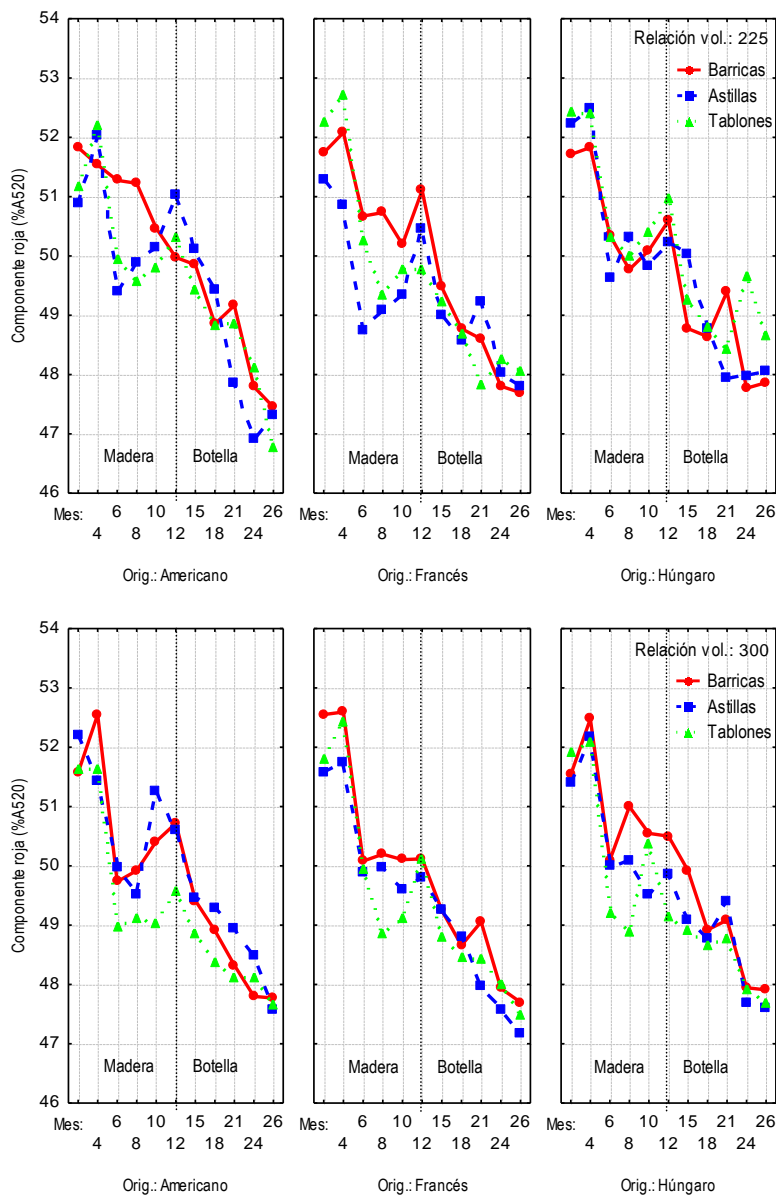
Aunque no es significativo, puede observarse en las tablas 14 y 15, que la concentración de catequinas (período de madera) y taninos (período de botella) es menor en los vinos tratados con madera de origen húngaro. El roble húngaro empleado en este estudio presenta un grano fino a muy fino, lo que se ha relacionado con una mayor porosidad (Zamora, F., 2003a), pero el roble francés empleado en el estudio también pertenece a dicha especie (*Quercus petraea*), además dependiendo del origen geográfico el grano puede ser variable, lo que explicaría la diferenciación entre los dos robles de una misma especie y distinto origen. Atribuyendo menor porosidad al roble de origen húngaro frente al roble francés. Sin embargo, las últimas investigaciones realizadas por el grupo UVaMOX han determinado que el tipo de grano no influye significativamente en el aporte de oxígeno al vino, ya que aunque en teoría el grano fino debería producir una mayor oxigenación por su mayor porosidad, este hecho no ha sido constatado en ningún estudio y las barricas de roble americano de grano medio aportan más oxígeno a los vinos que las barricas de grano fino (Del Álamo, M. et al. 2014 y 2015; Nevares I. et al., 2014a y b).



**Gráfica 12:** Evolución de la componente amarilla (% A420) del vino durante la crianza en madera y botella de diferente relación volumétrica 225L (a) y 300 L (b) de distintos orígenes y sistemas de envejecimiento

El descenso observado en la componente roja (% A520) (gráficas 13 a y b) de los vinos responde a lo esperado en el proceso de envejecimiento de los vinos, debido a los procesos que tienen lugar durante la crianza de un vino, como son las polimerizaciones y condensaciones en las que están implicados los antocianos y los taninos (Feuillat, F. et al., 1999) con etanal como intermediario y en presencia de oxígeno (Martínez, J., 1998 y 2004; Del Álamo, M. et al., 2002; Fernández, B. et al., 2003b; Pérez, L. J. et al., 2003a, b y d; Cadahía, E. 2004 y Cadahía, E. et al., 2008). El ligero aumento que han experimentado los vinos en barrica en su componente roja durante el periodo madera, ha podido ser debido al predominio de los procesos de copigmentación y de polimerización estabilizadores de la materia colorante (Valls, J. et al., 2000). Se observa un mayor porcentaje de color rojo en el vino que ha estado en contacto con madera de roble húngaro, este resultado avala lo encontrado por Ojeda, S. (2012), que

determina un valor más elevado en el porcentaje de rojo en un vino envejecido durante 12 meses de crianza en barricas de este roble frente a los vinos envejecidos en roble francés, americano y español.



**Gráfica 13:** Evolución de la componente roja (% A520) del vino durante la crianza en madera y botella de diferente relación volumétrica 225L (a) y 300 L (b) de distintos orígenes y sistemas de envejecimiento

La intensidad colorante (IC) de los vinos nos da información sobre la estructura y cuerpo en boca. Se ha observado en meses de envejecimiento en madera (2-12 meses) y botella (15-26 meses) (tablas 14 y 15) un ligero incremento en los vinos 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, P., 2007). Este ligero aumento se mitiga a su vez, por las reacciones de polimerización que dan lugar a estructuras poco estables en solución que se pierden por precipitación (Hernández, T. et al., 2007), coincidiendo con lo observado por otros autores (Cano, M. et al., 2007).



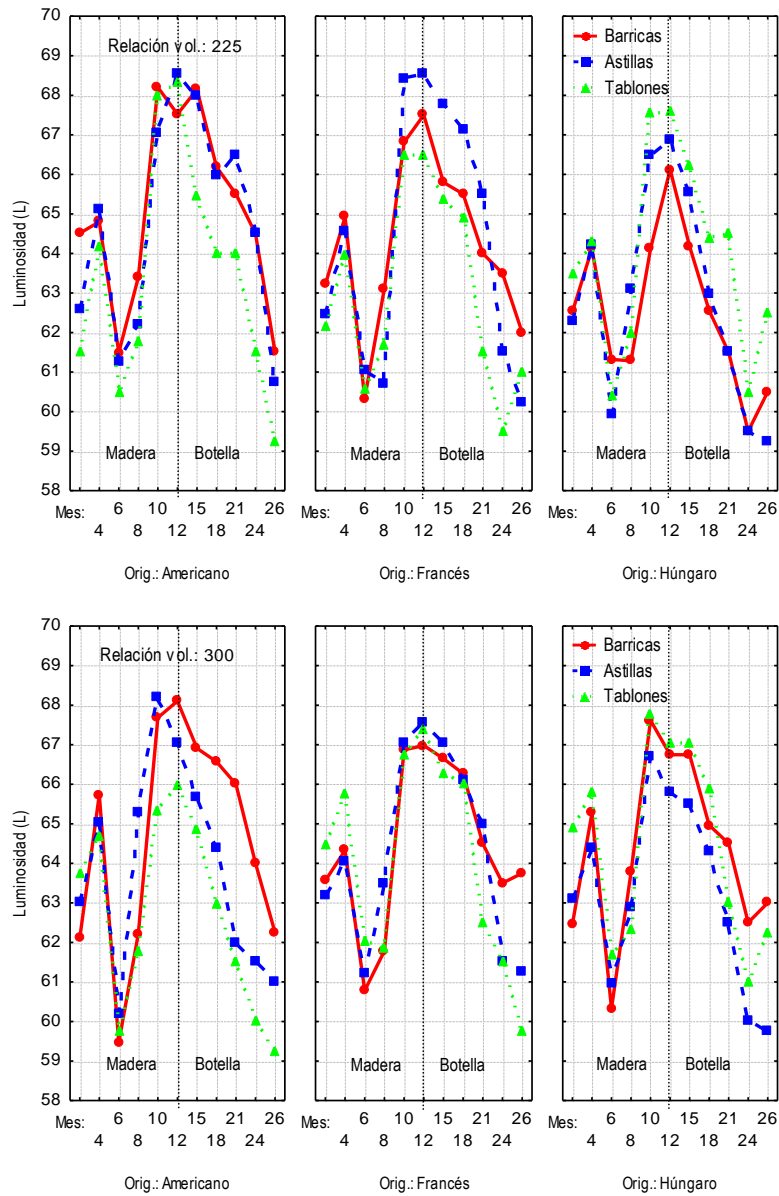
Autores como González, A. (2009) observó que los vinos elaborados al abrigo del aire presentaban una intensidad colorante estacionaria que incluso disminuía. Esto cambiaba cuando el oxígeno intervenía en la reacción de manera moderada, la intensidad colorante aumentaba netamente. Además la intensidad colorante aumenta en momentos en los que se efectúa un aireado o el oxígeno no se encuentra desplazado por la presencia de anhídrido sulfuroso. Por ese motivo el estudio de lo que ocurre en la botella (al inicio del embotellado y cuando transcurre el tiempo y disminuye progresivamente la presencia de anhídrido sulfuroso) refleja un aumento de la intensidad colorante, de lo que podría deducirse que la presencia de anhídrido sulfuroso del vino influye de manera considerable en el análisis de la intensidad colorante. Además, González, A., (2009) también ha comprobado que cuando la intensidad colorante aumenta se observa que el contenido en antocianos libres disminuye, lo que se traduce en condensaciones de estas moléculas. Estos nuevos pigmentos resultantes de la combinación de estas moléculas con otras presentes en el vino, fomentan la estabilización del color. Sin embargo, los resultados obtenidos por otros autores hacen pensar que el comportamiento de la intensidad colorante no siempre es la esperada y se ve afectada por gran cantidad de variables como el pH, presencia de anhídrido sulfuroso, alcohol, antocianos libres y pigmentados y/o presencia de oxígeno que dificultan interpretar el comportamiento de la intensidad colorante (Ribéreau-Gayon, P. et al., 1998, Del Álamo, M. et al., 2002, Fernández, B. et al., 2003b, Pérez, L. J. et al., 2003d, Cadahía, E. et al., 2004, Martínez, J., 2004., González, L.A. et al., 2006, Martínez, J. et al., 2005a y 2006b y Cadahía, E. et al., 2008, Catania, A., 2009 y Ojeda, S., 2012).

Aunque existe controversia entre autores frente al comportamiento de la intensidad colorante (IC) de los vinos durante el envejecimiento, se comprueba que dependiendo del ambiente en el que se encuentre el vino el resultado será diferente. En período oxidativo la intensidad de color disminuye o varía según los procesos que se dan en el vino, en el período de botella la intensidad colorante aumenta progresivamente hasta valores similares a los valores iniciales. Así autores como Fernández, B. et al. (2003b), Pérez, L. J. et al. (2003d), Cadahía, E. et al. (2004), Martínez, J. (2004), Catania, A. (2009), y Ojeda, S. (2012) observaron un descenso en la intensidad colorante de los vinos, mientras que autores como Ribéreau-Gayon, P. et al. (1998), Del Álamo, M. et al., (2002), González, L.A. et al. (2006), Martínez, J. et al., (2005a y 2006b) y Cadahía, E. et al. (2008), apreciaron un aumento en la intensidad colorante con el tiempo de envejecimiento, que justificaron por la formación de combinaciones antociano-tanino que presentan un color más intenso que los antocianos libres, y por procesos de polimerización de los antocianos con las catequinas en presencia de acetaldehído.

La luminosidad (L) o también definida como claridad o capacidad de reflejar la luz o el color blanco (Guzmán, M., 2010). Se observa en las gráficas 14 (a y b) al inicio del período de envejecimiento en madera, una tendencia de diente de sierra en la claridad o pérdida de intensidad en el color de los vinos, sin embargo se aprecia una pérdida de claridad o aumento de oscuridad en los vinos cuando se encuentran en período de permanencia en botella, que se explicaría como un aumento en la intensidad colorante. Ésto podría ser debido a la presencia en estos vinos de un aumento de sustancias que contribuyen a incrementar el color rojo o rojo-teja (Guzmán, M., 2010). Los vinos más claros durante el período de botella se dan, con un 100 % de significación, en aquellos que han permanecido en barricas. Siendo los más oscuros los vinos en contacto con tablonés.

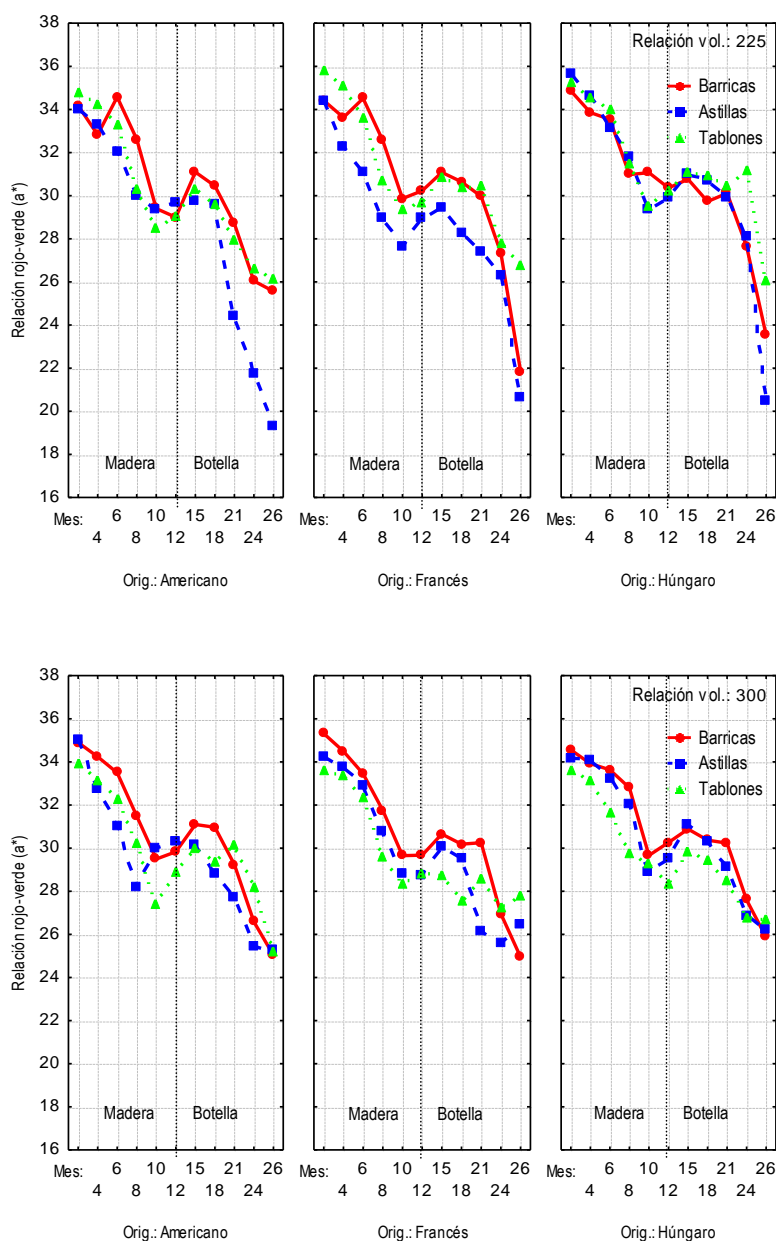
Respecto al origen de la madera el roble húngaro es el que aporta al vino mayor oscuridad en su período de botella, repitiendo una significación del 100 % en sus diferencias con respecto al vino que permaneció en contacto con roble americano y francés. Prida, A. et al. (2006) ya observaron diferencias en la composición fenólica de las maderas de roble de origen del Este de Europa, comparando 102 árboles de roble de esta madera con 56 robles americanos y 276 robles franceses. Además dedujeron que los compuestos capaces de distinguir mejor las especies de roble son los elagitaninos, siendo el eugenol, 2-feniletanol, y los aldehídos fenólicos (vanillina y siringaldehído) las sustancias que alcanzaron mayor concentración en la composición de los robles de Europa del Este.

Rodríguez, P. et al. (2011) también compararon los vinos en diferentes volúmenes (300 y 500 litros) de barricas de roble francés y encontraron que los vinos envejecidos en el volumen más pequeño con un nivel de tostado medio adquirieron mejores características cromáticas, cantidades más altas de aromas relacionados con el roble, y las puntuaciones más altas de análisis sensorial.



**Gráfica 14:** Evolución de la luminosidad (L) del vino durante la crianza en madera y botella de diferente relación volumétrica 225L (a) y 300 L (b) de distintos orígenes y sistemas de envejecimiento

La **coordenada a\***, se define como la componente que relaciona el color rojo frente al verde, es decir vinos con aumento de componente **a\*** en la escala positiva indicarían un aumento de la componente roja. Dado que se trata de un vino tinto, la escala es positiva, predominando el color rojo frente al verde, aunque se observa en las gráficas 15 (a y b) que se produce una pérdida de color rojo a medida que el vino envejece con el paso del tiempo. Se observa un descenso mayor en la componente **a\*** en vinos que han estado en contacto con astillas y más altos valores en vinos en contacto con barricas, por tanto, los valores más rojos se alcanzan en los vinos de las barricas y los tablones, perdiendo color rojo con mayor rapidez el vino en astillas.



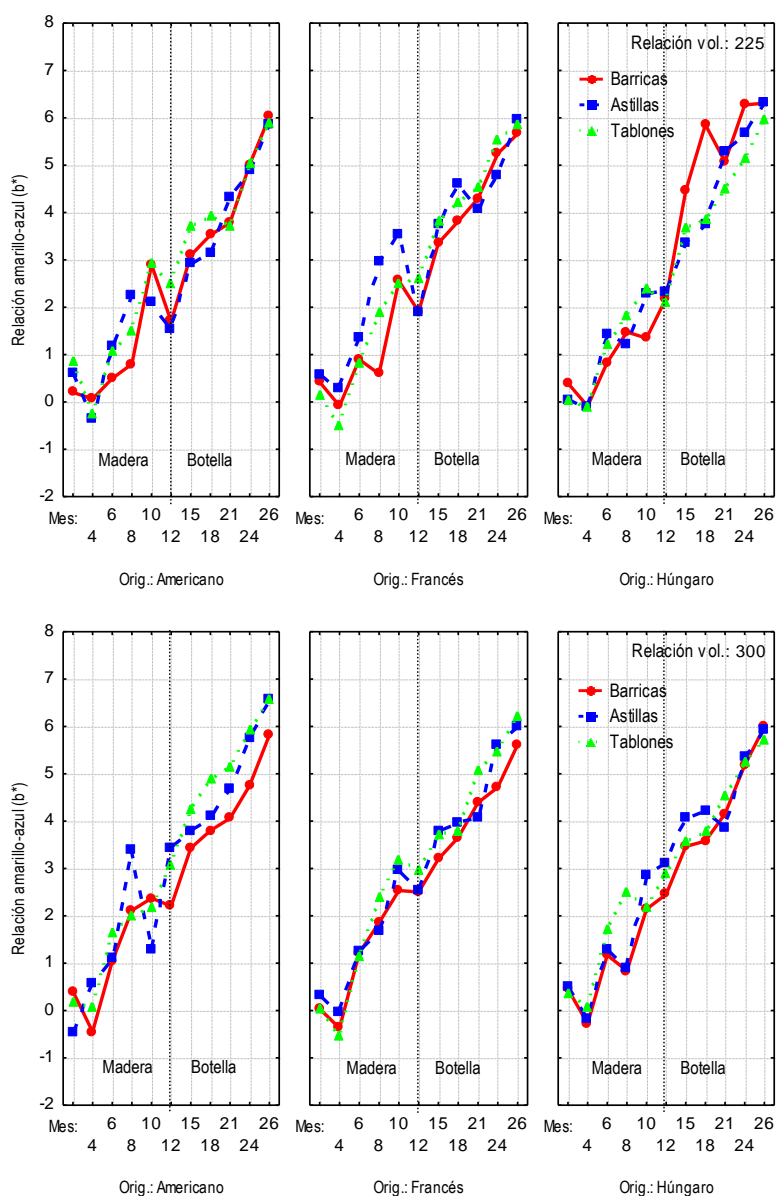
**Gráfica 15:** Evolución del color rojo frente al verde ( $a^*$ ) del vino durante la crianza en madera y botella de diferente relación volumétrica 225L (a) y 300 L (b) de distintos orígenes y sistemas de envejecimiento

Se vuelve a repetir la excepcionalidad en el vino en contacto con roble húngaro, que mantiene los valores más elevados de componente roja ( $a^*$ ). Este dato se repite, permitiendo relacionar la componente roja de este dato con el porcentaje de rojo medido a una absorbancia de 520 nm, así como con la intensidad de color y con la cantidad de antocianos totales como ya lo hicieran otros autores, como Pérez, S. et al. (2003a), Casassa, F. et al. (2006a), Guzmán, M. (2010), u Ojeda, S. (2012), donde ya observaran también la peculiaridad de los vinos envejecidos con roble húngaro que presentaban diferencias respecto a otros orígenes de las maderas estudiadas (americano, francés o español) para los parámetros CIElab.

La **coordenada  $b^*$**  que indica la componente que relaciona el color amarillo frente al azul, es decir vinos con aumento de componente  $b^*$  en la escala positiva indicarían un aumento de la componente amarilla. El color del vino de la gama cromática para esta componente inicia el envejecimiento con valores en equilibrio entre el amarillo y azul, puesto que se encuentran en torno al valor 0, pero a medida que evoluciona en el tiempo aumenta la componente amarilla y se pierde color azul (gráficas 16 a y b).

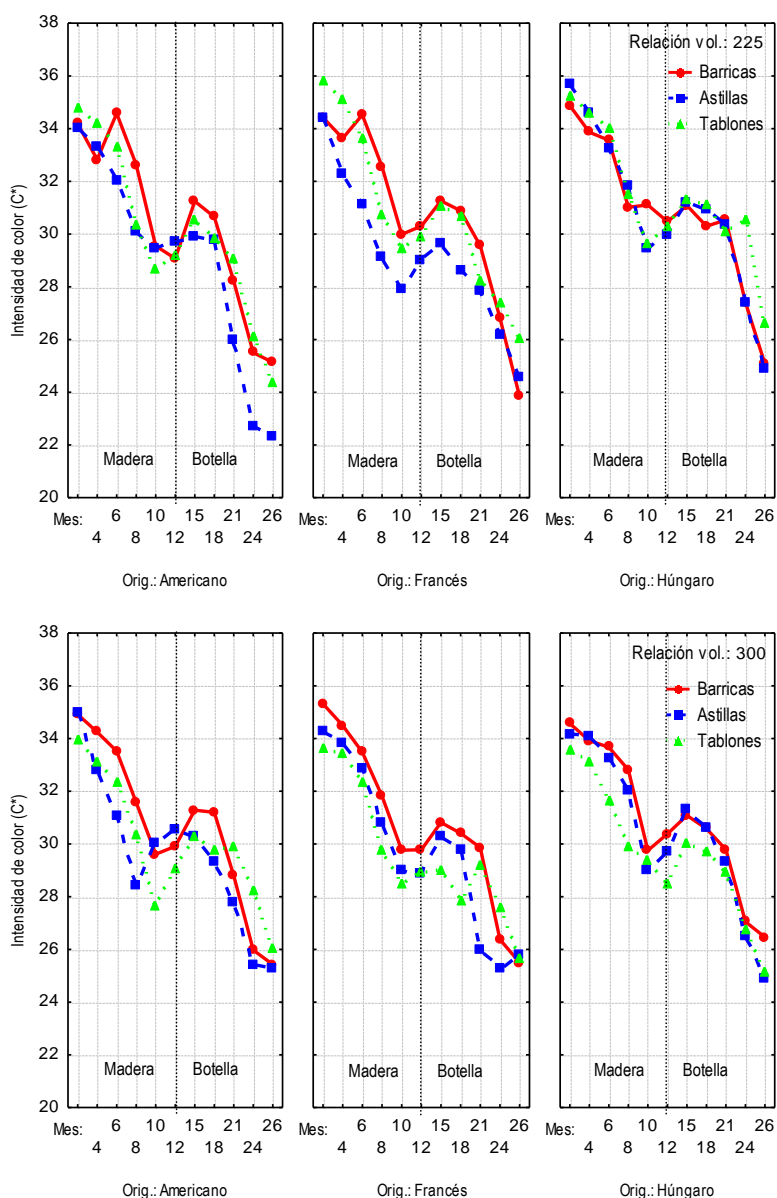
Se observa por tanto, un aumento de la coordenada  $b^*$  a lo largo del tiempo, siendo ese aumento estadísticamente significativo para los vinos que han permanecido en tablonos y para vinos que han estado en contacto con madera de origen húngaro durante su período de estancia en botella (tabla 15).

Destaca el vino en contacto con roble húngaro, ya que durante el período de madera presenta los valores más bajos de coordenada  $b^*$ , sin embargo en el período de botella representa el valor más elevado. Estos valores más elevados de la componente amarilla y mayor pérdida de la componente azules en vinos en contacto con tablonos cuando el vino permanece en botella, indicarían una evolución más acelerada de las componentes del color del vino o la formación de compuestos más estables medibles a longitudes de onda más bajas.



**Gráfica 16:** Evolución del color amarillo frente al azul ( $b^*$ ) del vino durante la crianza en madera y botella de diferente relación volumétrica 225L (a) y 300 L (b) de distintos orígenes y sistemas de envejecimiento

El parámetro del **croma** o **intensidad de color  $C^*$** , da una idea de la contribución de  $a^*$  y  $b^*$  al color total del vino. Por ello valores más elevados de  $C^*$  presentarían una mayor saturación a la vista de los vinos, que indicarían la presencia de más rojos además representa valores en toda la escala de  $a^*$  y  $b^*$  (Iñiguez, M. et al., 1995). La evolución a lo largo de la crianza del vino es por tanto descendente como ya lo hiciera la componente  $a^*$  o el valor del porcentaje de color rojo (%A520), así como la intensidad en color. Diversos autores han comprobado en los vinos controversias, dado que han experimentado aumentos en el valor del croma (Iñiguez, M. et al., 1995, Guzmán, M., 2010 y Ojeda, S., 2012), o disminución en su valor (Noriega, M. J. et al., 2003) a lo largo del envejecimiento de los vinos en barricas de roble. Destaca en los vinos estudiados que pequeñas aportaciones de oxígeno fomentaría la recuperación del croma, dado que el vino cuando entra en madera o botella mitiga temporalmente la pérdida de croma (gráficas 17 a y b).



**Gráfica 17:** Evolución del cromatismo o intensidad de color ( $C^*$ ) del vino durante la crianza en madera y botella de diferente relación volumétrica 225L (a) y 300 L (b) de distintos orígenes y sistemas de envejecimiento

El vino que ha permanecido en contacto con astillas presentan los valores más bajos de cromatismo a lo largo del proceso de envejecimiento, lo que cabe pensar que presentan una menor intensidad en color tanto en recipientes de 225 L como de 300 L.

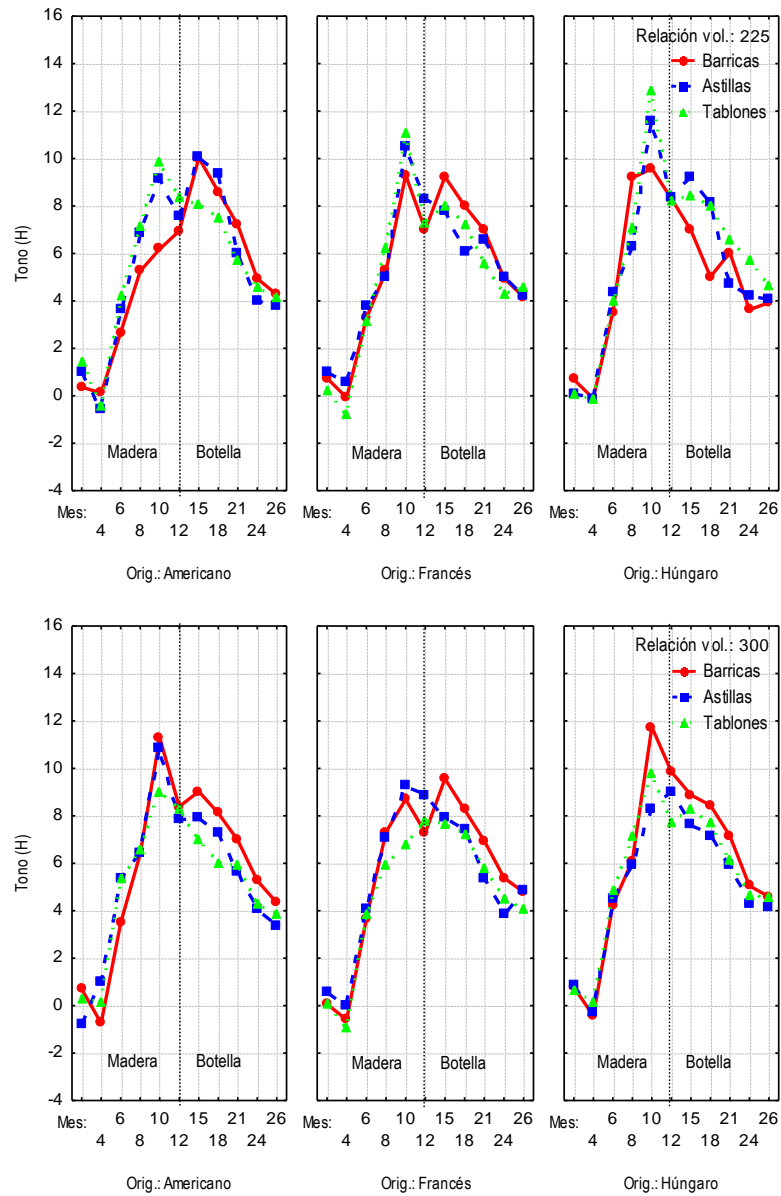
El **tono (H)**, se debe a los pigmentos amarillos que absorbe la luz a 420 nm y longitudes cercanas. Se expresa en ángulo y a medida que el vino envejece se produce un aumento del valor del tono. Efectivamente se observa un aumento del valor a lo largo del proceso de envejecimiento en el primer período (2-12 meses), aunque en el segundo período (botella) se produce un descenso del valor el tono (14-26 meses); como puede apreciarse en la gráficas 18 (a y b).

Este aumento de la coordenada H, que vendría determinada por el aumento de pigmentos amarillos estaría relacionada con la formación de antocianos polimerizados (Casassa, F. et al., 2006a; Gordillo, B. et al 2012) o por el aumento de los polifenoles totales aportados al vino por la madera de roble (Martínez, J., 1998 y 2004; Martínez, J. et al., 2005a y 2006b) durante el contacto del vino con la madera y esa segunda etapa de pérdida de coordenada H durante el período de botella quedaría definida como la precipitación de la materia colorante y los fenoles polimerizados en el vino (Pomar, M. et al., 2001).

Siguiendo el criterio de formación de nuevos pigmentos aportados por la madera, parece interesante determinar las diferencias encontradas en los vinos en este parámetro según el origen de la madera en el que han permanecido. Si se observa la tabla 14, se aprecia una diferencia significativa de los vinos que han permanecido en madera de roble húngaro, que alcanza valores más elevados de matiz, siendo el vino de roble americano el que presenta el valor más bajo. Este dato se centra en los vinos cuando han estado en contacto con la madera, dado que las diferencias significativas en la botella desaparecen. La significación en el período reductor la marca la barrica, que alcanza los valores más elevados. Con estos resultados podría decirse que, aquellos vinos que en la primera fase de envejecimiento alcanzan valores muy elevados en H (compuestos polimerizados o aumento de copigmentos amarillos) en la segunda fase de envejecimiento pierden más rápidamente estos compuestos, porque al continuar con la polimerización alcanzan un peso tal que acaban precipitando y perdiéndose en el vino (tabla 15).

Por tanto, el valor de coordenada H encontrado en este estudio determina que el roble húngaro es el origen de la madera en el que más evolución sufren los vinos, con las características de envejecimiento empleadas en este trabajo, y la barrica es el recipiente que mantiene a los vinos más jóvenes en relación a su color.



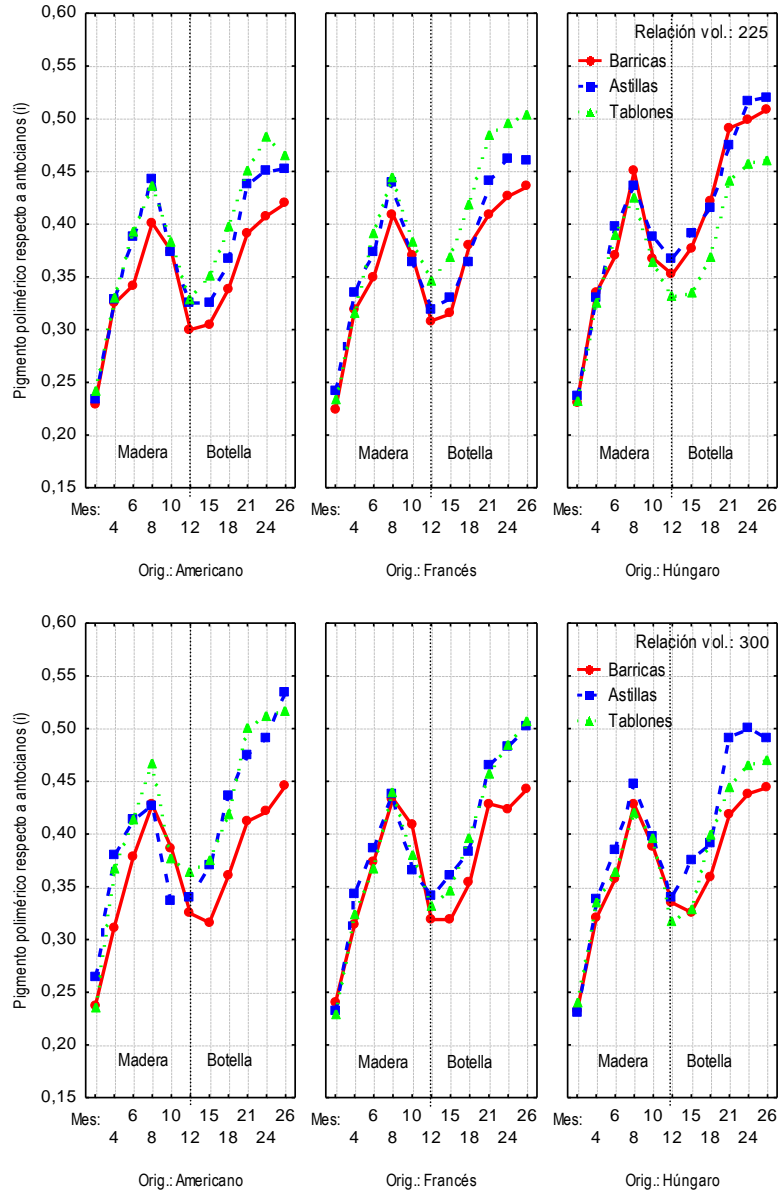


**Gráfica 18:** Evolución del tono (H) del vino durante la crianza en madera y botella de diferente relación volumétrica 225L (a) y 300 L (b) de distintos orígenes y sistemas de envejecimiento

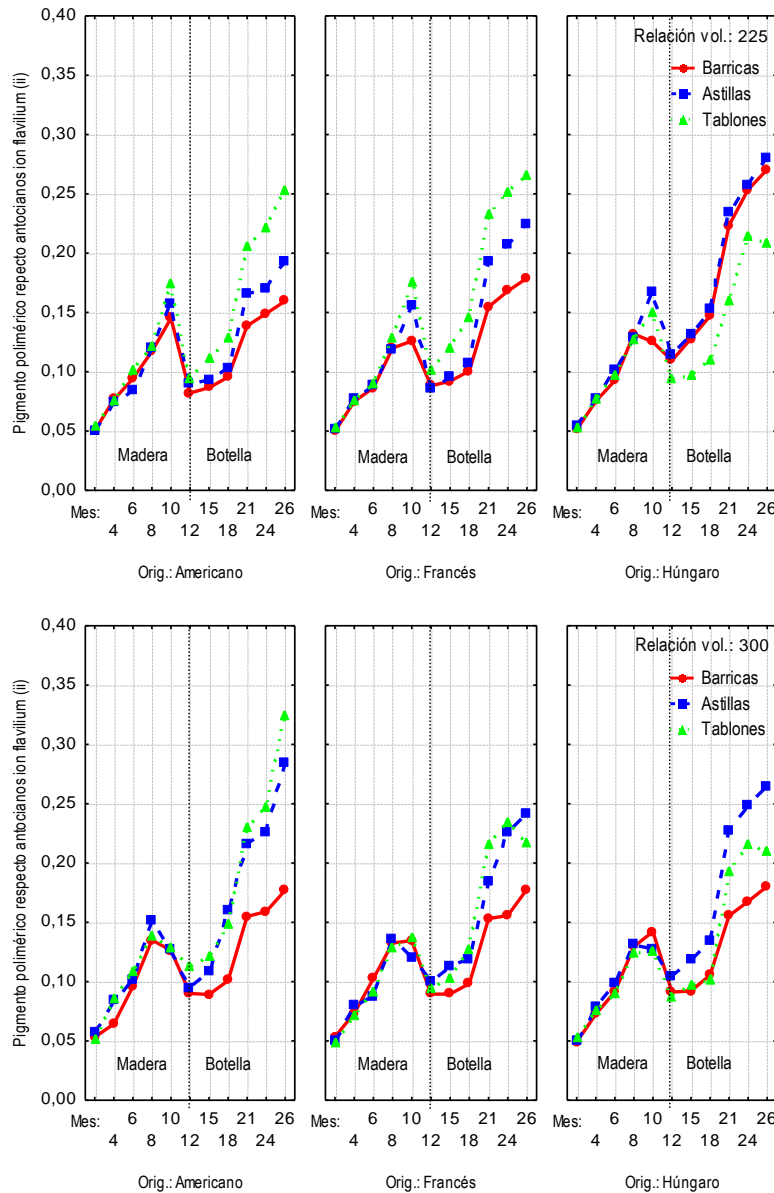
### V.1.4.3. Edad química

Los **parámetros de edad química** (i, ii,  $\alpha$ ,  $\alpha\alpha$ ) dan una idea de las reacciones que sufren los antocianos del vino implicándose en la formación de pigmentos. Destaca la menor relación de los pigmentos poliméricos respecto a los antocianos (i) presentes en los vinos envejecidos en barricas seguidos de los tratados con astillas y finalmente con tablones, principalmente en su fase final de envejecimiento en botella (gráficas 19 a y b), excepto para los vinos de las barricas de roble húngaro de tamaño 225 L. Este resultado se ha obtenido tanto con la medida directa en el vino (pigmento polimérico respecto a los antocianos del vino i), como con la medida aplicada sobre la muestra de vino a la que se ha relacionado con los antocianos ión flavilium (ii). En ambos casos, la relación del pigmento polimérico frente a los

antocianos es más importante en los vinos en contacto con tablonés (excepto para el roble húngaro de 225L). Se ha observado que al embotellar el vino se produce un aumento del contenido de pigmento polimérico durante el proceso de envejecimiento en botella (12-26 meses), como puede observarse en las gráficas 20 (a y b).



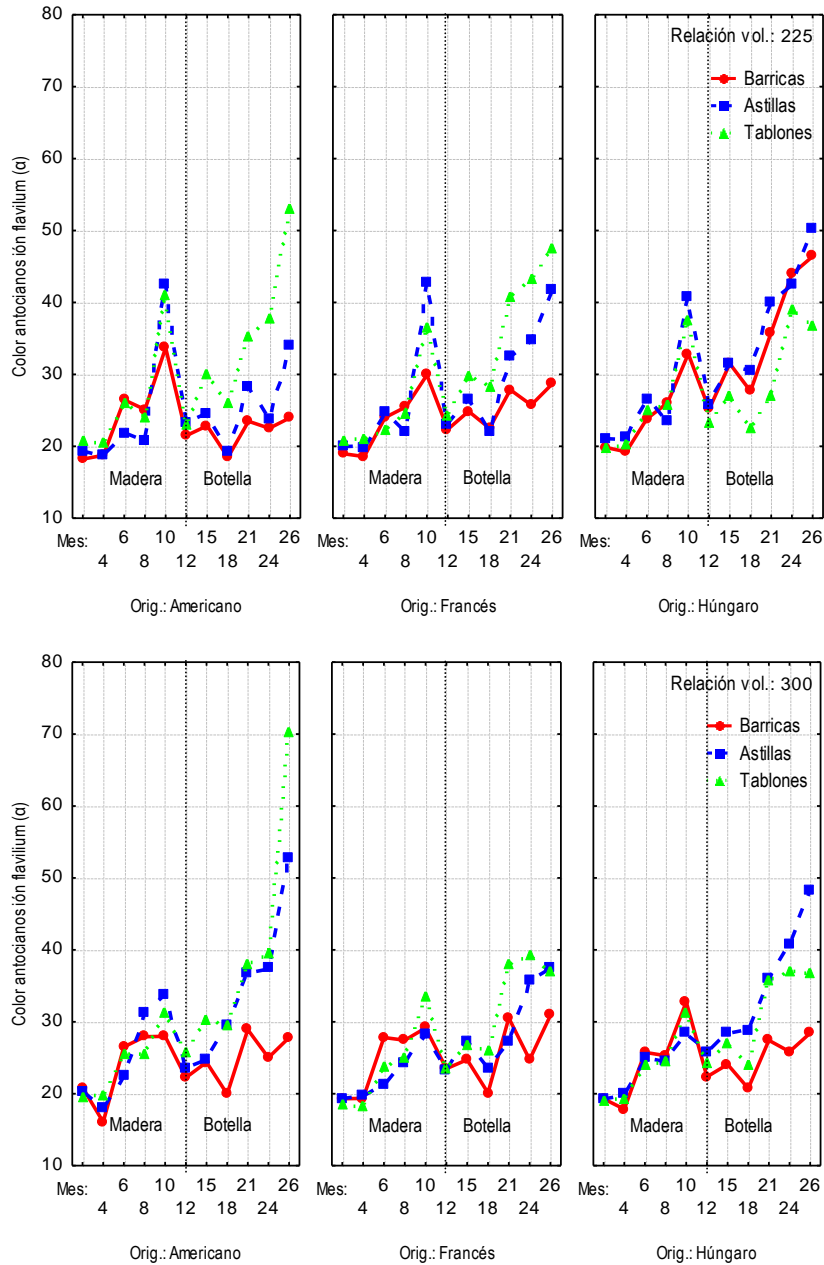
**Gráfica 19:** Evolución del pigmento polimérico respecto a los antocianos (i) del vino durante la crianza en madera y botella de diferente relación volumétrica 225L (a) y 300 L (b) de distintos orígenes y sistemas de envejecimiento



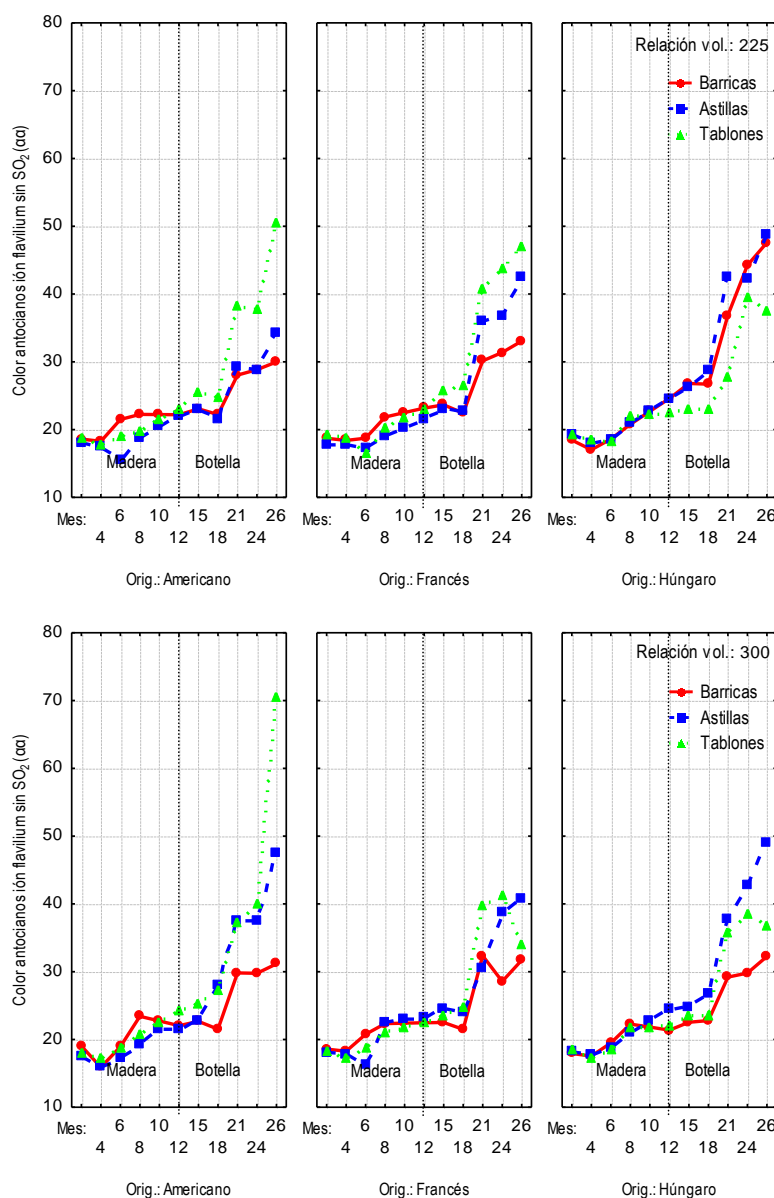
**Gráfica 20:** Evolución del pigmento polimérico respecto a los antocianos en forma de ión flavilium (ii) del vino durante la crianza en madera y botella de diferente relación volumétrica 225L (a) y 300 L (b) de distintos orígenes y sistemas de envejecimiento

Al igual que ocurriera en los parámetros i e ii, el color debido a los antocianos en forma de ión flavilium ( $\alpha$ ) también aumenta en los vinos, aunque en menor proporción. La cantidad de color debido a los antocianos en forma flavilium ( $\alpha$ ) en vinos que han permanecido en contacto con tablones alcanzan los valores más elevados, seguidos de los tratados con las astillas. Los vinos de las barricas son los que menor valor presentan, es decir tienen menor color debido a antocianos libres. Es por tanto, el vino en contacto con tablones, el que experimenta la más rápida formación de pigmentos poliméricos, debido al mayor número de reacciones de polimerización que han sufrido los antocianos (excepto para los vinos envejecidos en roble húngaro), aunque a su vez presentan los valores más elevados de color debido a los antocianos en forma flavilium medidos directamente ( $\alpha$ ) o una vez suprimido el efecto del  $\text{SO}_2$  ( $\alpha\alpha$ ) (gráficas 22 (a y b) y 24 (a y b)). Esto explicaría en general, cómo los antocianos del vino disminuyen su estado libre para

formar compuestos más estables, formando pigmentos poliméricos que contribuirían a incrementar la intensidad colorante y la componente roja (%A520), por su relación directa entre el análisis de estas dos variables, siendo la componente roja en un vino tinto el parámetro que más contribuye a aumentar el valor de la intensidad colorante.



**Gráfica 21:** Evolución del color debido a los antocianos en forma de ión flavilium (a) del vino durante la crianza en madera y botella de diferente relación volumétrica 225L (a) y 300 L (b) de distintos orígenes y sistemas de envejecimiento



**Gráfica 22:** Evolución del color debido a los antocianos en forma de ión flavilium tras suprimir el efecto del sulfuroso ( $\alpha\alpha$ ) del vino durante la crianza en madera y botella de diferente relación volumétrica 225L (a) y 300 L (b) de distintos orígenes y sistemas de envejecimiento

### V.1.5. Antocianos monómeros y acilados en el vino

La concentración de antocianos monómeros y acilados estudiados se han identificado individualmente mediante su aislamiento del resto de los componentes del vino, y posteriormente, cuantificados por cromatografía de líquidos previa identificación individualizada de cada compuesto.

Dependiendo de las condiciones de almacenamiento (tamaño y tipo de recipiente), varias reacciones químicas pueden influir en la composición de antocianos del vino. Diferentes efectos tienen en el vino tras la crianza en botella. Estos efectos como se ha comprobado en apartados anteriores influyen en el

aumento de la estabilidad del color, la clarificación espontánea y componentes fenólicos más complejos. La complejidad de los componentes fenólicos se incrementa debido a la condensación y polimerización entre ciertos compuestos presentes en el vino, cierto número es transferido al vino durante el período de contacto con roble. Durante el almacenamiento, los compuestos antocianos monoméricos, (Df-3-Gl, Cn-3-Gl, Pt-3-Gl, Pn-3-Gl y Mv-3-Gl) disminuyen y polimerizan hacia pigmentos oligoméricos o poliméricos más estables (Monagas, M. et al.; 2006a) hasta que se acercan al equilibrio con sus componentes fenólicos correspondientes, lo que podría ser responsable como se viera en el apartado anterior de la pérdida de componente de color rojo y azul del vino (tablas 14 y 15). Pero también se ven implicados en reacciones de degradación (Cano, M. et al., 2006) que inevitablemente hace que la pérdida de los antocianos y por tanto del color sea irreversible.

El grupo de antocianos monoglucosilados aunque disminuyen en concentración, en parte esta pérdida se ve mitigada como resultado de las reacciones de condensación con las proantocianidinas (Pomar, M. et al., 2001). Tales como catequinas, epicatequinas y también por uniones con el ácido p-cumárico, ácido acético, ácido pirúvico y ácido caféico entre otros, formando lo que se define como antocianos acilados (Df-3-Gl, Cn-3-Gl, Pt-3-Gl, Pn-3-Gl y Mv-3-Gl formando antocianos cumarilados, acetilados, piruvatos y caferilados). A lo largo del proceso de envejecimiento, tanto en contacto con madera como en botella, se observa un descenso o pérdida de los antocianos monómeros así como de sus derivados acilados (Gráficas 23, 24 y 25 (a y b)). Destaca que la pérdida de estos compuestos en el vino se mitiga durante el primer período de crianza (madera) y se produce una pérdida más rápida cuando el vino se encuentra en su segundo período de crianza (botella), coincidiendo este resultado con lo obtenido por otros autores (Monagas, M. et al., 2005a; Cano, M. et al., 2007; Gallego, L. 2013) (tablas 16 y 17). Este comportamiento podría explicarse debido a una menor pérdida causada por las uniones que se dan entre los antocianos y los taninos (Del Álamo, M. et al., 2004b; Cano, M. et al., 2006, 2007). Además también explicaría por qué los tratamientos con barrica son los que han tenido mayor nivel de antocianos monómeros, lo que se debería a que el alto nivel de copigmentos protegió los polifenoles e inhibió la polimerización, ya que muchos de los flavonoides actuaron como cofactores (Boulton, R., 2001).

Cuando se observa la influencia del tamaño del recipiente, las mayores diferencias se alcanzan de manera significativa, sobre los compuesto acilados destacando el Vit A, Cn-3-Gl-Ac, y el Pt-3-Gl-Ac. Una vez finalizado el período de contacto con madera estas diferencias desaparecen (tabla 16 y 17).

En relación al sistema de envejecimiento, se observa una clara diferenciación entre los vinos envejecidos en barricas frente a los sistemas alternativos, obteniéndose los valores más altos para los vinos que han estado introducidos en barricas, en general para todos los antocianos analizados por métodos cromatográficos. Se puede concluir que la barrica fomenta la permanencia de los antocianos en estado libre o copigmentado y retrasaría la polimerización de los mismos. Esta cicloadición y condensación directa que es debida a la unión de antocianos con taninos mediada por el acetaldehído se ve favorecida por la presencia de acetaldehído, por tanto un aporte de oxígeno a través de la madera favorecería esta reacción, de ahí que el vino en contacto con barricas mantengan valores más elevados de antocianos monoglucosilados y sus acilaciones. Aunque diversas experiencias realizadas por otros autores no han obtenido diferencias en el nivel de antocianos entre el vino que se encontraba en barrica y el que se

encontraba en depósito (Pontallier, P. et al., 1982; Peyron, E. et al., 1994; Martínez, I. et al., 2000; Vivas, N. et al., 2000; Pérez, L. J. et al., 2003a; Martínez, J. et al., 2005b; De Beer, D. et al., 2008).

**Tabla 16:** Valores medios de los antocianos monómeros y acilados de los vinos envejecidos en un año en relación volumétrica (225-300), sistemas (astillas, tablonos y barricas) y origen de la madera (americano, francés y húngaro). Resultados de la ANOVA

	Relación volumen			Sistema				Origen			225 L
	225 L	300 L	p level	Astillas	Tablonos	Barricas	p level	Americano	Francés	Húngaro	
Df-3-Gl <sup>2</sup>	35,48a	35,37a	0,789	34,59a	33,90a	37,80b	<b>0,000</b>	35,80a	35,20a	35,28a	0,441
Cn-3-Gl <sup>2</sup>	3,67a	3,66a	0,710	3,57a	3,53a	3,89b	<b>0,000</b>	3,70a	3,64a	3,65a	0,307
Pt-3-Gl <sup>2</sup>	34,46a	34,25a	0,615	33,52a	32,80a	36,75b	<b>0,000</b>	34,73a	34,14a	34,21a	0,465
Pn-3-Gl <sup>2</sup>	10,28a	10,20a	0,458	9,98a	9,79a	10,95b	<b>0,000</b>	10,32a	10,16a	10,24a	0,498
Mv-3-Gl <sup>2</sup>	128,10a	127,01a	0,450	124,62a	122,22a	135,82b	<b>0,000</b>	128,40a	126,91a	127,35a	0,684
Vit A <sup>2</sup>	1,11b	1,05a	<b>0,001</b>	1,02a	1,05a	1,17b	<b>0,000</b>	1,07a	1,06a	1,11a	0,079
Df-3-Gl-Ac <sup>2</sup>	2,41a	2,42a	0,906	2,35a	2,35a	2,55b	<b>0,000</b>	2,43a	2,41a	2,42a	0,894
Cn-3-Gl-Ac <sup>2</sup>	1,32a	1,40b	<b>0,010</b>	1,42a	1,36ab	1,30a	<b>0,010</b>	1,36a	1,34a	1,38a	0,518
Pt-3-Gl-Ac <sup>2</sup>	1,21a	1,27b	<b>0,001</b>	1,26a	1,23a	1,24a	0,463	1,26a	1,23a	1,24a	0,484
Pn-3-Gl-Ac <sup>2</sup>	2,87a	2,81a	0,303	2,83a	2,70a	2,98b	<b>0,001</b>	2,91a	2,79a	2,82a	0,228
Df-3-Gl-Cm <sup>2</sup>	5,25a	5,28a	0,671	5,18b	4,96a	5,65c	<b>0,000</b>	5,32a	5,26a	5,21a	0,500
Mv-3-Gl-Ac <sup>2</sup>	6,96a	6,88a	0,469	6,69a	6,61a	7,45b	<b>0,000</b>	7,02a	6,83a	6,91a	0,322
Mv-3-Gl-Cf <sup>2</sup>	0,25a	0,26a	0,724	0,25a	0,25a	0,26a	0,376	0,26a	0,25a	0,25a	0,812
Cn-3-Gl-Cm <sup>2</sup>	0,82a	0,81a	0,532	0,82b	0,77a	0,87c	<b>0,000</b>	0,83a	0,81a	0,81a	0,590
Pt-3-Gl-Cm <sup>2</sup>	0,81a	0,81a	0,556	0,79a	0,76a	0,88b	<b>0,000</b>	0,82a	0,80a	0,81a	0,424
Pn-3-Gl-Cm <sup>2</sup>	3,32a	3,30a	0,622	3,20a	3,12a	3,60b	<b>0,000</b>	3,36a	3,26a	3,30a	0,176
Mv-3-Gl-Cm <sup>2</sup>	15,56a	15,46a	0,647	15,10a	14,81a	16,61b	<b>0,000</b>	15,56a	15,44a	15,53a	0,882
Ant-3--Gl-Ac <sup>2</sup>	14,76a	14,77a	0,935	14,56a	14,24a	15,49b	<b>0,000</b>	15,00a	14,58a	14,72a	0,158
Ant-3-Gl-Cm <sup>2</sup>	25,74a	25,42a	0,411	25,21b	24,08a	27,44c	<b>0,000</b>	25,83a	25,61a	25,29a	0,535
Antocia. tot. <sup>2</sup>	254,11a	252,40a	0,546	247,60a	242,34a	269,82b	<b>0,000</b>	255,37a	251,79a	252,61a	0,558

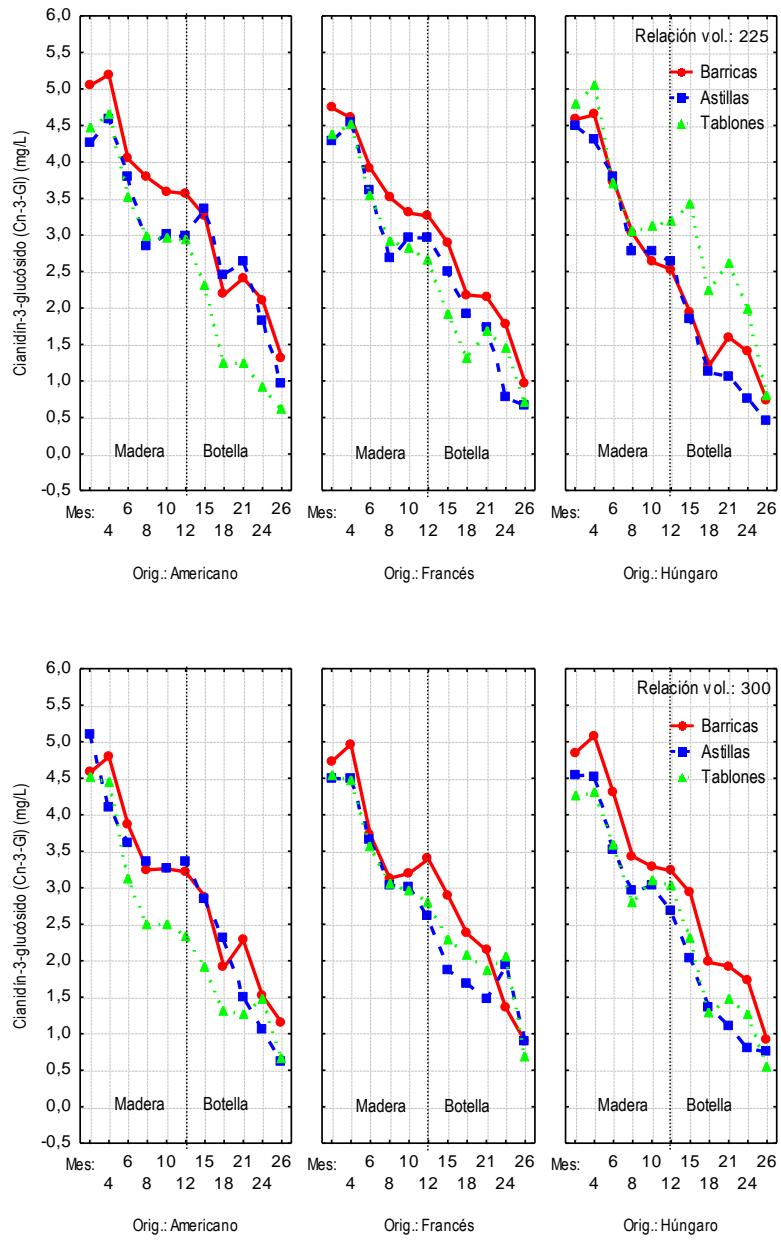
Para cada factor, letras distintas en filas indican diferencias estadísticamente significativas. En negrita se muestra el p level con significación > 95 % (p<0,05) <sup>1</sup> expresado en g/L, <sup>2</sup> expresado en mg/L, <sup>3</sup> expresado en % (v/v)

**Tabla 17:** Valores medios de los antocianos monómeros y acilados de los vinos envejecidos en botella (15-26 meses) en relación volumétrica (225-300), sistemas (astillas, tablonos y barricas) y origen de la madera (americano, francés y húngaro). Resultados de la ANOVA

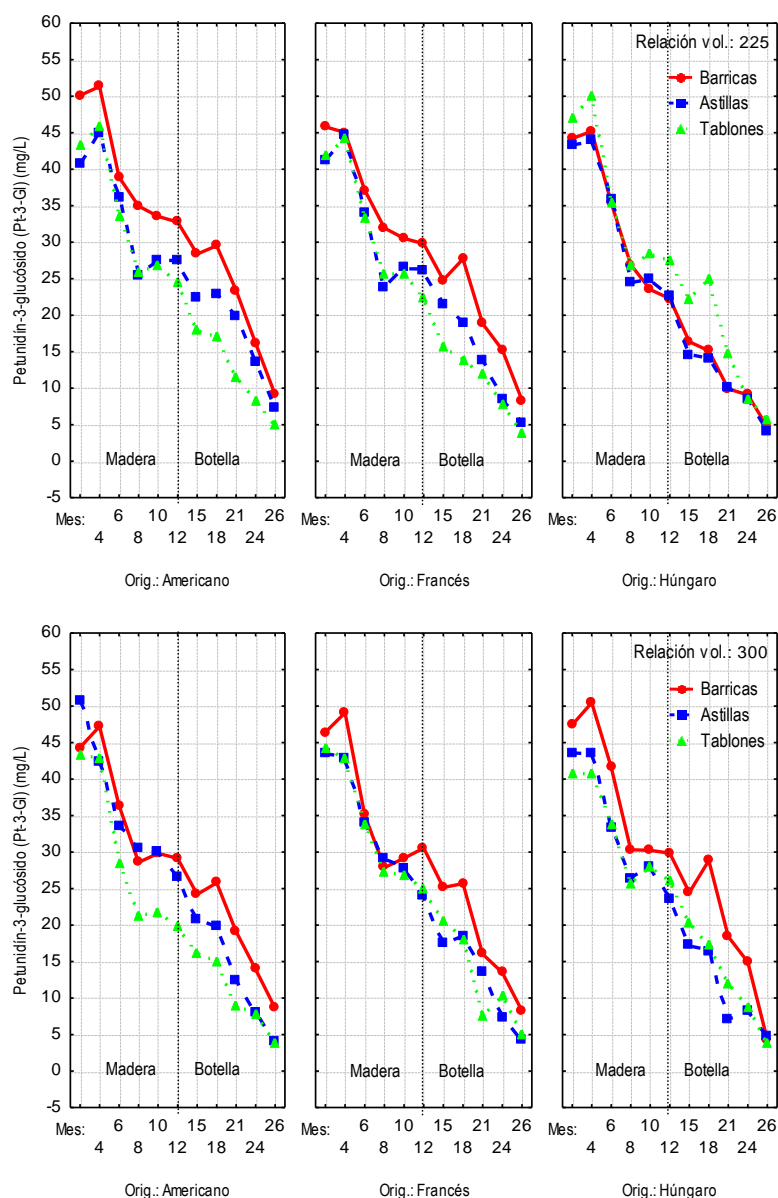
	Relación volumen			Sistema				Origen			225 L
	225 L	300 L	p level	Astillas	Tablonos	Barricas	p level	Americano	Francés	Húngaro	
Df-3-Gl <sup>2</sup>	14,80a	14,75a	0,910	13,22a	12,30a	18,81b	<b>0,000</b>	16,30c	15,09b	12,94a	<b>0,000</b>
Cn-3-Gl <sup>2</sup>	1,70a	1,64a	0,241	1,54a	1,56a	1,90b	<b>0,000</b>	1,78b	1,70b	1,52a	<b>0,001</b>
Pt-3-Gl <sup>2</sup>	14,45a	13,92a	0,329	12,85a	12,12a	17,60b	<b>0,000</b>	15,36b	14,23ab	12,97a	<b>0,002</b>
Pn-3-Gl <sup>2</sup>	4,58a	4,28a	0,077	4,04b	3,52a	5,73c	<b>0,000</b>	4,64b	4,58b	4,06a	<b>0,012</b>
Mv-3-Gl <sup>2</sup>	50,75a	49,94a	0,624	45,42a	42,84a	62,78b	<b>0,000</b>	54,24b	51,60b	45,20a	<b>0,000</b>
Vit A <sup>2</sup>	1,21a	1,19a	0,750	1,12a	1,14a	1,33b	<b>0,000</b>	1,13a	1,16a	1,31b	<b>0,003</b>
Df-3-Gl-Ac <sup>2</sup>	1,32a	1,37a	0,427	1,38b	1,22a	1,45b	<b>0,007</b>	1,35a	1,32a	1,38a	0,755
Cn-3-Gl-Ac <sup>2</sup>	1,26a	1,34a	0,245	1,30a	1,36a	1,25a	0,452	1,22a	1,22a	1,47b	<b>0,008</b>
Pt-3-Gl-Ac <sup>2</sup>	1,10a	1,20a	0,063	1,10a	1,16a	1,19a	0,353	1,11a	1,12a	1,22a	0,221
Pn-3-Gl-Ac <sup>2</sup>	0,97a	0,91a	0,397	0,85a	0,95a	1,02a	0,154	0,99a	0,90a	0,93a	0,587
Df-3-Gl-Cm <sup>2</sup>	2,21a	2,20a	0,912	1,94a	1,90a	2,78b	<b>0,000</b>	2,37b	2,24b	2,01a	<b>0,003</b>
Mv-3-Gl-Ac <sup>2</sup>	2,24a	2,25a	0,849	2,03a	1,91a	2,79b	<b>0,000</b>	2,41b	2,24ab	2,08a	<b>0,003</b>
Mv-3-Gl-Cf <sup>2</sup>	0,29a	0,27a	0,365	0,25a	0,28a	0,32b	<b>0,003</b>	0,26a	0,30a	0,28a	0,116
Cn-3-Gl-Cm <sup>2</sup>	0,60a	0,55a	0,068	0,56a	0,54a	0,62b	<b>0,030</b>	0,57a	0,58a	0,57a	0,892
Pt-3-Gl-Cm <sup>2</sup>	0,77a	0,79a	0,815	0,77a	0,73a	0,84a	0,282	0,83a	0,79a	0,73a	0,389
Pn-3-Gl-Cm <sup>2</sup>	0,93a	0,97a	0,284	0,80a	0,81a	1,23b	<b>0,000</b>	1,01a	0,91a	0,93a	0,086
Mv-3-Gl-Cm <sup>2</sup>	4,28a	4,13a	0,422	3,58a	3,51a	5,53b	<b>0,000</b>	4,69b	4,18a	3,75a	<b>0,000</b>
Ant-3--Gl-Ac <sup>2</sup>	6,74a	7,09a	0,073	6,54a	6,54a	7,66b	<b>0,000</b>	6,86a	6,81a	7,07a	0,489
Ant-3-Gl-Cm <sup>2</sup>	8,98a	8,92a	0,870	7,81a	7,59a	11,45b	<b>0,000</b>	9,70b	8,92ab	8,23a	<b>0,015</b>
Antocia. tot. <sup>2</sup>	105,35a	103,82a	0,659	94,36a	89,93a	129,45b	<b>0,000</b>	111,85b	106,23b	95,67a	<b>0,001</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) <sup>1</sup> expresado en g/L, <sup>2</sup> expresado en mg/L, <sup>3</sup> expresado en % (v/v)





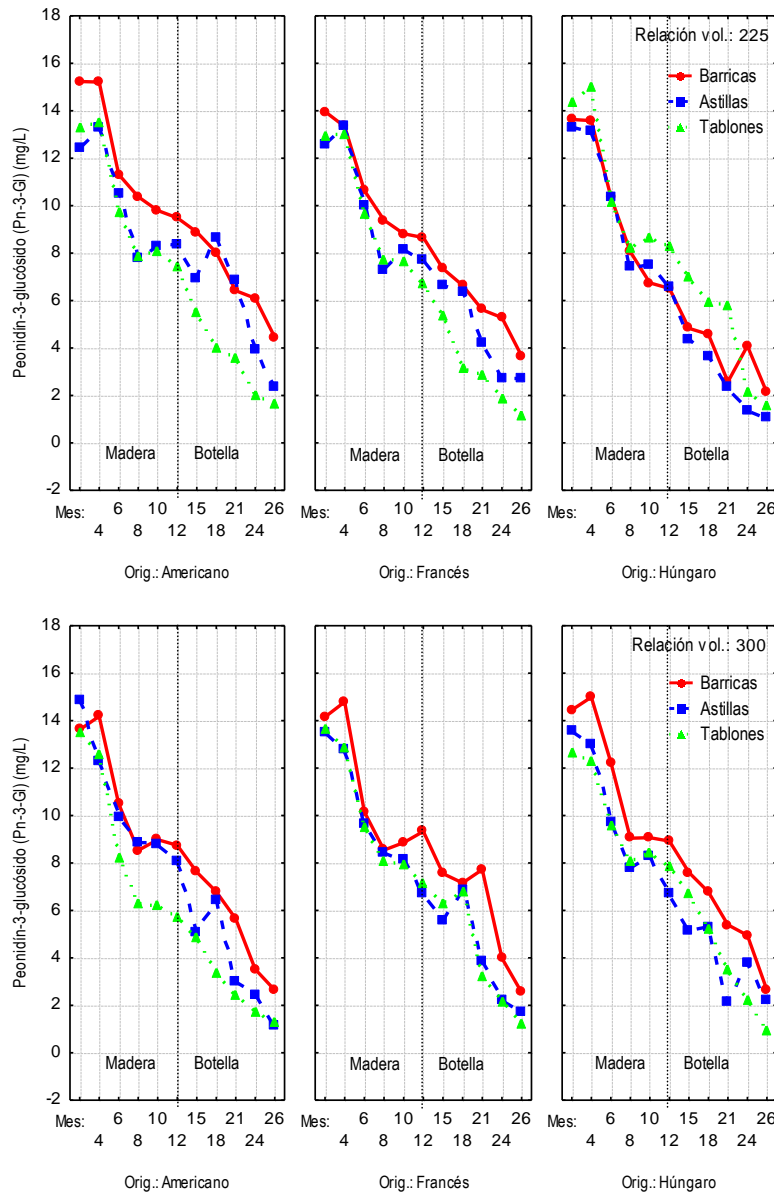
**Gráfica 23:** Evolución del Cianidín-3-glucósido (Cn-3-Gl) del vino durante la crianza en madera y botella de diferente relación volumétrica 225L (a) y 300 L (b) de distintos orígenes y sistemas de envejecimiento



**Gráfica 24:** Evolución del Petunidin-3-glucósido (Pt-3-Gl) del vino durante la crianza en madera y botella de diferente relación volumétrica 225L (a) y 300 L (b) de distintos orígenes y sistemas de envejecimiento

Sin embargo, se produce un comportamiento diferenciador, aunque no significativo, para el vino que ha permanecido en contacto con roble húngaro de 225 L de tamaño, donde la barrica no se comporta como sistema en el que menos antocianos se pierden, y son los vinos en contacto con tablones los que mantienen concentraciones más elevadas de estos compuestos. Se podría definir como un comportamiento puntual, ya que como se observa en las tablas 16 y 17, ni el tamaño del recipiente, ni el origen de la madera se han considerado factores diferenciadores de manera significativa, aunque sería interesante encontrar una explicación a esta excepcionalidad (donde el sistema no presenta importantes diferencias entre los vinos en contacto con barricas y el empleo de sistemas alternativos para la relación de tamaño de 225 L). Este comportamiento excepcional podría definir una característica singular de la madera de roble húngaro (*Quercus. petraea*). Podría decirse que cuando las aportaciones de madera al

vino son elevadas (relación/volumen: 225 L), los tablonos permiten mantener mayor concentración de antocianos totales del vino. El comportamiento del roble húngaro hace este origen diferenciador también para parámetros como son los antocianos monómeros y acilados.

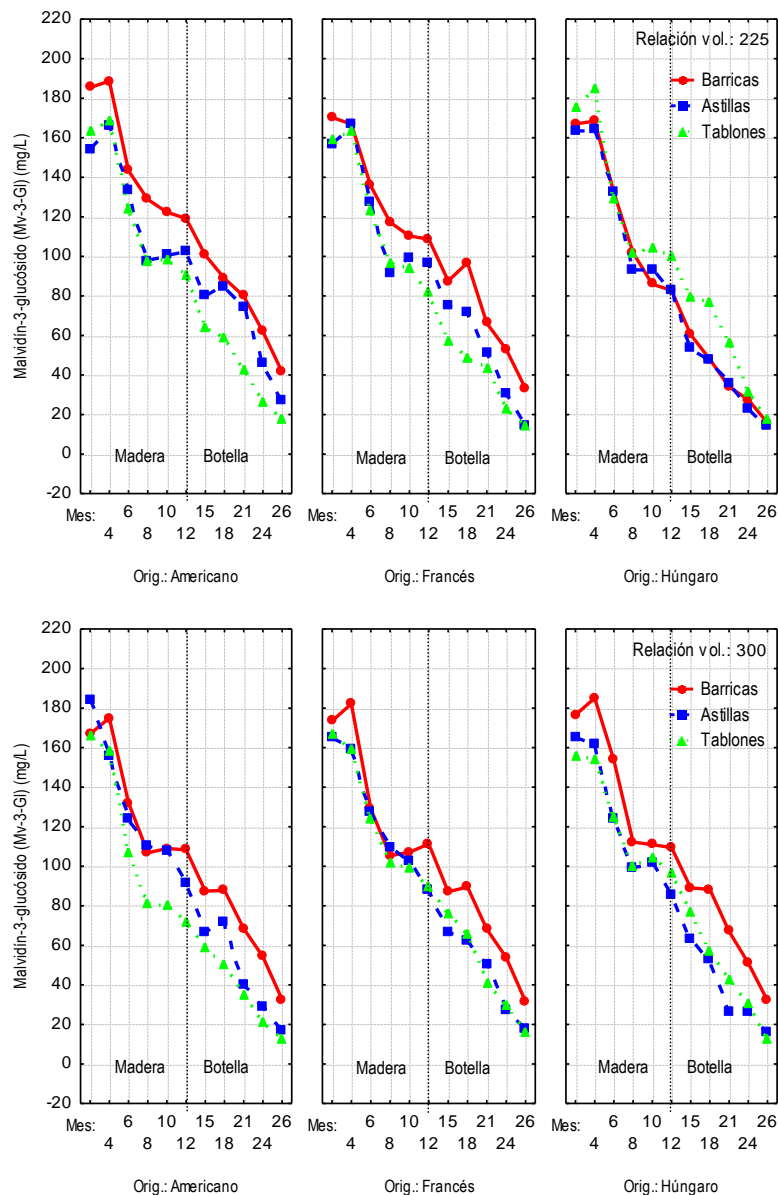


**Gráfica 25:** Evolución del Peonidín-3-glucósido (Pn-3-Gl) del vino durante la crianza en madera y botella de diferente relación volumétrica 225L (a) y 300 L (b) de distintos orígenes y sistemas de envejecimiento

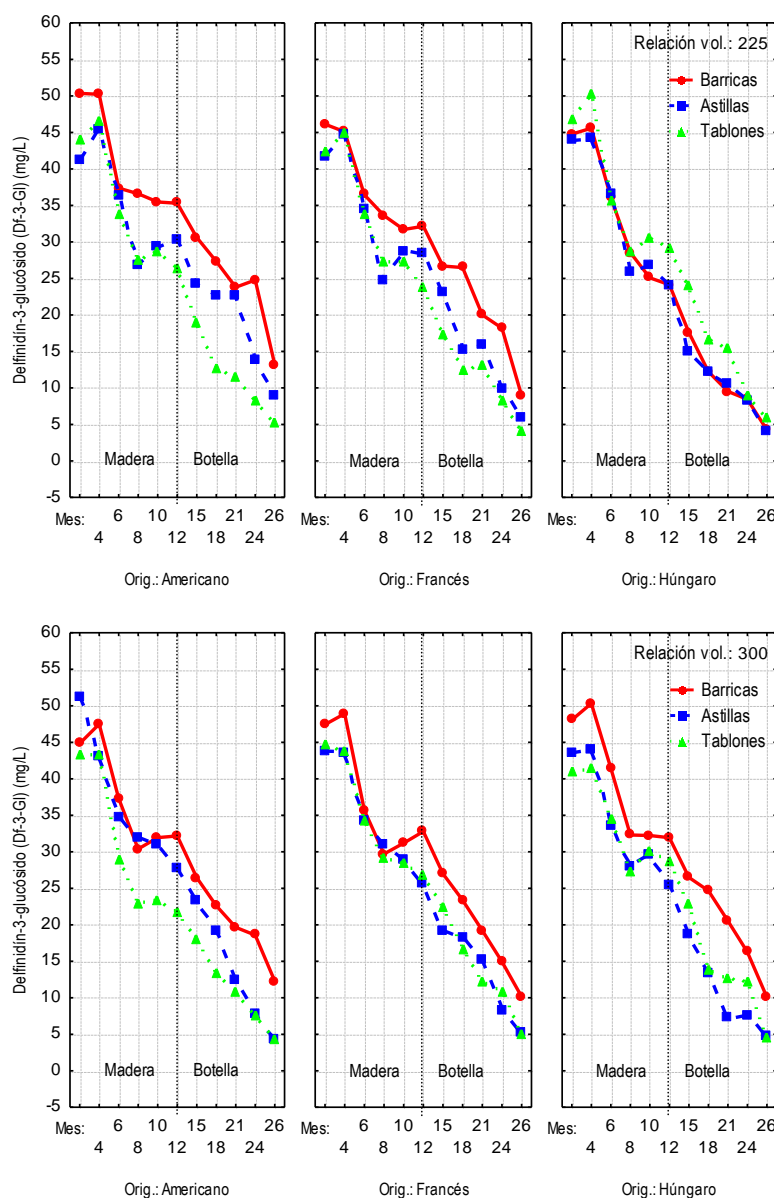
Las concentraciones de todos los antocianos fueron siempre significativamente mayores en el primer periodo de contacto con madera que en el segundo periodo en botella (tablas 16 y 17), y las concentraciones más altas se encontraron en las barricas, seguido por el vino tratado con astillas, finalmente, el vino en contacto con tablonos. Este resultado está de acuerdo a las reacciones de envejecimiento que dan lugar a una pérdida de antocianos se llevó a cabo más rápido en el vino envejecido en sistemas alternativos que en vinos envejecidos en barricas, pudiendo ser debido a que la cesión de los taninos en los vinos en barricas es más lento por su mayor dificultad de extracción de la

misma, produciendo un menor nivel de condensación con taninos. (Pérez, S. et al. 2000; A. Piracci, A. et al., 2001).

El malvidín-3-glucósido es el antociano mayoritario en los vinos producidos de la variedad Tinto fino. Seguidamente se encuentra en concentraciones elevadas el delphinidín-3- glucósido (gráficas 26 y 27 (a y b)) y el petunidín-3-glucósido. Caracterizando estos antocianos a la variedad Tinto fino en la denominación de origen Cigales, dado que estos tres antocianos presentes en las uvas mantienen las concentraciones más elevadas en el vino. Además destaca que sus derivados acilados también presentan los valores más elevados.



**Gráfica 26:** Evolución del Malvidín-3-glucósido (Mv-3-Gl) del vino durante la crianza en madera y botella de diferente relación volumétrica 225L (a) y 300 L (b) de distintos orígenes y sistemas de envejecimiento

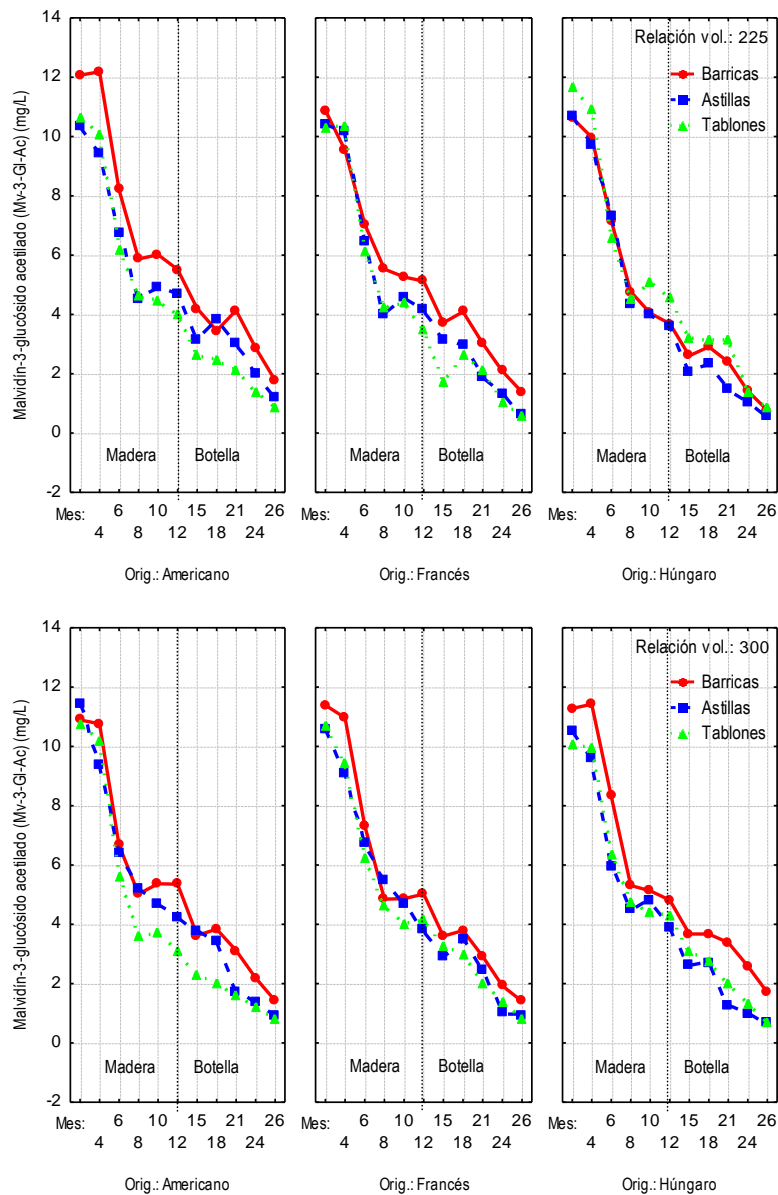


**Gráfica 27:** Evolución del Delfinidín-3-glucósido (Dt-3-Gl) del vino durante la crianza en madera y botella de diferente relación volumétrica 225L (a) y 300 L (b) de distintos orígenes y sistemas de envejecimiento

Respecto a las especies botánicas de madera, durante la permanencia en botella, los vinos tratados con madera de roble de diferentes orígenes han tenido concentraciones similares de antocianos y los más altos se han mantenido en el vino envejecido en roble americano. Dichos resultados fueron más evidentes en peonidín-3-glucósido (Pn-3-Gl) y malvidín-3-glucósido (Mv-3-Gl). Las concentraciones más bajas se lograron con madera de roble francés. De ello se deduce que, aunque todos los antocianos monómeros presentan similar evolución, cabe destacar la influencia en el origen de la madera cuando los vinos permanecen un tiempo prolongado en botella y no presentándose esas diferencias en su período de madera. Siendo el vino con roble húngaro el que presenta los valores inferiores en relación a los antocianos libres, pero los más elevados en cuando a antocianos acilados o polimerizados (Vit A). Es

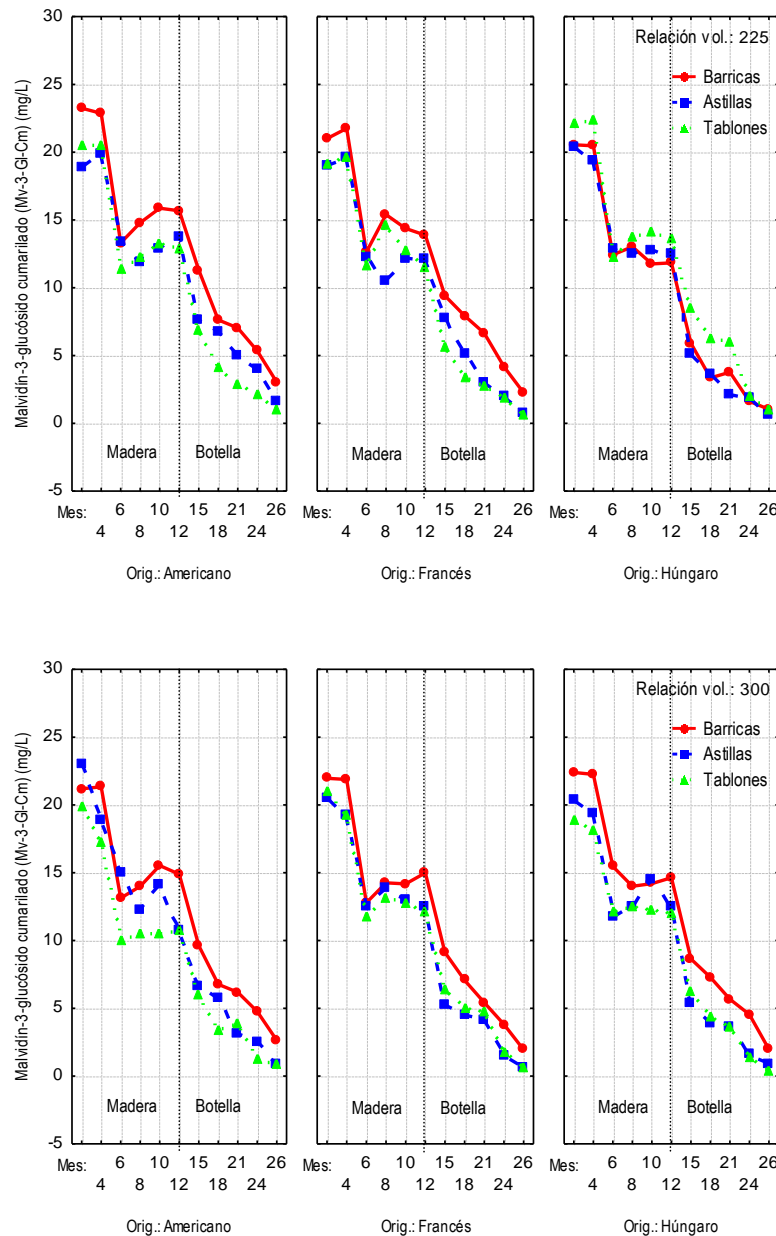
interesante definir que la madera de roble húngaro ha facilitado la polimerización de los antocianos y aumenta el color de los vinos (IC, i ó ii).

En cuanto a los derivados antocianicos del ácido p-cumárico y del ácido acético, sus concentraciones fueron superiores en el vino envejecido en barricas, y ligeramente superiores en el vino de las astillas que las duelas (tabla 16 (gráficas 28 y 29 (a y b))). La madera de roble americano ha alcanzado las concentraciones más altas de antocianos acilados. Estos datos se mantienen tanto en contacto con madera como durante su estancia en botella, destacando que en este segundo período la diferenciación del sistema aumenta es decir, las barricas evitan en mayor medida la pérdida de antocianos y esta menor pérdida ayuda a mantener la cantidad de antocianos más elevada en botella.



**Gráfica 28:** Evolución del Malvidín-3-glucósido acetilado (Mv-3-Gl-Ac) del vino durante la crianza en madera y botella de diferente relación volumétrica 225L (a) y 300 L (b) de distintos orígenes y sistemas de envejecimiento

Se ha encontrado en los vinos una menor pérdida del contenido de antocianos acilados que de antocianos monómeros, que puede ser causado por la velocidad entre las combinaciones de los antocianos con taninos, siendo más rápidas para los antocianos acilados y también a causa de los posibles procesos de hidrólisis que provocan los antocianos monoméricos (Dallas, C.; et al.; 1995; Pazo M., et al.; 1997). Este hecho puede ser debido a que las combinaciones con taninos son más rápidas para los antocianos acetilados y también a causa de los posibles procesos de hidrólisis que se producen en los antocianos no acetilados (Dallas, C., et al., 1995; Pazo, M., et al., 1997).

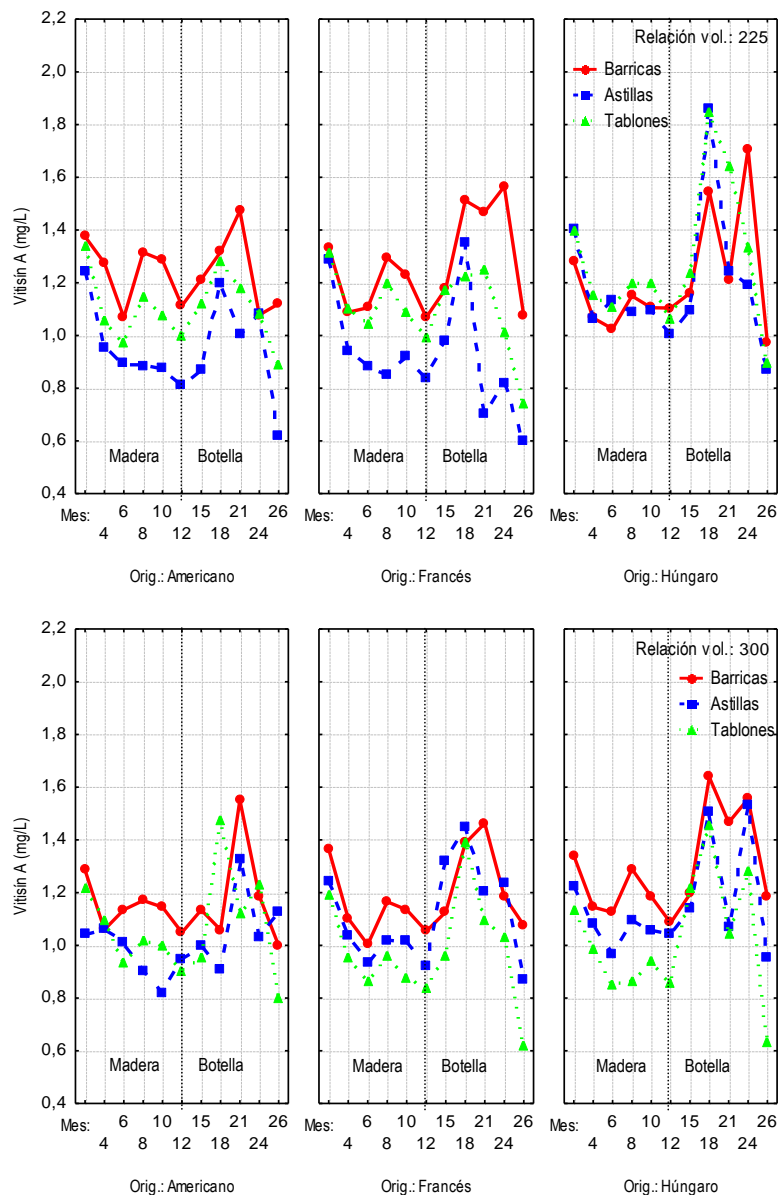


**Gráfica 29:** Evolución del Malvidín-3-glucósido cumarilado (Mv-3-Gl-Cm) del vino durante la crianza en madera y botella de diferente relación volumétrica 225L (a) y 300 L (b) de distintos orígenes y sistemas de envejecimiento

El comportamiento del compuesto **vitisín A** (malvidín-3-glucósido piruvato) en el vino estudiado es irregular donde se observa en las gráficas 30 (a y b) una tendencia más o menos constante a lo largo del tiempo. Las diferencias más significativas se observan en los vinos envejecidos entre diferentes orígenes,

influenciados por el tamaño de la madera es decir, entre barricas, astillas y duelas de los vinos de los demás, cuando se utiliza roble francés en lugar del americano o húngaro. Siendo significativas las diferencias encontradas también en relación al tamaño del envase, así la cantidad de vitisin A en recipientes de 225 L es mayor en vinos con duelas que en vinos con astillas, ocurriendo el efecto contrario en vinos que permanecieron en recipientes de 300 L.

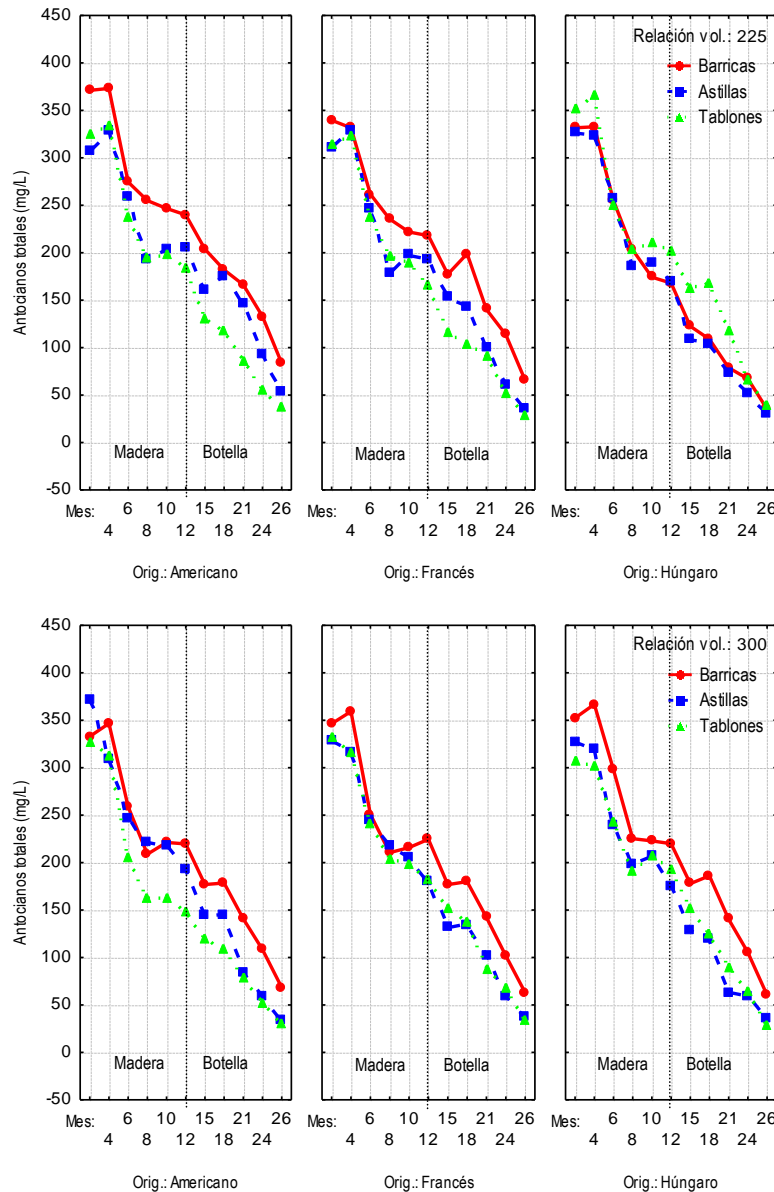
También es significativo el comportamiento del vitisin A (malvidín-3-glucósido piruvato) en los vinos con roble húngaro en su período de botella (tabla 17). Donde se observa una mayor formación de este compuesto para los vinos envejecidos inicialmente en contacto con madera de roble húngaro.



**Gráfica 30:** Evolución del vitisin A del vino durante la crianza en madera y botella de diferente relación volumétrica 225L (a) y 300 L (b) de distintos orígenes y sistemas de envejecimiento



La suma de los antocianos totales analizados en los vinos (gráficas 31 a y b) por HPLC experimenta la misma evolución que el análisis determinado por el método ultravioleta-visible. Se produce un descenso en los vinos, siendo menor la pérdida de antocianos totales en los vinos que permanecieron en barricas.



**Gráfica 31:** Evolución de los antocianos totales del vino durante la crianza en madera y botella de diferente relación volumétrica 225L (a) y 300 L (b) de distintos orígenes y sistemas de envejecimiento

### V.1.6. Compuestos fenólicos de bajo peso molecular en el vino.

La presencia de compuestos fenólicos parece estar muy influenciada, como se ha visto con anterioridad, por los procesos de envejecimiento a los que se ven sometidos los vinos. Parece razonable exponer el contenido en compuestos fenólicos de bajo peso molecular durante el proceso de envejecimiento tanto en madera (2-12 meses), como en botella (14-24 meses) (tablas 18 y 19).

Después de 12 meses de contacto con madera, las diferencias relacionadas con el **tamaño del envase** (225-300 L) aumentaron, destacando valores más altos para vinos en contacto con recipientes de 225 L de capacidad para parámetros como aldehído protocatéquico y ácido gentísico, desapareciendo tal diferenciación en el período de botella. Destaca una mayor presencia en los vinos en recipientes de 300 L para parámetros como ácido caféico, ácido p-cumárico y ácido ferúlico, todos ellos ácidos hidroxicinámicos. Manteniendo las diferencias significativas, para los dos primeros parámetros en los vinos, también en período de botella. Esto parece indicar que se ven claramente influenciados por el contacto con la madera ya que a mayor cantidad de madera, mayor hidrolización de dichos compuestos al vino. Otro parámetro influenciado significativamente en el vino en su período de botella es la vanillina, presentando valores más elevados en los vinos en contacto con recipientes de mayor tamaño (300 L).

**Tabla 18:** Valores medios de los compuestos fenólicos de los vinos envejecidos en un año en relación volumétrica (225-300), sistemas (astillas, tablonés y barricas) y origen de la madera (americano, francés y húngaro). Resultados de la ANOVA

	Relación volumétrica			Sistema			Origen			225 L	
	225 L	300 L	p level	Astillas	Tablonés	Barricas	p level	Americano	Francés		Húngaro
Ác. gálico <sup>2</sup>	39,67a	40,09a	0,454	39,41a	39,44a	40,79a	0,077	39,98a	40,31a	39,36a	0,380
Ald. protocatéquico <sup>2</sup>	1,92a	1,84a	0,079	1,82a	1,86a	1,95a	0,057	1,85a	1,88a	1,90a	0,700
Ald. p-Hydroxybenzoico <sup>2</sup>	0,15b	0,13a	<b>0,000</b>	0,15a	0,13a	0,14a	0,081	0,14a	0,14a	0,14a	0,957
Catequina <sup>2</sup>	4,18b	4,03a	<b>0,022</b>	3,91a	3,97a	4,43b	<b>0,000</b>	4,24b	4,10ab	3,97a	<b>0,003</b>
Ác. siríngico <sup>2</sup>	0,38a	0,40a	0,095	0,38a	0,40a	0,40a	0,101	0,39a	0,39a	0,40a	0,856
Vanillina <sup>2</sup>	33,57a	34,41a	0,075	33,36a	34,35a	34,26a	0,164	33,72a	33,85a	34,41a	0,447
Epicatequina <sup>2</sup>	2,33a	2,31a	0,710	2,28a	2,38a	2,31a	0,110	2,31a	2,33a	2,33a	0,891
Ác. p-Cumárico <sup>2</sup>	7,92a	8,74b	<b>0,000</b>	8,68b	8,74b	7,57a	<b>0,000</b>	7,95a	8,33b	8,70c	<b>0,001</b>
Ác. protocatéquico <sup>2</sup>	3,92a	3,94a	0,858	3,85a	4,00a	3,94a	0,246	3,88a	3,98a	3,93a	0,586
Ác. vainillínico <sup>2</sup>	0,33a	0,37a	0,221	0,35a	0,39a	0,31a	0,090	0,34a	0,37a	0,34a	0,562
Ác. gentísico <sup>2</sup>	10,91a	11,25a	0,168	10,70a	10,96a	11,58b	<b>0,013</b>	11,22a	10,95a	11,07a	0,669
Ác. cafeico <sup>2</sup>	3,80a	4,17b	<b>0,000</b>	4,16b	4,17b	3,63a	<b>0,000</b>	3,90a	3,91a	4,15b	<b>0,002</b>
Ác. ferúlico <sup>2</sup>	0,36a	0,38b	<b>0,003</b>	0,38b	0,39b	0,34a	<b>0,000</b>	0,36a	0,36a	0,39b	<b>0,000</b>
Ác. sinápico <sup>2</sup>	1,45a	1,47a	0,656	1,45a	1,46a	1,48a	0,820	1,46a	1,46a	1,46a	0,993

Para cada factor, letras distintas en filas indican diferencias estadísticamente significativas. En negrita se muestra el p level con significación > 95 % (p<0,05) <sup>1</sup> expresado en g/L, <sup>2</sup> expresado en mg/L, <sup>3</sup> expresado en % (v/v)

**Tabla 19:** Valores medios de los compuestos fenólicos de los vinos envejecidos en botella (15-24 meses) en relación volumétrica (225-300), sistemas (astillas, tablones y barricas) y origen de la madera (americano, francés y húngaro). Resultados de la ANOVA

	Relación volumétrica			Sistema			Origen			p level	
	225 L	300 L	p level	Astillas	Tablones	Barricas	Americano	Francés	Húngaro		
Ác. gálico <sup>2</sup>	64,92a	65,07a	0,880	63,35a	64,53a	67,09b	<b>0,009</b>	65,12a	66,01a	63,84a	0,201
Ald. protocatéquico <sup>2</sup>	3,52a	3,42a	0,431	3,21a	3,61b	3,58b	<b>0,018</b>	3,31a	3,61a	3,48a	0,169
Ald. p-Hydroxybenzoico <sup>2</sup>	0,44a	0,49a	0,060	0,47a	0,47a	0,46a	0,994	0,45a	0,47a	0,48a	0,709
Catequina <sup>2</sup>	3,65a	3,52a	0,317	3,28a	3,26a	4,23b	<b>0,000</b>	3,82b	3,58ab	3,37a	<b>0,027</b>
Ác. siríngiro <sup>2</sup>	0,30a	0,31a	0,487	0,31a	0,30a	0,31a	0,787	0,30a	0,31a	0,30a	0,585
Vanillina <sup>2</sup>	30,24a	29,96a	0,619	29,88a	30,08a	30,33a	0,801	30,12a	30,43a	29,74a	0,595
Epicatequina <sup>2</sup>	3,18a	3,21a	0,779	3,02a	3,35a	3,23a	0,107	3,12a	3,33a	3,14a	0,335
Ác. p-Cumárico <sup>2</sup>	15,69a	17,38b	<b>0,000</b>	16,93b	18,13c	14,54a	<b>0,000</b>	15,53a	16,30a	17,77b	<b>0,000</b>
Ác. protocatéquico <sup>2</sup>	7,80a	7,54a	0,395	7,47a	7,98a	7,57a	0,361	7,35a	7,59a	8,08a	0,140
Ác. vainillínico <sup>2</sup>	1,32a	1,49b	<b>0,026</b>	1,41a	1,43a	1,38a	0,891	1,37a	1,42a	1,44a	0,699
Ác. gentísico <sup>2</sup>	13,35a	13,11a	0,490	12,55a	13,42b	13,72b	<b>0,024</b>	13,28a	13,17a	13,23a	0,969
Ác. cafeico <sup>2</sup>	6,24a	6,65b	<b>0,013</b>	6,30a	6,45a	6,58a	0,381	6,50a	6,35a	6,47a	0,736
Ác. ferúlico <sup>2</sup>	0,31a	0,30a	0,496	0,29a	0,32a	0,31a	0,356	0,31a	0,31a	0,30a	0,968
Ác. sinápico <sup>2</sup>	2,47a	2,45a	0,797	2,26a	2,53b	2,60b	<b>0,005</b>	2,44a	2,47a	2,47a	0,964

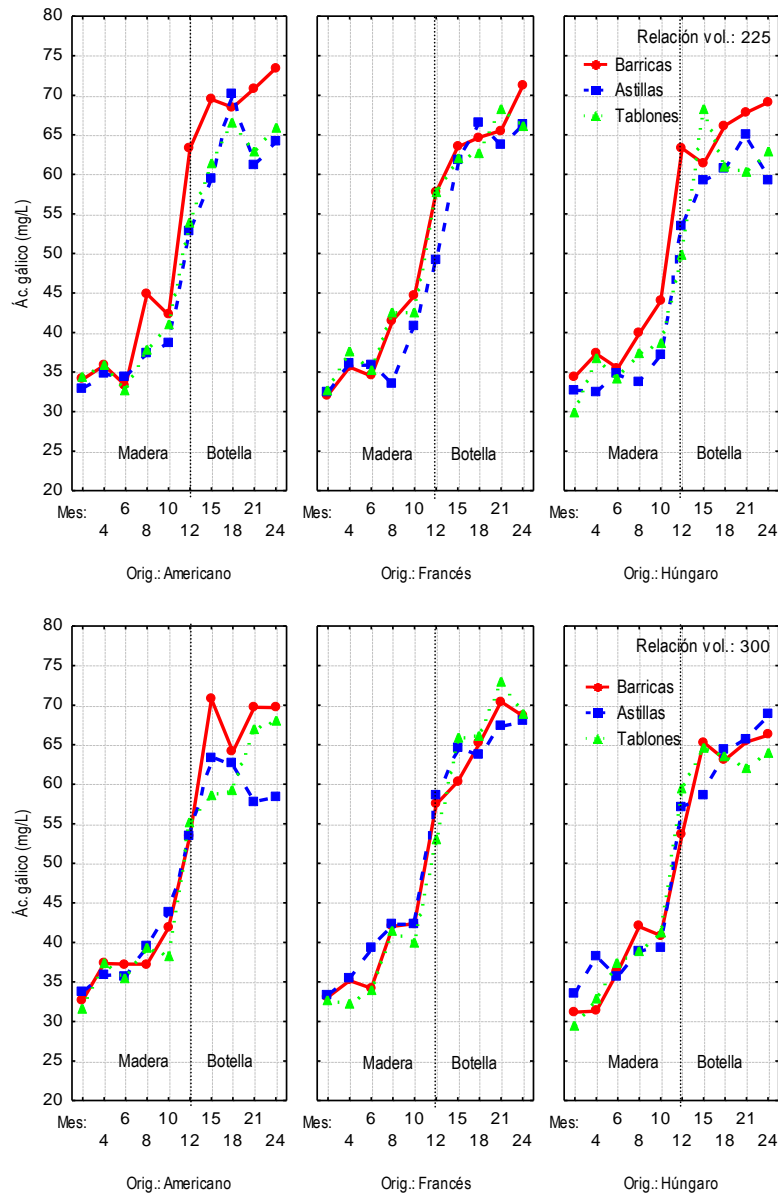
Para cada factor, letras distintas en la misma fila indican diferencias estadísticamente significativas, en negrita se muestra el p level con significación > 95 % (p<0,05)

Los vinos con 12 meses de madera y 12 meses de botella (tablas 18 y 19), presentaron diferencias significativas en relación al **tipo de madera** en el contenido de ácido gentísico y ácidos hidroxicinámicos (ácido caféico, ácido p-cumárico y ácido ferúlico). Siendo en el período en el que ya la madera deja de estar en contacto con el vino, significantes las diferencias en ácidos hidroxibenzoicos (ácido gálico, ácido protocatéquico y ácido gentísico). Entre los ácidos hidroxicinámicos, destacan diferencias en la fase de botella el ácido caféico y ácido sinápico y el flavonoide epicatequina, en ambos períodos de envejecimiento de los vinos. Destacando una menor concentración de ácidos hidroxicinámicos y una mayor concentración de ácidos hidroxibenzoicos y epicatequina en vinos en contacto con barricas, seguida de los vinos envejecidos en tablones. Además parece que las astillas presentan valores más bajos en estos compuestos fenólicos con diferencias significativas, si se comparan con lo que ocurre en los vinos en contacto con tablones. Este resultado demuestra la relación importante del tamaño de la madera en el contenido de estos compuestos en el vino.

El **origen de la madera** en el contenido en compuestos fenólicos medidos por HPLC parece ser poco significativo en el proceso de envejecimiento de los vinos, encontrándose tales diferencias en el ácido gentísico, ácido caféico, ácido p-cumárico y ácido ferúlico, destacando el roble húngaro como el origen más diferenciador. Sin embargo, estos vinos cuando dejan de estar en contacto con la madera y permanecen un período prolongado en botella desaparecen tales diferencias entre los vinos y sólo se mantienen para el ácido benzoico y el ácido caféico. Diversos autores han caracterizado a la madera de roble americano por una concentración en elagitaninos totales menor y significativamente mayores

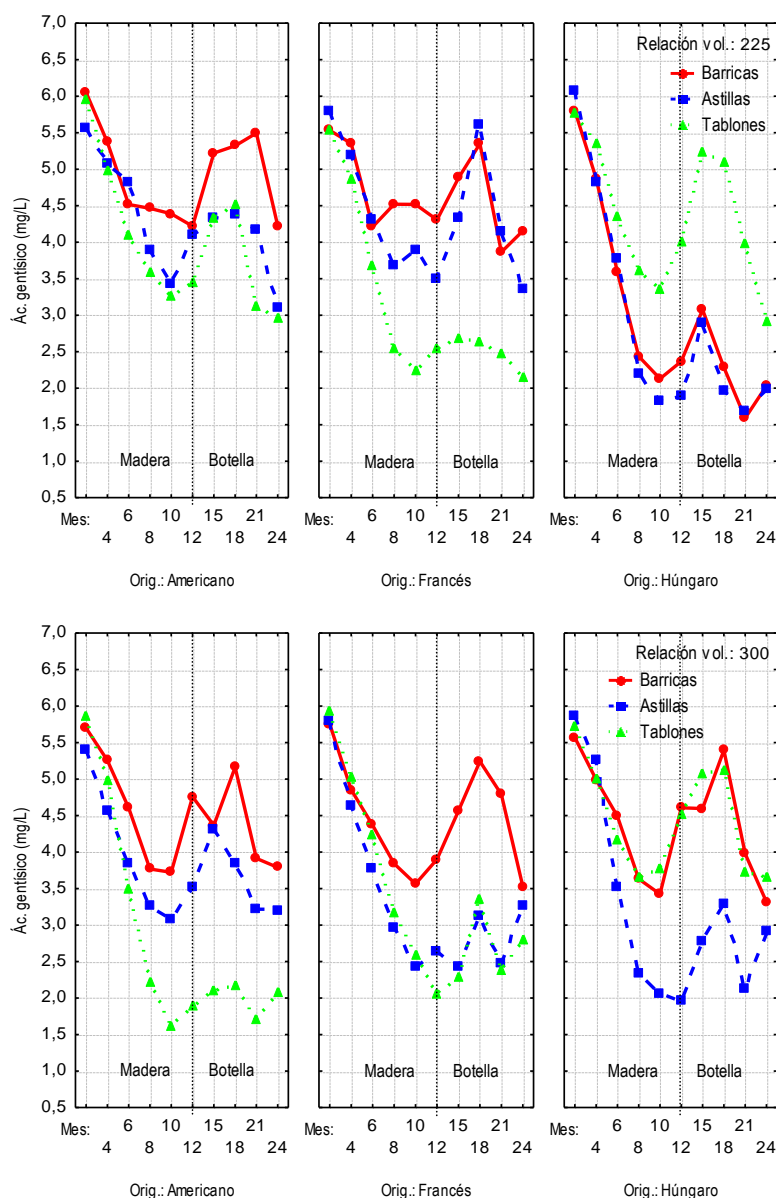
cantidades de contenido de vanillina que el roble francés y húngaro. Además, Glabasia, A. et al. (2006) durante el envejecimiento de whiskys y vinos tintos observaron que el *Quercus robur* presentaba mayores cantidades de ácidos gálico, protocatéquico, caféico, sinápico y fenoles totales en comparación con *Quercus alba*. Sin embargo, no encontraron diferencias significativas en el contenido de elagitaninos entre el *Quercus robur* y el *Quercus petraea*. El tiempo de envejecimiento en barrica y el tamaño de la madera afectarían el contenido de polifenoles en los vinos. Además, Del Álamo, M. et al. (2004d) observaron en los vinos de crianza tratados bajo diferentes sistemas (barricas, astillas, y tablones) un aumento en la concentración de ácidos gálico, protocatéquico, caféico y p-cumárico, y aldehído protocatéquico durante el envejecimiento.

El **ácido gálico** ha sido el compuesto mayoritario analizado, ha aumentado su concentración a lo largo del proceso de envejecimiento (gráficas 32 a y b) como ya observaran diversos autores (Del Álamo, M. et al., 2004d; Martínez, J., 2004; Cadahía, E. et al, 2008; Ojeda, S., 2012 y Gallego, L., 2013), siendo más elevado en el período intermedio entre madera y botella para todos los vinos estudiados. Este incremento se debe a los procesos de hidrólisis, debidas a la degradación de la lignina y la formación de elagitaninos de la madera de roble (Cadahía, E. et al. 2008). Además, se observan valores más elevados de este compuesto en los vinos que han permanecido en contacto con barricas, seguidos de los tablones, parece que el tamaño de los trozos de madera (barricas, tablones y astillas) así como el tamaño del envase (300 L y 225 L), determinan la cantidad de ácido gálico aportado al vino, aunque el resultado no ha sido significativo. El origen de la madera no parece ser determinante en la aportación de ácido gálico en el vino como ya observara Cadahía et al. (2009). Todos los autores revisados coinciden en que las mayores diferencias encontradas en las maderas han sido para el compuesto ácido elágico, no determinado en este trabajo, ya que se trata de un ácido que se produce durante el tostado de la madera por hidrólisis térmica de los elagitaninos. (Fernández, J.L: et al., 1999), siendo el roble americano en el que se ha localizado la concentración más baja en los vinos durante su contacto con barricas comparado con los robles europeos (Fernández, B. et al., 2003b; Cadahía, E., 2004 y Ojeda, S., 2012).



**Gráfica 32:** Evolución del ácido gálico del vino durante la crianza en madera y botella de diferente relación volumétrica 225L (a) y 300 L (b) de distintos orígenes y sistemas de envejecimiento

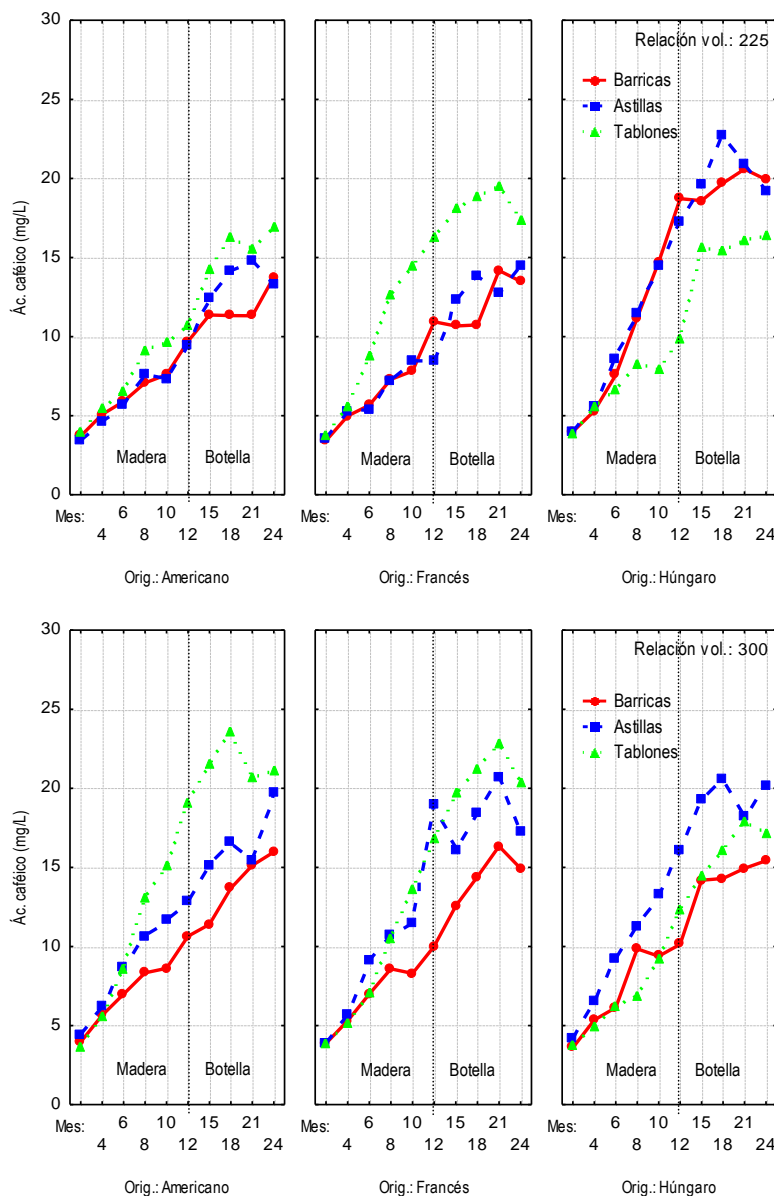
El contenido en **ácido gálico** cuantificado en los vinos experimenta una pérdida en los vinos envejecidos (gráficas 33 a y b), principalmente en el período de contacto con madera. Los vinos criados en barricas de roble mantuvieron los valores más elevados de ácido gálico durante el proceso de envejecimiento. Siendo el vino en contacto con roble húngaro el que ha perdido mayor concentración de ácido gálico. Destaca en los resultados la pérdida de ácido gálico experimentada por los vinos que han estado en contacto con tablones de origen francés y americano.



**Gráfica 33:** Evolución del ácido gálico del vino durante la crianza en madera y botella de diferente relación volumétrica 225L (a) y 300 L (b) de distintos orígenes y sistemas de envejecimiento

El contenido de **ácido caféico** en el vino ha ido aumentando en concentración a medida que el vino envejece en contacto con madera y durante su período de botella (gráficas 34 a y b), debido principalmente a las reacciones de hidrólisis del ácido transcaftárico (éster tartárico) dando lugar a su forma libre, y a su vez ser regenerado por reacciones de esterificación (Gallego, L. 2013). Resultado que coincide con lo observado por otros autores (Monagas, M. et al., 2005a y Cadahía, E. et al., 2008; Ferrarini, R. et al. 2008 y Gallego, L., 2013). Aunque podría también interpretarse un aumento del compuesto, más o menos acusado dado que en el proceso de formación por reacciones de hidrólisis también sufren pérdidas por su esterificación para dar ácido caftárico, así como en reacciones de acilación con los antocianos. Se observa en las gráficas 34 (a y b) un valor más bajo de ácido caféico en los vinos en contacto con barricas, que puede ser interpretado como vinos en los que se producen

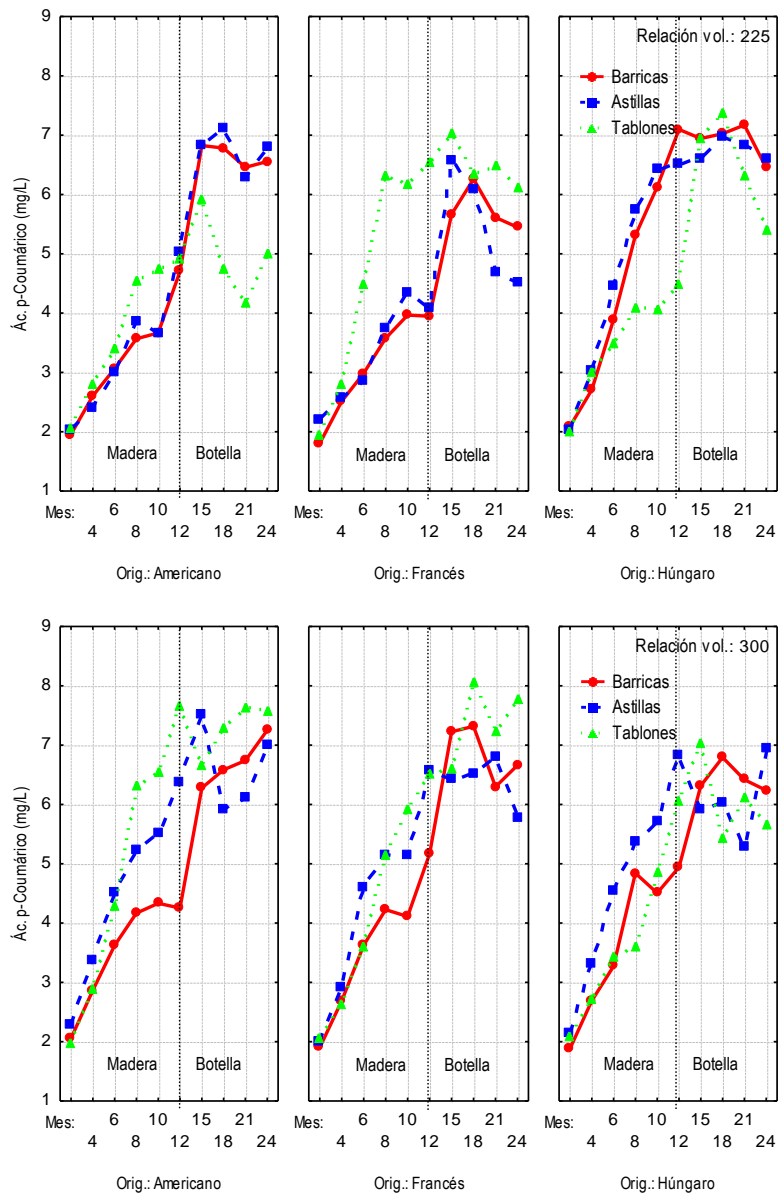
mayores reacciones de esterificación y acilación. No podría interpretarse, en vista de los resultados presentados en la gráfica 34, una mayor extracción en astillas o tablonés que en barricas, dado que los 6 meses primeros en contacto con madera no se produce una diferenciación significativa entre los distintos recipientes.



**Gráfica 34:** Evolución del ácido caféico del vino del vino durante la crianza en madera y botella de diferente relación volumétrica 225L (a) y 300 L (b) de distintos orígenes y sistemas de envejecimiento

La cantidad de **ácido p-cumárico** se ve incrementada, sobre todo durante el envejecimiento del vino en madera manteniendo, o disminuyendo en algunos casos, su concentración durante el período de botella (gráficas 35 a y b). Este aumento en el primer período puede ser debido a la hidrólisis sufrida por el ácido trans-cutárico (éster del ácido p-cumárico) y a la extracción de este compuesto de la madera. Siendo mayor su concentración en vinos que permanecieron en recipientes de 300 L de capacidad, en roble

húngaro y en astillas y tablonos, quedando los vinos en contacto con barricas de 225 L de capacidad el valor más bajo durante su período de contacto con ella.



**Gráfica 35:** Evolución del ácido p-cumárico del vino durante la crianza en madera y botella de diferente relación volumétrica 225L (a) y 300 L (b) de distintos orígenes y sistemas de envejecimiento



### V.1.7. Parámetros de copigmentación

A continuación se describe el comportamiento, de los parámetros de copigmentación en el vino D. O. Cigales al final del período de envejecimiento en botella (21-26 meses), en recipientes de diferentes tamaños, sistemas y orígenes.

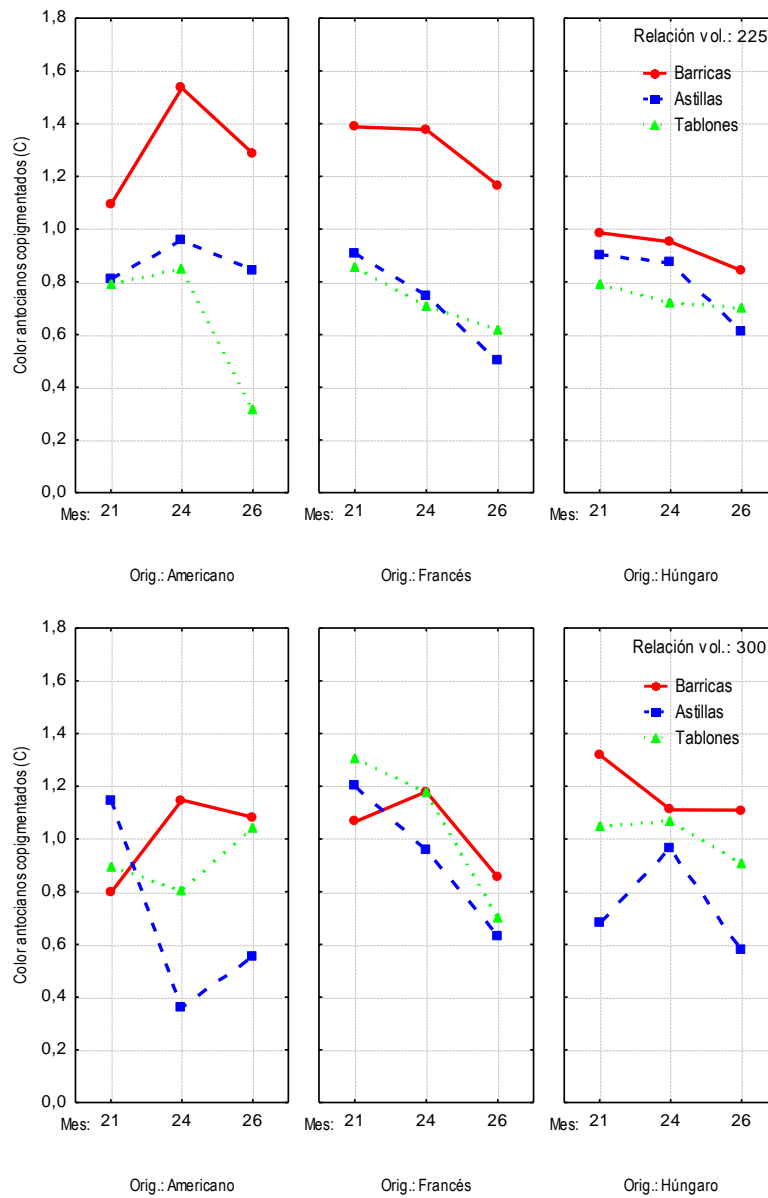
Las modificaciones de los parámetros de copigmentación parecen estar influenciados principalmente por el sistema en el que permaneció el vino en su primer período de envejecimiento (tabla 20). Destacan los vinos envejecidos en barricas como vinos con valores más elevados de copigmentación (C y COP).

**Tabla 20:** Valores medios de copigmentación de los vinos envejecidos en botella (21-26 meses) en relación volumétrica (225-300), sistemas (astillas, tablonos y barricas) y origen de la madera (americano, francés y húngaro). Resultados de la ANOVA

	Relación volumétrica			Sistema				Origen			
	225 L	300 L	p level	Astillas	Tablonos	Barricas	p level	Americano	Francés	Húngaro	225 L
C	0,89a	0,95a	0,518	0,79a	0,85a	1,13b	<b>0,007</b>	0,91a	0,96a	0,90a	0,804
TA	2,00a	1,87a	0,357	1,91a	1,90a	2,01a	0,791	1,96a	1,94a	1,91a	0,957
Ep	2,76a	2,81a	0,502	2,88b	2,89b	2,59a	<b>0,000</b>	2,67a	2,73a	2,96b	<b>0,001</b>
FlaC	6,08a	5,94a	0,534	5,99a	5,91a	6,14a	0,721	5,97a	6,01a	6,05a	0,965
TP	58,12a	55,03a	0,291	54,16a	55,03a	60,53a	0,159	55,43a	59,23a	55,06a	0,435
COP (relativa)	0,16a	0,17a	0,470	0,14a	0,15a	0,20b	<b>0,016</b>	0,16a	0,17a	0,16a	0,791
AL (relativa)	0,35a	0,33a	0,247	0,34a	0,33a	0,35a	0,825	0,35a	0,34a	0,33a	0,652
PP (relativa)	0,49a	0,50a	0,485	0,52b	0,52b	0,45a	<b>0,001</b>	0,48a	0,49a	0,52a	0,140

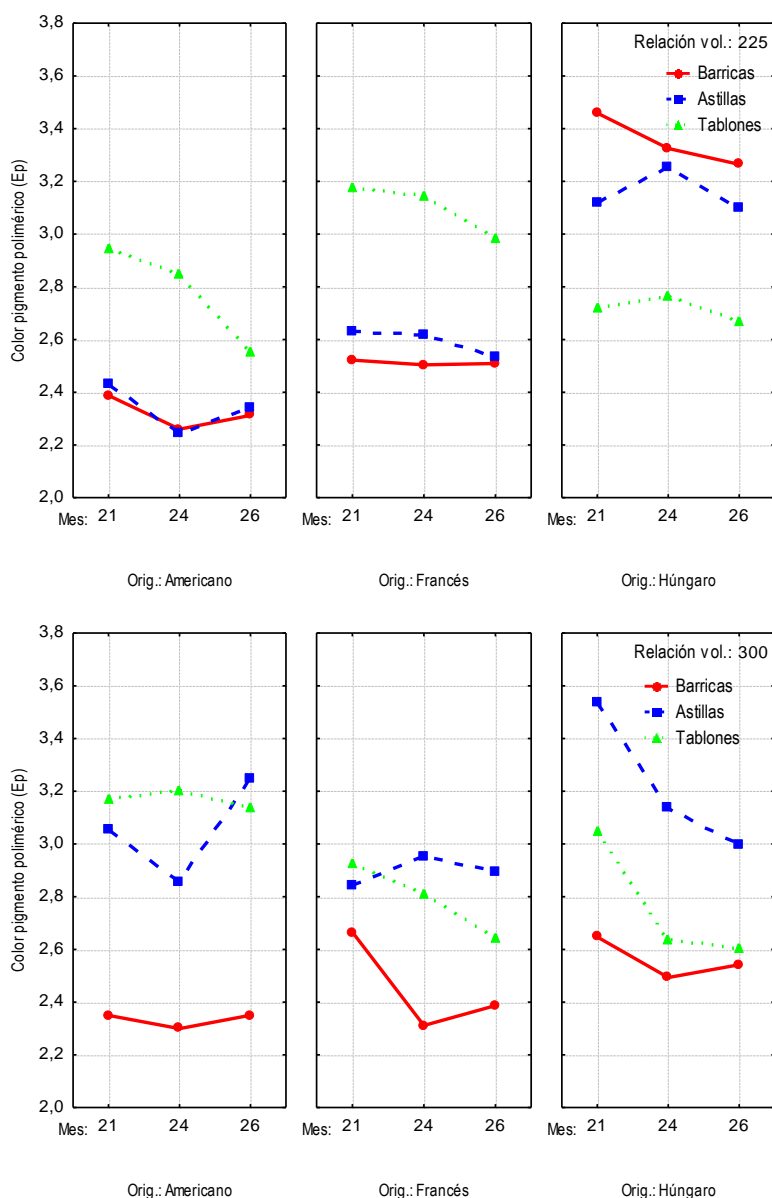
Para cada factor, letras distintas en la misma fila indican diferencias estadísticamente significativas, en negrita se muestra el p level con significación > 95 % (p<0,05)

El parámetro que define el **color debido a los antocianos copigmentados (C)** se representa en las gráficas 36 (a y b). En ellas se observa que los vinos en contacto con barrica mantienen los valores más elevados. Como no se dispone de datos anteriores al 21 mes de envejecimiento, los resultados disponibles podrían dar una idea de la tendencia anterior, siendo la barrica el recipiente con mayor concentración en antocianos copigmentado. Es por tanto, la barrica el recipiente donde el color debido a antocianos copigmentados es mayor.



**Gráfica 36:** Evolución del color debido a los antocianos copigmentados (C) durante la crianza en botella de diferente relación volumétrica 225L (a) y 300 L (b) de distintos orígenes y sistemas de envejecimiento

Como era previsible, el **color debido al pigmento polimérico** (Ep) es menor en los vinos que permanecieron en barricas que en el resto de los sistemas (gráfica 37 a y b), sin embargo en el vino en contacto con roble húngaro alcanza los valores más altos para los vinos envejecidos en la bodega de 225 L de capacidad.



**Gráfica 37:** Evolución del color debido al pigmento polimérico (Ep) durante la crianza en botella de diferente relación volumétrica 225L (a) y 300 L (b) de distintos orígenes y sistemas de envejecimiento

Con estos resultados obtenidos en la fase final del proceso de envejecimiento en botella, puede concluirse que la barrica es el recipiente que mantiene a los vinos con valores más elevados de color copigmentado y es el roble húngaro la madera que más color polimérico aporta a los vinos. En general se cumple, que los tratamientos que tuvieron mayor copigmentación son los que tuvieron menor nivel de polimerización, debido a que la copigmentación inhibió la polimerización, haciendo más lenta las reacciones (Boulton, R., 2001). Algunos autores establecieron una menor polimerización de los vinos en contacto con barricas comparativamente con el vino sin madera (Rensburg, P. V. et al., 2002; Del Álamo, M. et al., 2004). Por otro lado, diversos autores atribuyen diferentes procesos de polimerización en relación a los diferentes niveles de polifenoles totales (IPT) de los distintos vinos, y también a que la capacidad de formar copigmentos sería una propiedad intrínseca de cada variedad (Pontallier, P. et al.,

1982; Vivas, N., 1993; Ribéreau-Gayon, P. et al., 1998; Martínez, I. et al., 2000). Debido a esto, se puede hipotetizar que si el tiempo de envejecimiento es suficientemente prolongado los antocianos de los vinos estarían protegidos por copigmentos en un primer período de crianza, pero posteriormente incrementarían el nivel de color polimerizado. Si el contenido en IPT en el vino es más elevado se podría retrasar el proceso de polimerización a favor de la formación de copigmentos. Esto coincide con lo citado por algunos autores (King, G. A. et al., 1980; Furtado, P. et al., 1993) que sugieren que cuando el vino envejece, los antocianos libres van desapareciendo del vino debido a su degradación; su transformación en nuevos pigmentos: piranoantocianos o vitisinas (Bakker, J. et al., 1997b).

### **V.1.8. Análisis sensorial de los vinos**

#### **V.1.8.1. Estudio del efecto del envejecimiento del vino en distintos sistemas y orígenes de madera**

Se ha realizado la caracterización de un vino tinto de la D.O. Cigales envejecido por medio de sistemas alternativos, depósitos con astillas y tablonés, realizando una comparación con su evolución en bodega, con la aportación de madera de roble de origen americano, francés y húngaro. Los vinos han sido analizados sensorialmente por personal experto de diversas instituciones de Castilla y León, durante los 12 meses de contacto con la madera y tras 6 meses de permanencia en botellas. Las catas se han realizado a los 2, 6, 8, 12 meses de contacto con madera y a los 16 y 18 meses de envejecimiento, durante su contacto en ambiente reductor (botella).

Los datos obtenidos de las valoraciones de los expertos han sido los resultados promedios de los atributos puntuados en los vinos. Las valoraciones se han representado en una escala de 0 a 10 puntos. Se ha realizado un ANOVA para seleccionar los atributos con diferencias significativas ( $p$ -Level $<0,05$ ). En la tabla 21 se presentan los resultados obtenidos del análisis sensorial.

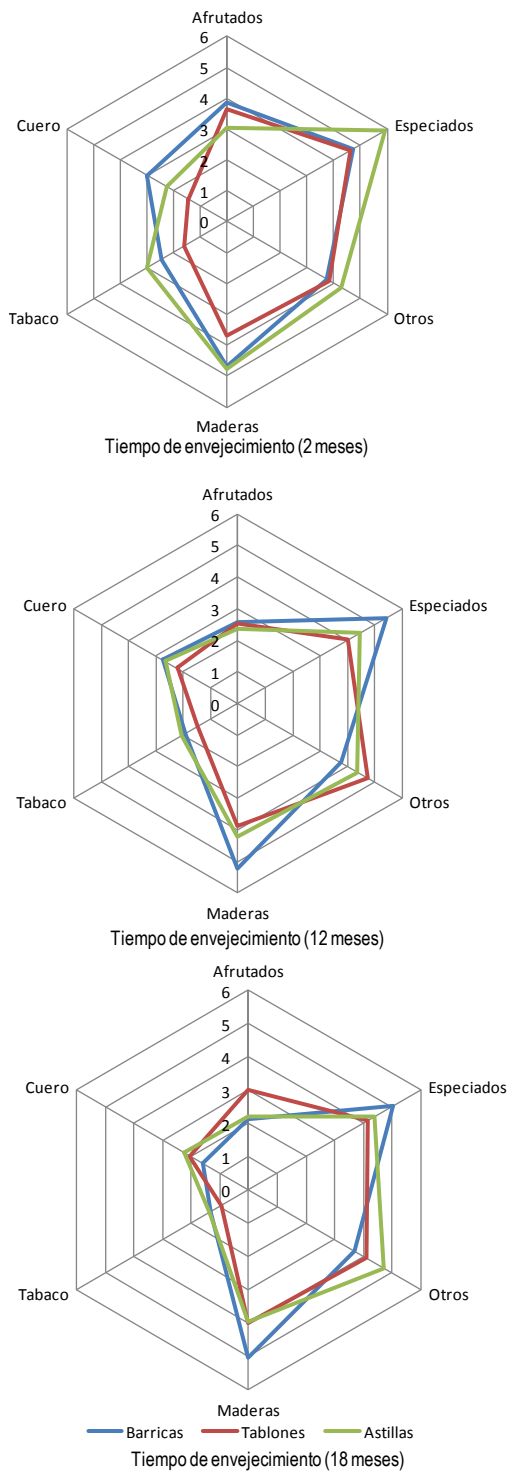
Los resultados del ANOVA muestran que los expertos no han encontrado diferencias significativas en la **fase visual** de los vinos envejecidos en distintos sistemas o tostados. Aunque se puede apreciar que los vinos envejecidos en bodegas han sido mejor puntuados en atributos como intensidad en color (luminosidad), limpidez, azules y rojos, siendo los vinos en contacto con astillas los más opacos y más tejas, es decir los más evolucionados en color.

**Tabla 21:** Valores medios del análisis sensorial de los vinos envejecidos durante 12 meses en distintos sistemas (astillas, tablonés y barricas) y diversos orígenes (americano, francés y húngaro) y 6 meses de botella (18 meses). Resultados de la ANOVA

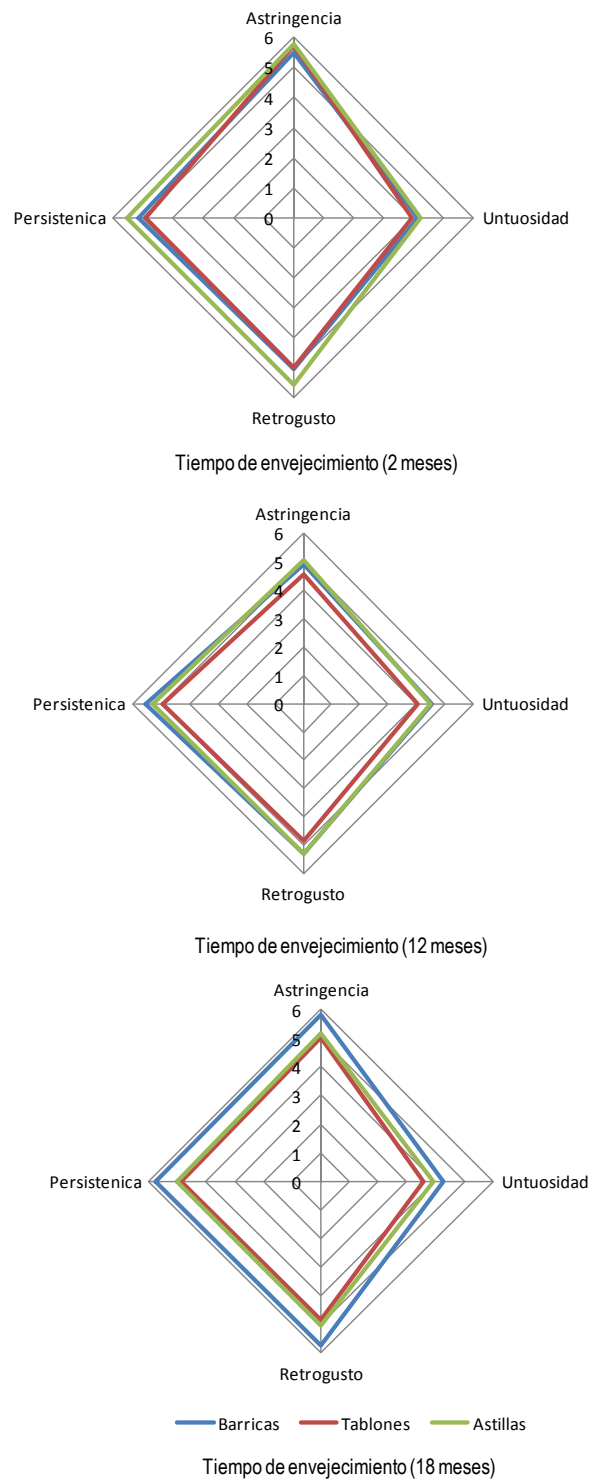
	Sistema				Origen			
	Astillas	Tablonés	Barricas	p-Level	Americano	Francés	Húngaro	p-Level
Intensidad (Luminosidad)	6,90a	6,93a	7,03a	0,222	6,99a	6,95a	6,92a	0,688
Intensidad (Opacidad)	6,33a	6,46a	6,29a	0,151	6,34a	6,34a	6,41a	0,643
Limpidez	6,90a	6,93a	7,03a	0,222	6,99a	6,95a	6,92a	0,688
Rojos	5,64a	5,69a	5,75a	0,657	5,72a	5,76a	5,59a	0,290
Azules	5,50a	5,54a	5,56a	0,900	5,63a	5,52a	5,46a	0,450
Tejas	2,04a	1,94a	1,92a	0,821	1,83a	2,20a	1,87a	0,166
Lagrima	5,10a	5,31a	5,22a	0,114	5,26a	5,25a	5,12a	0,289
Afrutados	2,58a	2,94b	2,91b	<b>0,016</b>	2,90a	2,86a	2,66a	0,160
Vegetal	2,28a	2,52a	2,40a	0,232	2,37a	2,55a	2,28a	0,138
Lácticos	3,23a	3,24a	3,44a	0,150	3,54b	3,15a	3,23a	<b>0,004</b>
Especiados	5,14b	4,28a	5,04b	<b>0,000</b>	5,17b	4,30a	5,00b	<b>0,000</b>
Otros	4,13b	4,03b	3,56a	<b>0,038</b>	3,82a	3,91a	3,99a	0,754
Plano	1,59a	1,73a	1,59a	0,679	1,47a	1,83a	1,61a	0,153
Corto	2,25a	2,50a	2,39a	0,599	2,23a	2,58a	2,33a	0,357
Largo	5,18a	4,61a	4,98a	0,235	5,18a	4,61a	4,99a	0,239
Primarios	2,13a	2,33a	2,52a	0,245	2,39a	2,32a	2,27a	0,868
Herbáceos	1,73a	1,67a	1,46a	0,276	1,44a	1,69a	1,74a	0,185
Maderas	4,78b	4,01a	5,02b	<b>0,006</b>	4,98a	4,39a	4,44a	0,128
Lácteos	2,81a	2,73a	3,09a	0,384	3,13a	2,78a	2,73a	0,275
Frutos Secos	1,87a	1,62a	1,72a	0,370	1,74a	1,72a	1,74a	0,994
Tabaco	2,17b	1,47a	2,01b	<b>0,004</b>	2,06a	1,75a	1,84a	0,325
Cuero	2,75b	2,00a	2,46ab	<b>0,017</b>	2,44a	2,39a	2,39a	0,975
Balsámico	2,56a	2,56a	2,33a	0,587	2,63a	2,39a	2,42a	0,589
Yodo	2,02a	1,97a	1,64a	0,170	1,96a	1,81a	1,86a	0,753
Acidez	5,07a	5,14a	5,22a	0,173	5,25b	5,12ab	5,06a	<b>0,049</b>
Tanino	5,45a	5,29a	5,46a	0,076	5,46b	5,27a	5,46b	<b>0,041</b>
Astringencia	5,37b	5,15a	5,27ab	<b>0,048</b>	5,27	5,22	5,30	0,688
Untuosidad	4,22b	3,92a	4,37b	<b>0,001</b>	4,26b	4,01a	4,24b	<b>0,045</b>
Retrogusto	5,33b	4,87a	5,39b	<b>0,002</b>	5,37	5,02	5,20	0,087
Persistencia	5,39b	5,00a	5,49b	<b>0,001</b>	5,43	5,14	5,31	0,093

Los descriptores sensoriales correspondientes al perfil **aromático y gustativo** que alcanzaron diferencias significativas en los vinos en contacto con **distintos sistemas** se muestran en las gráficas 38 y 39. Destaca la caracterización de los vinos envejecidos en contacto con tablonos como los más afrutados. Entre los aromas propios del envejecimiento de los vinos, se observa que aromas como especiados, madera, otros aromas secundarios y terciarios y tabaco son identificados en mayor concentración en los vinos envejecidos en contacto con astillas a los 2 meses de envejecimiento, posiblemente por la rápida capacidad de extracción de los compuestos volátiles causantes de estos aromas en maderas de pequeño tamaño, como son las astillas. Sin embargo, a los 12 y 18 meses de envejecimiento los descriptores especiados o madera han sido más valorados en vinos envejecidos en barricas, donde la extracción es más lenta, pero alcanzan umbrales de detección más elevados. Atributos como tabaco y cuero, propios de un vino con un envejecimiento prolongado, se alcanzan con mayor rapidez en los vinos envejecidos en contacto con astillas, característico de un envejecimiento acelerado. Para estos dos descriptores el vino en contacto con tablonos alcanza las puntuaciones más bajas, son considerados vinos más jóvenes. Autores como Hernández, P. et al., (2014) han clasificado a los vinos que maceran en fragmentos de roble como vinos con mayor concentración en vainillina, acetovanillona y siringaldehído; relacionados con aromas a vainilla; frente a los fermentados en barricas que los han clasificados como vinos con mayor concentración en eugenol, fenoles volátiles, cis  $\beta$ -metil  $\gamma$ -octolactona y derivados de furfural; relacionados con aromas a especiados, clavo, tabaco y ahumados. Chatonnet (2008) encontró que cuando los pequeños fragmentos de roble se tuestan utilizando las corrientes de convección, la generación de aldehídos fenólicos se incrementa en comparación al tostado de las barricas sobre el fuego, que hace aumentar la concentración del eugenol (2-metoxi-4-(2-propenil)-fenol) contribuyendo al carácter especiado, clavo y humo en vinos envejecidos en madera (Aiken, W. et al., 1984; Feuillat, F. et al., 1999).

En la **fase gustativa** los catadores han valorado con mayor puntuación a los vinos envejecidos en barricas en atributos como astringencia, untuosidad, retrogusto y persistencia, alcanzando la mayor diferenciación en envejecimientos prolongados (18 meses). Estos vinos han sido los mejor valorados por los catadores. Parece que la extracción de compuestos fenólicos propios de la madera que aportan estos atributos han sido extraídos demasiado rápido en los productos alternativos, lo que ha acelerado el proceso de envejecimiento de los vinos, principalmente cuando el vino ha dejado de estar en contacto con la madera, no permitiendo a estos vinos envejecimientos prolongados en el tiempo.



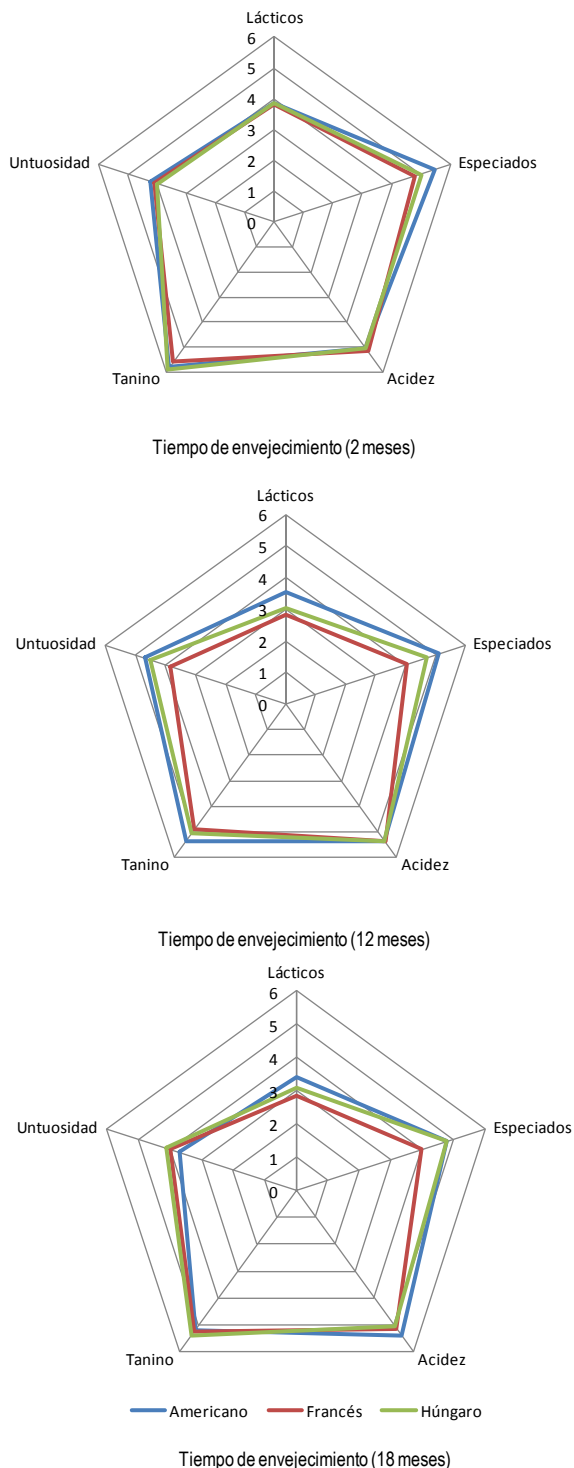
Gráfica 38: Análisis sensorial a los 2, 12 y 18 meses de envejecimiento en distintos sistemas (fase olfativa)



Gráfica 39: Análisis sensorial a los 2, 12 y 18 meses de envejecimiento en madera en distintos sistemas (fase gustativa)

Los vinos envejecidos en maderas de roble de **distintos orígenes** se han representado en la gráfica 40. Se ha observado una importante relación de los aromas lácticos con la madera de roble americano, como era previsible dada la importante cesión de cis  $\beta$ -metil  $\gamma$ -octolactona, aunque también puede deducirse que su umbral de percepción es diferenciado por los expertos en los vinos a los 12 y 18 meses de

envejecimiento. Ojeda, S. (2013) ha observado a nivel analítico un aumento de este compuesto en el roble americano a los 6 meses de envejecimiento.



**Gráfica 40:** Análisis sensorial a los 2, 12 y 18 meses de envejecimiento en distintos sistemas (fase olfativa )

Se aprecia por el contrario una elevada concentración de aroma especiados también en maderas de origen americano, aunque se definen como aromas característicos de roble francés y húngaro (*Quercus petraea*). Parece que los catadores no han relacionado este aroma con el roble francés o su complejidad aromática ha mitigado tales aromas, aunque Ojeda, S. (2013) ya observara que los catadores otorgaban mayor puntuación de este descriptor en los vinos envejecidos en barricas de roble americano después de 18 meses. También Hernández, P. et al. (2014) encontraron mayor concentración del compuesto volátil eugenol, característico de aromas especiados en el vino envejecido en madera de roble americano tanto en fragmentos de madera como en barrica.

La descripción gustativa establece que acidez, tanino y untuosidad se perciben valoraciones inferiores en los vinos envejecidos en roble de origen francés. El vino envejecido 18 meses en roble americano se posiciona en valores más altos de acidez y menos untuosidad. Autores como Cadahía, E. (2004) y Fernández, B. et al. (2003a) observaron que el vino envejecido en roble americano a los 12 meses de crianza una valoración peor en parámetros gustativos como redondez y equilibrio.



### V.1.8.2. Análisis multivariante de los vinos sometidos a envejecimiento en distintos sistemas y madera de diferentes orígenes

Para completar las características más diferenciadoras de los descriptores analizados en la valoración sensorial se ha realizado un análisis discriminante lineal (LDA) y una representación gráfica del análisis de componentes principales de los resultados más significativos determinados en el ANOVA (tabla 21), para diferenciar a los distintos sistemas de envejecimiento empleando depósitos con incorporación de astillas y tablonos y barricas. Además, para reducir la variabilidad causada por el origen de la madera en el envejecimiento, se han analizado los vinos en relación a sus sistemas de envejecimiento con los orígenes del roble por separado.

Se trata de establecer marcadores de envejecimiento que permitan diferenciar a los vinos por su sistema de envejecimiento. El procedimiento LDA es una técnica donde el número de categorías y las muestras que pertenecen a cada categoría son previamente definidos. El análisis discriminante lineal permite obtener funciones discriminantes, en las que se clasifican las variables independientes por grupos de unidades, de manera que se obtenga una máxima discriminación entre los grupos. Extrayendo las componentes principales de acuerdo con el criterio de Káiser (autovalor > 1).

Con los resultados obtenidos se pretende seleccionar las variables que presenten diferencias significativas a lo largo del tiempo de envejecimiento de los vinos, sin diferenciación entre el período de envejecimiento en madera o botella, de esta forma se han seleccionados aquellas variables analíticas capaces de distinguir los vinos por el sistema de envejecimiento (astillas, tablonos y barricas) a través de los resultados obtenidos en el análisis sensorial de los vinos a lo largo de los 18 meses de envejecimiento (tabla 21)

En la tabla 22 se presentan los resultados de los parámetros seleccionados (de acuerdo a la ANOVA realizada, tabla 21) del grupo de descriptores aromáticos y gustativos para realizar el análisis discriminante, en ella se observa el peso de cada atributo evaluado en los vinos tratados con **roble de origen americano** son aromas afrutados, y cuero. El resto de las variables, sin ser significativas, también dan información, aunque el peso de dicha información viene definido por lo importante del p-Level.

**Tabla 22:** Resumen del análisis de funciones discriminantes

	<b>Wilks y apos; Parcial F-remove p-level Toler. 1-Toler.</b>					
<b>Afrutados</b>	0,3010	0,7025	5,0818	<b>0,0144</b>	0,5622	0,4378
<b>Especiados</b>	0,2521	0,8389	2,3046	0,1215	0,2280	0,7720
<b>Otros</b>	0,2153	0,9819	0,2207	0,8036	0,4971	0,5029
<b>Maderas</b>	0,2290	0,9233	0,9973	0,3836	0,1920	0,8080
<b>Tabaco</b>	0,2279	0,9279	0,9325	0,4074	0,2194	0,7806
<b>Cuero</b>	0,2738	0,7722	3,5391	<b>0,0450</b>	0,6229	0,3771
<b>Astringencia</b>	0,2145	0,9860	0,1709	0,8439	0,4268	0,5732
<b>Untuosidad</b>	0,2410	0,8773	1,6788	0,2078	0,4950	0,5050
<b>Retrogusto</b>	0,2144	0,9863	0,1672	0,8470	0,1663	0,8337
<b>Persistencia</b>	0,2204	0,9594	0,5084	0,6078	0,1690	0,8310

Nº de vars en model: 10; Grupos: Tipo (3 grps) Wilks' Lambda: ,21145 aprox. F (20,48)=2,8192 p< ,0017

En la tabla 23 se observa el número de muestras correctamente clasificadas, tanto en clasificación directa como mediante validación cruzada. Se observa que el 86,11 % de los casos se encuentran clasificados correctamente, este resultado es superior al límite establecido del 75 %, por tanto, el modelo obtenido podrá considerarse totalmente válido para diferenciar adecuadamente a los vinos tratados con madera de roble americano por el sistema de envejecimiento. Además, el porcentaje de los casos para cada sistema, es igual o superior al 75 %.

**Tabla 23:** Matriz de clasificación de los vinos envejecidos en distintos sistemas con roble americano

	<b>Porcentaje de casos clasificados correctamente</b>			
	<b>Barricas</b>	<b>Tablones</b>	<b>Astillas</b>	<b>Total</b>
<b>Barricas</b>	91,66	11	0	1
<b>Tablones</b>	75,00	3	9	0
<b>Astillas</b>	91,66	1	0	11
<b>Total</b>	86,11	15	9	12

Filas: casos observados; Columnas: casos predichos

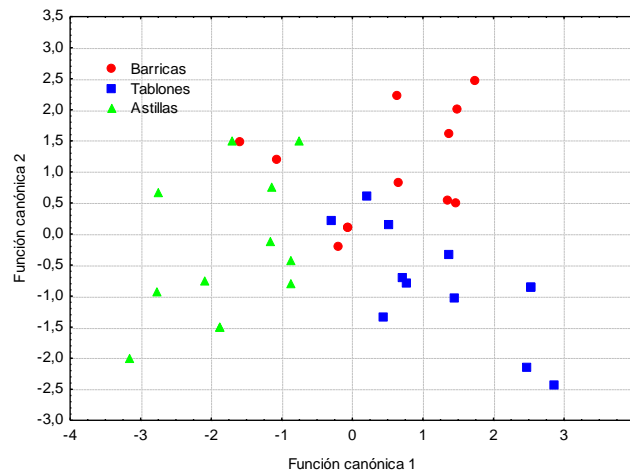
La tabla 24 representa los coeficientes estandarizados de las funciones canónicas discriminantes, que contienen los grupos correlacionados de cada variable predictiva con valores propios de función canónica (función 1 y 2), el total de la varianza explicada y las variables altamente correlacionadas con función 1 y 2, que aparecen destacadas en negrita. Además de la magnitud relativa de los coeficientes, se ha determinado qué variables independientes se utilizarán para discriminar entre grupos. En ella se observa que la función 1 explica el 72,79 % de la varianza, con un valor propio de 1,8164. Seleccionando las variables de esta función canónica con los coeficientes más altos, se observa que en el eje positivo se sitúan las variables, aromas afrutados y persistencia en el sabor y en el eje negativo se localizan las

variables aromáticas especiados y cuero. La función canónica 2 no es capaz de alcanzar un valor propio superior a 1, por lo que no aporta nueva información relevante.

**Tabla 24:** Coeficientes estandarizados de las variables canónicas discriminantes de los vinos envejecidos en distintos sistemas con roble americano

	<b>Función 1</b>	<b>Función 2</b>
<b>Afrutados</b>	<b>0,8818</b>	0,2615
<b>Especiados</b>	<b>-0,7999</b>	-0,8524
<b>Otros</b>	-0,1265	-0,2535
<b>Maderas</b>	0,2115	0,9575
<b>Tabaco</b>	-0,6415	-0,3951
<b>Cuero</b>	<b>-0,5975</b>	-0,5786
<b>Astringencia</b>	0,2203	-0,0631
<b>Untuosidad</b>	0,0147	0,7827
<b>Retrogusto</b>	-0,2868	-0,2703
<b>Persistencia</b>	<b>0,4111</b>	0,5702
<b>Valor propio (Eigenv.)</b>	<b>1,8164</b>	0,6792
<b>% varianza explicada</b>	<b>72,79</b>	100,00

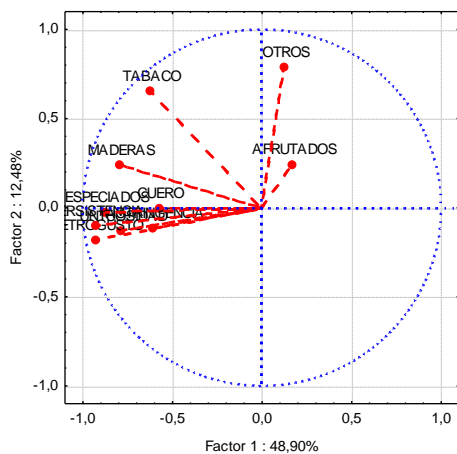
Con las variables seleccionadas se ha realizado una representación gráfica 41 de los vinos estudiados. En ella se observa a los vinos elaborados con barricas y tablonos ocupar un espacio en el gráfico definido por la función canónica 1, perfectamente diferenciado del espacio ocupado por los vinos envejecidos en contacto con astillas, a su vez, tienen una zona predominante en el gráfico. Los vinos envejecidos en barricas y tablonos se sitúan en el eje positivo, definidos por las variables con coeficiente positivo (afrutados y persistencia), se trata por tanto de vinos menos evolucionados, frente a los vinos elaborados con astillas de roble americano, que se sitúan en el eje negativo definidos por especiados y cuero, que determinan a estos vinos con aromas de evolución.



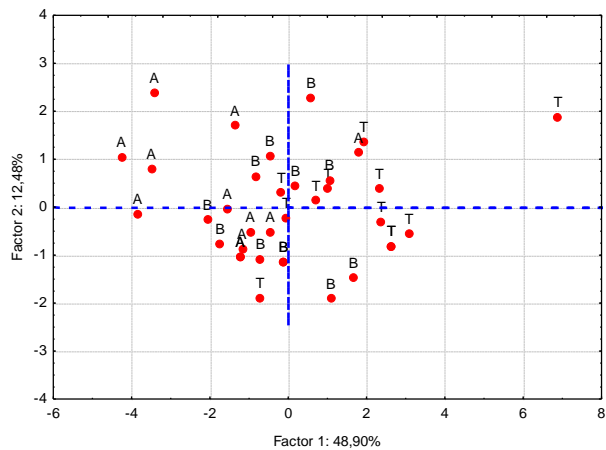
**Gráfica 41:** Análisis discriminante canónico del análisis sensorial de los vinos envejecidos en distintos sistemas con roble americano.

Un desarrollo PCA de las 10 variables más diferenciadoras entre los distintos sistemas de envejecimiento para los vinos en contacto con roble americano han hecho posible diferenciar a los vinos según su sistema de envejecimiento.

Se confirma lo observado anteriormente y parece que la aportación de astillas hace más diferenciadores a los vinos en descriptores como tabaco madera, cuero, especiados, situados en el eje negativo del factor 1 y en el eje positivo del factor 2, quedando los vinos envejecidos en barricas y tablones distribuidos en el resto de los ejes.



**Gráfica 42:** Distribución de las variables en el plano definido por los dos primeros factores de los vinos envejecidos en distintos sistemas con roble americano



**Gráfica 43:** Distribución de los casos en el plano definido por los dos primeros factores de los vinos envejecidos en distintos sistemas con roble americano

En la tabla 25 se presentan los datos seleccionados del grupo de descriptores aromáticos y gustativos para realizar el análisis discriminante de los vinos tratados con roble francés, en ella se observa que no se alcanzan valores diferenciadores en ninguna de las variables de forma significativa para los vinos del roble de origen francés.

**Tabla 25:** Resumen del análisis de funciones discriminantes

	<b>Wilks y apos; Parcial F-remove p-level Toler. 1-Toler.</b>					
<b>Afrutados</b>	0,4172	0,9113	1,1674	0,3282	0,6242	0,3758
<b>Especiados</b>	0,4704	0,8083	2,8455	0,0778	0,4757	0,5243
<b>Otros</b>	0,4816	0,7895	3,1996	0,0586	0,4302	0,5698
<b>Maderas</b>	0,3966	0,9587	0,5172	0,6027	0,5537	0,4463
<b>Tabaco</b>	0,3977	0,9559	0,5531	0,5823	0,5727	0,4273
<b>Cuero</b>	0,4296	0,8850	1,5596	0,2308	0,7404	0,2596
<b>Astringencia</b>	0,3834	0,9916	0,1012	0,9041	0,6576	0,3424
<b>Untuosidad</b>	0,4561	0,8336	2,3956	0,1126	0,4099	0,5901
<b>Retrogusto</b>	0,4340	0,8760	1,6984	0,2042	0,1859	0,8141
<b>Persistencia</b>	0,4563	0,8332	2,4015	0,1120	0,1219	0,8781

Nº. de vars en model: 10; Grupos: Tipo (3 grps) Wilks' Lambda: ,38022 approx. F (20,48)=1,4922 p< ,1285

En la tabla 26 se observan el número de muestras correctamente clasificadas, tanto en clasificación directa como validación cruzada. Se observa que el 75,00 % de los casos se encuentran clasificados correctamente por tanto, el modelo obtenido podrá considerarse con una validez límite para diferenciar adecuadamente a los vinos de origen francés por su sistema de envejecimiento. Este bajo porcentaje es causado por el bajo porcentaje de clasificación alcanzada en los vinos envejecidos en contacto con astillas que se sitúa en un 66,66 %.

**Tabla 26:** Matriz de clasificación de los vinos envejecidos en distintos sistemas con roble francés

	<b>Porcentaje de casos clasificados correctamente</b>	<b>Barricas</b>	<b>Tablones</b>	<b>Astillas</b>
<b>Barricas</b>	75,00	9	0	3
<b>Tablones</b>	83,33	1	10	1
<b>Astillas</b>	66,66	2	2	8
<b>Total</b>	75,00	12	12	12

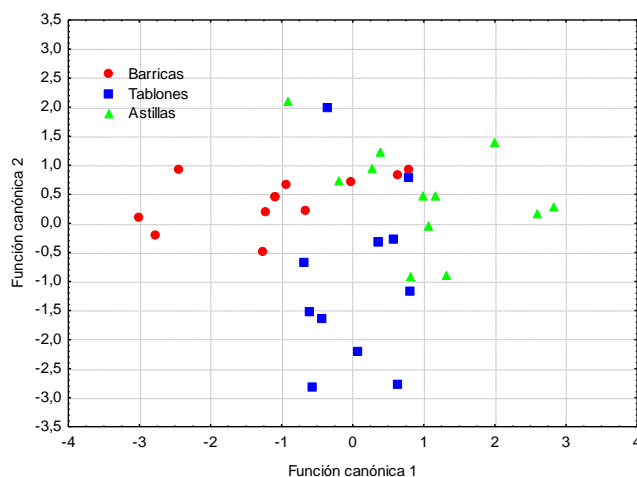
Filas: casos observados; Columnas: casos predichos

La tabla 27 representa los coeficientes estandarizados de las funciones canónicas discriminantes (función 1 y 2), el total de la varianza explicada y las variables altamente correlacionadas con función 1 y 2, que aparecen destacadas en negrita. En ella se observa que la función 1 explica el 64,29 % de la varianza, con un valor propio de 0,1823 para la función 1 y del 100 % de la varianza y con valor propio de 0,4512 para la función 2. Como no se alcanza un valor propio >1, los resultados no se considerarán relevantes para distinguir al sistema de envejecimiento en los vinos en contacto con roble francés. Ahora bien, seleccionando la variable de esta función canónica con el coeficiente más alto en el eje positivo, se observa que se sitúa el descriptor retrogusto y persistencia en el sabor en el eje negativo.

**Tabla 27:** Coeficientes estandarizados de las variables canónicas discriminantes de los vinos envejecidos en distintos sistemas con roble francés

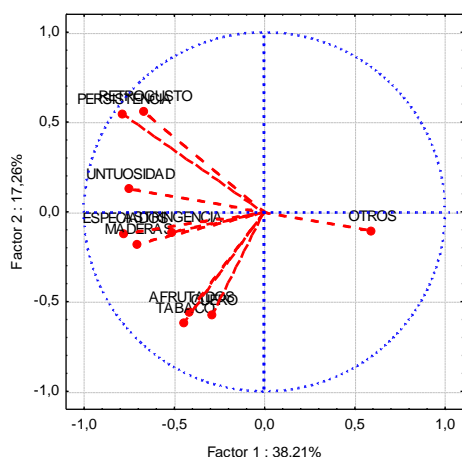
	<b>Función 1</b>	<b>Función 2</b>
<b>Afrutados</b>	0,0928	-0,6666
<b>Especiados</b>	-0,9118	0,3122
<b>Otros</b>	-0,9487	-0,5256
<b>Maderas</b>	-0,2133	-0,4177
<b>Tabaco</b>	0,1103	0,4795
<b>Cuero</b>	-0,4668	0,4307
<b>Astringencia</b>	-0,0314	0,1987
<b>Untuosidad</b>	0,6602	-0,8230
<b>Retrogusto</b>	0,8390	1,0633
<b>Persistencia</b>	-1,6751	-0,5958
<b>Valor propio (Eigenv.)</b>	0,8123	0,4512
<b>% varianza explicada</b>	64,29	100,00

La representación gráfica 44 del análisis discriminante sitúa en el eje positivo a los vinos envejecidos en astillas de roble francés y los define como vinos con un elevado retrogusto, según los resultados aportados por los catadores. En el eje negativo de la función canónica 1 se sitúan los vinos envejecidos en barricas y quedarían definidos como vinos más persistentes. En el centro de ambos sistemas se sitúan los vinos envejecidos en tablonos de origen francés.

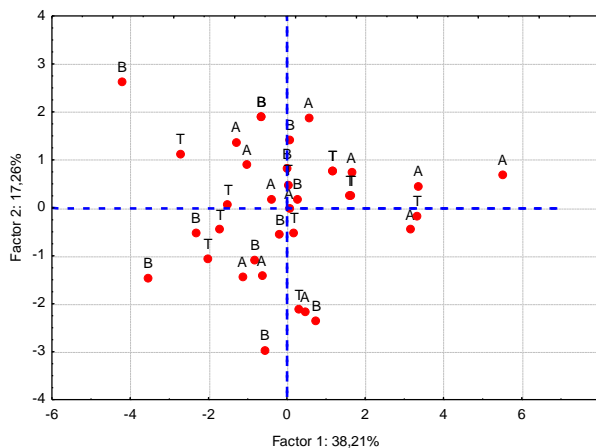


**Gráfica 44:** Análisis discriminante canónico del análisis sensorial de los vinos envejecidos en distintos sistemas con roble francés.

Un desarrollo PCA de las 10 variables más diferenciadoras de los vinos procedentes de los distintos sistemas de envejecimiento con madera de roble francés pero no ha permitido diferenciar en gran medida a los vinos por su sistema de envejecimiento.



**Gráfica 45:** Distribución de las variables en el plano definido por los dos primeros factores de los vinos envejecidos en distintos sistemas con roble francés



**Gráfica 46:** Distribución de los casos en el plano definido por los dos primeros factores de los vinos envejecidos en distintos sistemas con roble francés

El modelo planteado con los datos obtenidos de los vinos en contacto con madera de **roble húngaro**, para diferenciar a los vinos por su sistema de envejecimiento demuestra que los catadores han encontrado diferencias significativas entre los vinos en descriptores como aromas especiados y otros aromas secundarios y terciarios, de entre las variables obtenidas en el ANOVA (tabla 28).

**Tabla 28:** Resumen del análisis de funciones discriminantes

	Wilks y apos;	Parcial F-remove	p-level	Toler.	1-Toler.
<b>Afrutados</b>	0,3036	0,8358	2,3579	0,1162	0,4156 0,5844
<b>Especiados</b>	0,3537	0,7173	4,7283	<b>0,0186</b>	0,3432 0,6568
<b>Otros</b>	0,3330	0,7619	3,7494	<b>0,0383</b>	0,4213 0,5787
<b>Maderas</b>	0,2736	0,9274	0,9396	0,4047	0,3280 0,6720
<b>Tabaco</b>	0,2648	0,9582	0,5236	0,5990	0,2295 0,7705
<b>Cuero</b>	0,3095	0,8198	2,6374	0,0922	0,2229 0,7771
<b>Astringencia</b>	0,2628	0,9654	0,4297	0,6556	0,6515 0,3485
<b>Untuosidad</b>	0,3013	0,8420	2,2520	0,1270	0,3089 0,6911
<b>Retrogusto</b>	0,2808	0,9034	1,2828	0,2956	0,1152 0,8848
<b>Persistencia</b>	0,2830	0,8966	1,3845	0,2697	0,0883 0,9117

Nº. de vars en model: 10; Grupos: Tipo (3 grps) Wilks' Lambda: ,38022 approx. F (20,48)=1,4922 p< ,1285

En la tabla 29 se muestran el número de muestras correctamente clasificadas, tanto en clasificación directa como en validación cruzada. En la matriz de clasificación se ha logrado un 83,33 % del total de casos clasificados correctamente, alcanzando en todos los sistemas el 75,00 % de clasificación correcta, lo que hace del modelo un buen sistema para diferenciar a los vinos.

**Tabla 29:** Matriz de clasificación de los vinos envejecidos en distintos sistemas con roble húngaro

	Porcentaje de casos clasificados correctamente			
	Barricas	Tablones	Astillas	
Barricas	75,00	9	2	1
Tablones	83,33	2	10	0
Astillas	91,66	1	0	11
Total	83,33	12	12	12

Filas: casos observados; Columnas: casos predichos

En tabla 30 se ha obtenido para la función canónica 1 un valor propio de 1,3875, con un porcentaje de varianza explicada del 68,07 %: Con estos resultados el eje positivo estará definido por los vinos con aromas a madera y alto retrogusto. El eje negativo de la función canónica 1 estará definida por las variables aromas especiados, otros aromas secundarios y terciarios y la persistencia del vino en boca.

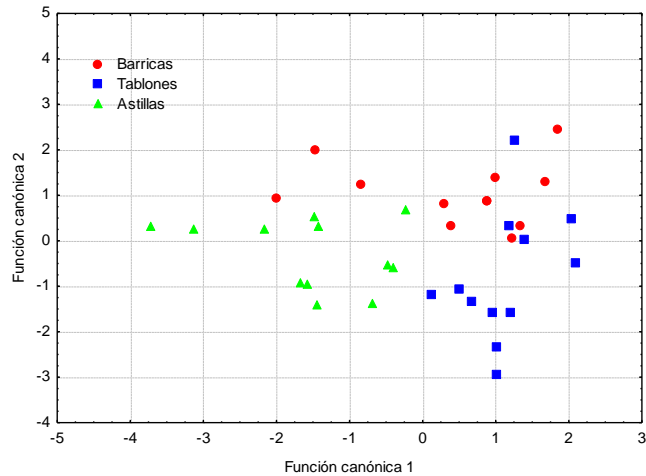
**Tabla 30:** Coeficientes estandarizados de las variables canónicas discriminantes de los vinos envejecidos en distintos sistemas con roble húngaro

	Función 1	Función 2
<b>Afrutados</b>	-0,0085	1,0011
<b>Especiados</b>	<b>-1,1599</b>	0,3253
<b>Otros</b>	<b>-0,9725</b>	-0,1980
<b>Maderas</b>	<b>0,5662</b>	0,2985
<b>Tabaco</b>	0,5535	0,1030
<b>Cuero</b>	-1,1398	-0,3683
<b>Astringencia</b>	-0,1395	-0,3254
<b>Untuosidad</b>	0,5520	0,9211
<b>Retrogusto</b>	<b>0,7585</b>	-1,1304
<b>Persistencia</b>	<b>-1,2472</b>	0,8240
<b>Valor propio (Eigenv.)</b>	<b>1,3875</b>	0,6509
<b>% varianza explicada</b>	<b>68,07</b>	100,00

La gráfica 47 presenta la distribución de los vinos en el espacio de las dos primeras funciones canónicas. Durante el periodo de envejecimiento la función discriminante 1 ha permitido diferenciar y clasificar a los vinos envejecidos en contacto con tablones de madera de origen húngaro, siendo estos vinos valorados por los expertos como los más maderizados y con mayor retrogusto. Estos vinos han quedado situados en el eje positivo de F1. Por otro lado, los vinos elaborados en presencia de astillas de origen húngaro se han encontrado en el eje negativo de F1, donde los catadores han dado mayor valoración a descriptores como especiados, otros aromas secundarios y terciarios y vinos más persistentes tras su paso por boca.

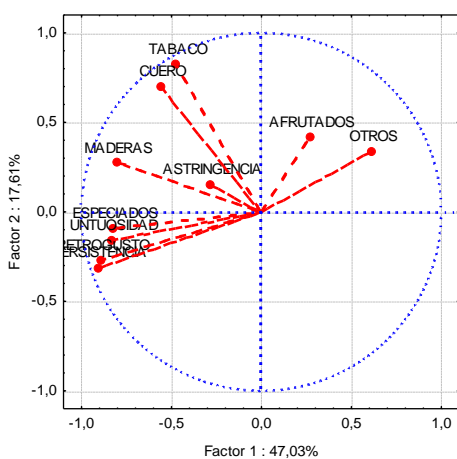


La función discriminante 2 no ha permitido diferenciar el sistema de envejecimiento utilizado, pero tiene una correlación que podría ayudar a diferenciar los vinos envejecidos en barricas de los envejecidos en astillas y tablones de origen húngaro, puesto que se sitúan en el eje positivo de F2. Los descriptores con valores más elevados son aromas afrutados y vinos más untuosos y persistentes en boca, todos ellos descriptores valorados como favorables en un vino de calidad, aunque este resultado no puede ser considerado estadísticamente diferenciador.

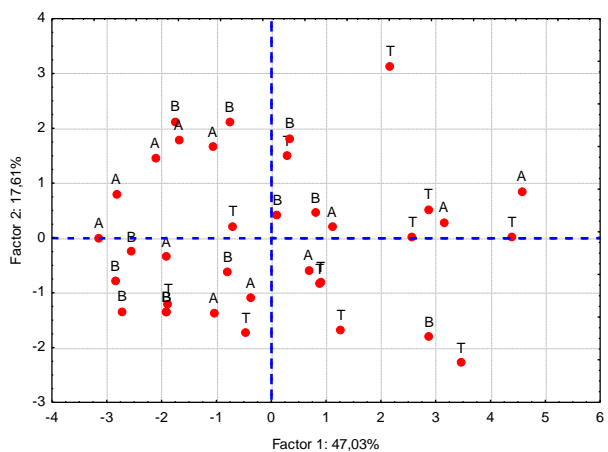


**Gráfica 47:** Análisis discriminante canónico del análisis sensorial de los vinos envejecidos en distintos sistemas con roble húngaro.

El análisis de componentes principales de las 10 variables más diferenciadoras entre los distintos sistemas de envejecimiento en madera de origen húngaro permite obtener la situación de los descriptores en el eje negativo del factor 1 y en todo el eje del factor 2, donde se ubican la mayoría de los vinos definidos por madera, untuosidad, retrogusto y persistencia en el eje negativo del factor 1 y tabaco, cuero, astringencia y maderas en el eje negativo del factor 2.



**Gráfica 48:** Distribución de las variables en el plano definido por los dos primeros factores de los vinos envejecidos en distintos sistemas con roble húngaro



**Gráfica 49:** Distribución de los casos en el plano definido por los dos primeros factores de los vinos envejecidos en distintos sistemas con roble húngaro

De los resultados obtenidos se deduce la capacidad de diferenciar a los vinos por el sistema de envejecimiento empleado, en función del origen de la madera utilizado en la fabricación de las astillas, tablonos y barricas. Los resultados obtenidos para el vino D.O. Cigales ya han sido publicados por el grupo UVA-MOX (Del Álamo, M. et al., 2008), donde se realizó un análisis discriminante de las variables analíticas con ANOVA significativo, observándose que durante los primeros seis meses de envejecimiento vinos almacenados con duelas adquirirían características que quedaban representadas entre los vinos tratados con astillas y barricas, sin embargo al aumentar el período de envejecimiento a 2 años los vinos adquirirían diferencias más significativas, siendo posible diferencias a los vinos envejecidos en barricas de los que habían permanecido en depósitos en contacto con astilla y tablonos.

### V.1.9. Conclusiones del capítulo 1

Tras analizar los resultados obtenidos en el capítulo 1, es posible enumerar las conclusiones que parecen más relevantes en relación a las diferencias encontradas en la evolución de los parámetros analizados en el vino Tinto D.O. Cigales, tras permanecer 12 meses en recipientes de distintos tamaños (225 y 300 L), con diferentes sistemas de envejecimiento (astillas, tablonos y barricas) y con maderas de diferentes orígenes geográficos (americano, francés y húngaro) y 12 meses en botella.

- Si se observa lo ocurrido en el vino tras su paso por recipientes de **diferente tamaño (225 y 300 L)**, de manera general:

Los vinos envejecidos en recipientes con relación superficie de madera / volumen de vino de 225 L han alcanzado los valores más elevados en acidez total, menor densidad, una alta polimerización de fenoles (PMP), mayor formación de aldehído protocatéquico, ácido gentísico y el vitisín A. Cuando se analiza la relación superficie de madera / volumen de vino de 300 L los vinos atenúan la pérdida de extracto seco, presentan mayor cantidad de fenoles (PT Folin) en botella (15-26 meses), se mitiga la polimerización de los fenoles, alcanzando los vinos mayor nivel de ácido caféico, ácido p-cumárico y ácido ferúlico y dos antocianos acilados (cianidín y peonidín) en madera y de los dos primeros y vanillina en botella.

- Cuando se tiene en cuenta el **sistema de envejecimiento (astillas, tablonos y barricas)** se han observado las mayores diferencias entre vinos:

Las diferencias entre los vinos de los distintos sistemas aumentan especialmente cuando el vino permanece en bodega, mientras que los vinos en contacto con astillas y tablonos, se podrían definir como grupo homogéneo de alternativos. Además se observa un aumento en la diferenciación de los vinos en botella, alcanzando los vinos que permanecieron en bodega concentraciones más altas (99,99 % de significación) de ácido tartárico, glicerol, IPT, antocianos totales, grado alcohólico, extracto seco, sulfuroso libre, azúcares, densidad y pH, componente roja (%A520), tonalidad (T), importancia de la componente roja %dA, coordenada a\* y croma (C\*) menor concentración de polifenoles totales (PT Folin) en los últimos meses de envejecimiento en botella, menores niveles de fenoles muy polimerizados (PMP) debido a la menor polimerización, causada por una menor extracción de elagitaninos y otros compuestos

de la madera. Estos resultados sugieren una evolución más acelerada cuando se emplean alternativos, permitiendo esta técnica acortar los tiempos de envejecimiento.

El envejecimiento en barrica provoca en los vinos un incremento de la tonalidad amarilla y la tonalidad roja (%A520 y a\*), debido a la oxidación del vino, los procesos de copigmentación o la extracción de compuestos fenólicos de la madera, produciendo una estabilización de la materia colorante. Ya que en fase de botella los vinos se mantienen más luminosos (L), presentan menor relación de pigmentos poliméricos (i e ii) los vinos envejecidos en barricas, y de color debido a los antocianos ( $\alpha$  y  $\alpha\alpha$ ) en el período de botella. Siendo estos parámetros un poco más elevados en los vinos en contacto con tablonos que en astillas en su fase de envejecimiento en botella. Se ha observado que después del proceso de embotellado el vino aumenta el contenido en pigmento polimérico que contribuiría a incrementar la intensidad colorante y la componente roja del color.

Las concentraciones en los vinos de los antocianos; en general para todos los antocianos monómeros y acilados (derivados del ácido p-cumárico y del ácido acético); han sido significativamente mayores en el primer periodo de contacto con madera que en botella y los valores más altos se mantuvieron en los vinos envejecidos en las barricas, seguido por los vinos tratados con astillas y, finalmente, los vinos en contacto con tablonos. Un mayor nivel de copigmentación en los vinos de la barrica protegería a los polifenoles e inhibiría la polimerización ya que muchos de los flavonoides actuaron como cofactores debido a que la cesión de los taninos de la madera a los vinos de las barricas es más lento por su mayor dificultad de extracción de la misma, produciendo un menor nivel de condensación con taninos.

Destaca una menor concentración de ácidos hidroxicinámicos en los vinos que permanecieron en contacto con barricas y una mayor concentración de ácidos hidroxibenzoicos y epicatequina en los vinos de las barricas, seguida de los vinos envejecidos en tablonos. Parece que el tamaño de la madera tiene una importante influencia sobre la extracción de estos compuestos de la misma, posiblemente a la forma en la que el vino accede a la estructura de la madera.

Las modificaciones de los parámetros de copigmentación en los vinos parecen estar influenciadas principalmente por el sistema de envejecimiento, encontrándose valores más elevados de copigmentación (C y COP) y menor color debido al pigmento polimérico (Ep) en el vino de las barricas en la fase final de la estancia en botella, por lo que puede concluirse que la barrica es el recipiente que mantiene a los vinos con valores más elevados de color copigmentado y menos polimerizado.

Los resultados obtenidos en el análisis sensorial sugieren que vinos envejecidos en contacto con tablonos son los más afrutados. Entre los aromas propios del envejecimiento de los vinos, se deduce que aromas como especiados, madera, y tabaco son identificativos de vinos envejecidos en contacto con astillas al inicio del envejecimiento, debido a la facilidad de extracción de los compuestos volátiles causantes de estos aromas en alternativos de pequeño tamaño, como son las astillas. Sin embargo, a los 12 y 18 meses de envejecimiento los descriptores especiados o madera han sido más puntuados en vinos envejecidos en barricas.

En la fase gustativa los catadores han valorado con mayor puntuación a los vinos envejecidos en barricas en atributos como astringencia, untuosidad, retrogusto y persistencia, alcanzando la mayor diferenciación en envejecimientos prolongados (18 meses) y siendo estos vinos los mejor valorados por los catadores. Parece que la extracción de compuestos fenólicos propios de la madera que aportan estos atributos han sido extraídos demasiado rápido por los vinos en contacto con productos alternativos, lo que ha acelerado su proceso de envejecimiento, principalmente cuando el vino pasa a botella.

De los resultados obtenidos en el análisis multivariante se deduce la capacidad de diferenciar a los vinos por el sistema de envejecimiento empleado, en función del origen de la madera utilizado en la fabricación de las astillas, tablonés y barricas.

▪ Respecto al **origen geográfico del roble (americano, francés y húngaro)**:

Se han encontrado diferencias significativas en los vinos envejecidos en roble húngaro en los parámetros básicos como acidez total, acidez volátil y densidad, incrementándose las diferencias en botella, con valores inferiores, excepto para la acidez volátil. También presentan un mayor grado alcohólico, que afecta a los parámetros de color principalmente por su relación con la etanolisis de la madera. Menor concentración en azúcares. Más color rojo (%A520), tono (T), oscuridad (L), componente roja ( $a^*$ ). Aunque no es significativo, presentan menor concentración de catequinas (período de madera) y taninos (período de botella). Menor concentración de peonidín-3-glucósido y malvidín-3-glucósido, pero los más elevados en cuando a antocianos acilados (Vitisín A, cianidín-3-glucósido acetilado). El vino que ha permanecido en contacto con roble húngaro también presenta diferencias de concentración en ácido gentísico, ácido caféico, ácido p-cumárico y ácido ferúlico, sin embargo, tras un período prolongado en botella las diferencias desaparecen y sólo se mantienen para el ácido benzóico y el ácido caféico. El origen de la madera no parece ser determinante en la aportación de ácido gálico en el vino.

El color debido al pigmento polimérico (Ep) en el vino en contacto con roble húngaro alcanza los valores más altos para los vinos envejecidos en la bodega de 225 L de capacidad, siendo el roble húngaro la madera que más color polimérico aporta a los vinos. Aquellos vinos que en la primera fase de envejecimiento alcanzan valores muy elevados en tono (H) (relacionado con compuestos polimerizados o aumento de copigmentos amarillos) en la segunda fase en botella lo pierden más rápidamente, porque al continuar con la polimerización la materia colorante alcanza un tamaño tal que acaban precipitando y perdiéndose en el vino.

Se ha encontrado una mayor percepción de aromas lácticos y madera en los vinos tratados con la madera de roble americano, como era previsible dada la importante cesión de cis  $\beta$ -metil  $\gamma$ -octolactona aunque su umbral de percepción es diferenciado por los expertos en los vinos tras 12 y 18 meses de envejecimiento. La rápida extracción de aromas especiados también se logra en los vinos envejecidos en roble americano, que presentan una mayor intensidad aromática. En fase gustativa y con envejecimientos prolongados (18 meses), estos vinos se posicionan con los valores más altos de acidez y menor untuosidad.

## *Capítulo 1*

Los vinos envejecidos en roble francés destacan en la fase gustativa por ser menos ácidos, tánicos y untuosos.



## V.2. CAPÍTULO 2: EFECTO DE LA DOSIFICACIÓN DE OXÍGENO Y DE LA ADICIÓN DE ASTILLAS DE ROBLE FRANCÉS EN LAS CARACTERÍSTICAS FENÓLICAS DE LOS VINOS TINTOS ELABORADOS CON LA VARIEDAD TEMPRANILLO.

### V.2.1. Resumen

Este capítulo recoge los resultados obtenidos del estudio de la influencia del tratamiento de microoxigenación sobre las características fenólicas de los vinos tintos elaborados con dos clones de la variedad Tempranillo de Castilla y León (Tinto del País de la D.O. Cigales y Tinta de Toro de la D.O. Toro) Se han comparado los resultados obtenidos de la evolución de los vinos que han permanecido en contacto con astillas de roble de origen francés (*Quercus petraea*) de tostado medio distintas dosis de oxígeno.

La finalidad del estudio ha sido determinar el efecto de la aportación o no de oxígeno al vino durante su fase de envejecimiento en contacto con madera y sus repercusiones a lo largo de la permanencia en botella. Para eliminar el efecto producido por las diferencias enológicas de los vinos elaborados con una variedad de diferente zona geográfica se ha restado el valor del vino inicial (T0) de cada parámetro a lo largo de los sucesivos muestreos con el fin de evaluar la modificación respecto a la situación inicial. Los resultados se han expresado en tanto por ciento (%) respecto al valor inicial de cada parámetro medido en el vino tinto de cada variedad (T0), de esta forma se ha obtenido el porcentaje de aumento o disminución de cada parámetro en cada momento de estudio, con respecto a su valor inicial.

Se presentan los resultados de los vinos obtenidos tras su permanencia en depósito de acero inoxidable con incorporación de astillas de roble en ausencia de oxígeno (durante 12 meses en el vino de la D.O. Cigales) y con microoxigenación (durante 6 meses en el vino de la D.O. Toro) y su posterior envejecimiento en botella (16 meses en el vino de la D.O. Cigales y 22 meses en el vino de la D.O. Toro), con un total de 8 muestreos realizados por duplicado a cada sistema (32 muestras analizadas). Los resultados indicarán si el compuesto analizado aumenta o disminuye su concentración a lo largo del proceso de envejecimiento en función del sistema en el que ha permanecido el vino (con o sin oxígeno).

Se han analizado parámetros básicos y de color y edad química de los vinos durante un período de 0 a 28 meses de envejecimiento total, compuestos fenólicos de bajo peso molecular desde el inicio hasta los 19 meses de estudio y los antocianos monómeros y acilados de 0 a 12 meses de envejecimiento. Este tiempo de estudio se ha establecido para hacer coincidir los muestreos de ambos experimentos (vino de DO Cigales y DO Toro), por lo que no ha sido posible comparar más tiempo, al faltar los datos de los compuestos fenólicos de bajo peso molecular y antocianos pormenorizados por HPLC de tomas posteriores en los vinos de DO Toro.

### V.2.2. Vinos estudiados

El vino elaborado con la variedad Tinto del País de la Denominación de Origen Cigales, adquirido de la bodega La Legua S.L. (Fuensaldaña), se ha envejecido en depósitos de acero inoxidable de 100 L de capacidad en contacto con 2,01 m<sup>2</sup> de astillas de roble de origen francés (*Quercus petraea*) con tostado medio suministradas por la tonelería Magreñán con un tamaño medio de entre 7 a 20 mm. El vino ha permanecido durante 12 meses en contacto con las astillas y en ausencia de aportaciones de oxígeno, contando por tanto con el oxígeno propio de las astillas. Posteriormente se ha embotellado y ha permanecido 16 meses en botella, alcanzando un tiempo total de envejecimiento de 28 meses.

El vino elaborado con la variedad Tinta de Toro, adquirido de la bodega Viña Bajoz (Morales de Toro), se ha envejecido en depósitos de acero inoxidable de 210 L de capacidad en contacto con 2,01 m<sup>2</sup> de astillas de roble de origen francés (*Quercus petraea*) suministrados por la tonelería Doreau con un tamaño medio de entre 7 a 10 mm a los que se les ha efectuado un tostado medio. El vino ha permanecido durante 6 meses en contacto con las astillas con aportaciones de oxígeno a través de un equipo dosificador Ducounau-Laplace (OENODEV). La cantidad de oxígeno aportado ha sido variable en función de los valores de oxígeno disuelto, oscilando entre 0,01 a 0,1 mL/L.mes. Posteriormente se ha embotellado y ha permanecido 22 meses en botella, alcanzando un tiempo de envejecimiento total de 28 meses. El proceso de microoxigenación así como su control, se ha comentado en materiales y métodos.

### V.2.3. Parámetros enológicos básicos de los vinos

Los datos obtenidos de los parámetros enológicos básicos de los dos vinos estudiados se muestran en la tabla 31, así como los resultados del análisis ANOVA realizado. Los datos del p-level mostrados en color negro corresponden a los parámetros en los que se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los vinos envejecidos con o sin aportaciones de oxígeno.

Se han encontrado diferencias significativas (99,95 %) entre los vinos envejecidos con madera y aportación de oxígeno (Madera-MOX), frente a los vinos que han permanecido sólo en contacto con madera (Madera). Concretamente el glicerol, extracto seco y pH han sido significativamente más altos en vinos que han permanecido en contacto con madera y oxígeno, siendo significativamente más bajos su contenido en ácido tartárico, antocianos totales, acidez total, acidez volátil y azúcares.



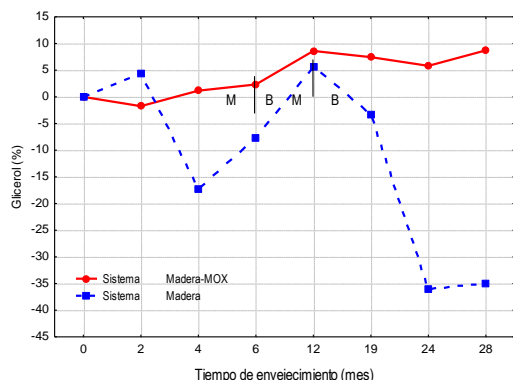
**Tabla 31:** Valores medios en porcentaje de la variación de los parámetros básicos, compuestos fenólicos y color de los vinos envejecidos (de 0 a 28 meses) en depósitos de acero inoxidable junto a astillas de roble francés de tostado medio con y sin aportación de oxígeno. Resultados de la ANOVA

Parámetro	Madera-MOX	Madera	p-level
Ácido tartárico	-27,1875a	-8,1081b	<b>0,000</b>
Glicerol	4,0407b	-11,1806a	<b>0,000</b>
Antocianos totales	-42,0539a	-26,5761b	<b>0,000</b>
K	-6,30252a	-4,01786b	0,375
IPT	-4,75852a	-3,62903a	0,206
Grado alcohólico	0,999088a	0,326493a	0,112
Extracto seco	2,22039b	-3,20230a	<b>0,000</b>
Acidez total	2,980769a	9,913793b	<b>0,000</b>
Acidez volátil	9,44444a	20,90517b	<b>0,049</b>
SO <sub>2</sub> libre	-39,2578a	-19,4853b	0,060
Azúcares	4,32692a	13,54167b	<b>0,048</b>
Densidad relativa	-12,4577a	-0,0421a	0,236
pH	1,335312b	-0,695387a	<b>0,010</b>
PT Folin	-4,63450a	7,37339b	<b>0,000</b>
PPP	-12,9024a	-2,0410b	<b>0,011</b>
PMP	16,26748a	20,14247a	0,748
CAT	-6,37082a	-4,96983a	0,579
TAN	-19,0703a	-1,9052b	<b>0,000</b>
IC	-12,3408a	-6,3347b	<b>0,050</b>
T	21,39996b	4,75969a	<b>0,000</b>
%A420	11,09438b	4,12488a	<b>0,004</b>
%A520	-5,71396a	-3,16198b	<b>0,001</b>
%A620	-2,27471a	-0,79187a	0,236
%dA	1,95645b	-5,51173a	<b>0,000</b>
L	2,130655a	5,134058b	<b>0,007</b>
a*	0,0805b	-12,3094a	<b>0,001</b>
b*	143,6888a	172,2523	0,399
H	133,5074a	138,4357a	0,905
C*	0,5238b	-10,7207a	<b>0,000</b>

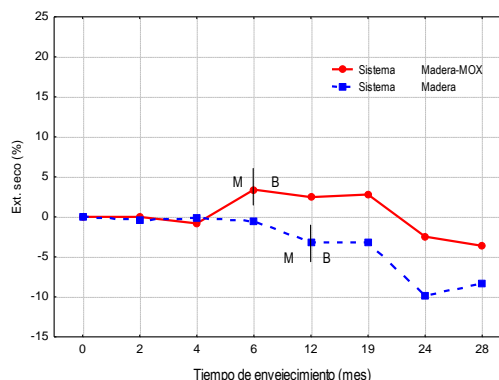
Para cada factor, letras distintas en la misma fila indican diferencias estadísticamente significativas, en negrita se muestra el p level con significación > 95 % ( $p < 0,05$ ) expresado en % (v/v)

La presencia de **glicerol** en un vino radica en su importancia organoléptica, debido a que su presencia aporta a los vinos suavidad y sensación aterciopelada, buscándose por tanto en los vinos tintos valores elevados que, en el caso de los vinos envejecidos en madera, ayuden a mitigar la sensación de sequedad y astringencia proporcionados por los taninos presentes en el vino final. Se observa en la gráfica 50 un ligero aumento de la cantidad de glicerol a lo largo de todo proceso de envejecimiento (madera-botella) de los vinos en contacto con astillas y microoxigenados (Madera-MOX). Sin embargo, los vinos envejecidos al abrigo del aire han perdido glicerol principalmente a lo largo de su envejecimiento en

botella con una pérdida de hasta aproximadamente el 35 % sobre el valor inicial. Parece significativo por tanto, el efecto positivo del mantenimiento del glicerol, la presencia de oxígeno en un vino.



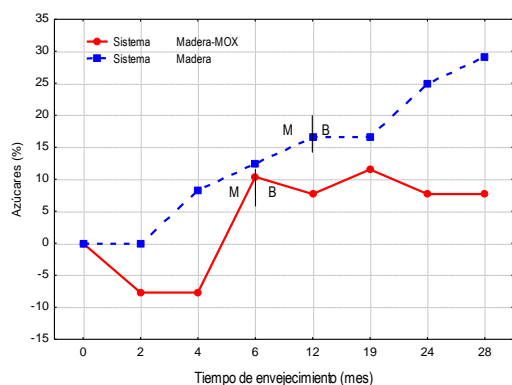
**Gráfica 50** : Comparación de la evolución del glicerol (%) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX



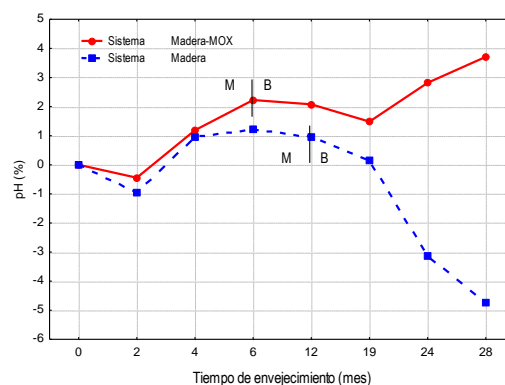
**Gráfica 51**: Comparación de la evolución del extracto seco (%) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX

En la gráfica 51 se observa que el **extracto seco** de los vinos a lo largo del envejecimiento en madera presenta valores estables para los vinos en contacto con astillas que no han recibido aportaciones de oxígeno, sin embargo cuando el vino ha sido sometido a contacto con astillas y en presencia de oxígeno, la cantidad de extracto seco ha aumentado ligeramente, produciendo una menor pérdida al final del proceso de envejecimiento en botella (entre los 24 y 28 meses de envejecimiento). La presencia de partículas en suspensión entre los meses 6 y 19 en los vinos que han permanecido en contacto con madera y microoxigenación podría ser la causa de este ligero aumento del extracto seco durante este período, como ya se indicara en el capítulo 1.

La cantidad de **azúcares** en los vinos ha aumentado con el envejecimiento (gráfica 52), este aumento como se indicara en el capítulo 1, podría deberse a la hidrólisis de los antocianos glucosilados, con la liberación de glucosa, así como azúcares cedidos al vino por los taninos hidrolizables de la madera. El aporte de oxígeno durante el primer período ha influido de forma estadísticamente significativa en el contenido de azúcares, de manera que los vinos en contacto con astillas sin aporte de oxígeno han presentado mayor contenido de azúcares (aumentando su concentración hasta un 35 % respecto al valor inicial) que en los vinos envejecidos con astillas y oxígeno. Podría deducirse que el aporte de oxígeno parece influir significativamente en una menor liberación de azúcares tanto por hidrólisis de los antocianos del vino, como de los taninos provenientes de la madera, alcanzando valores más bajos en la concentración de los azúcares en los vinos microoxigenados, concentración que se mantiene en botella. Sin embargo, en los vinos no microoxigenados el contenido en azúcares continuaría aumentando incluso en botella, lo que nos indica la continuidad de las reacciones sin presencia de madera.



**Gráfica 52:** Comparación de la evolución de los azúcares (%) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX



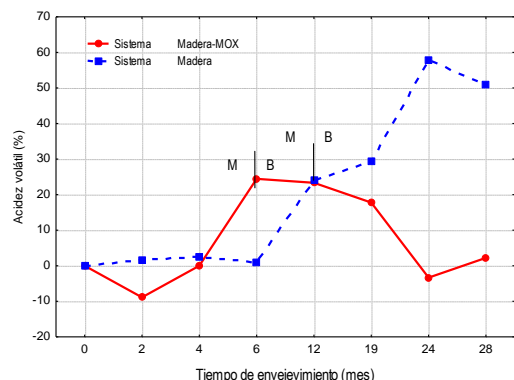
**Gráfica 53:** Comparación de la evolución del pH (%) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX

El valor del **pH** de los vinos que han estado recibiendo dosis de oxígeno ha aumentado a lo largo del proceso de envejecimiento, destacando que la diferenciación se ha acentuado cuando el vino ha estado unos meses en un ambiente reductor (botella) (gráfica 53). Así se podría deducir que el contacto con oxígeno en una primera fase de envejecimiento (madera-MOX) tiene un efecto decisivo sobre el aumento del pH cuando el vino es embotellado y permanece en un ambiente reductor. Este es un hecho importante, ya que los valores de pH afectan directamente el equilibrio entre las formas rojas e incoloras de los antocianos; así, a pH alto el catión flavilium (color rojizo) se podría convertir en especies incoloras (Brouillard, R. et al, 1989). El valor de pH parece estar correlacionada negativamente con la intensidad del color del vino y el porcentaje de rojo (abs. 520 nm). Sin embargo, este dato requiere cierta precaución en la interpretación de los resultados dado que el pH guarda una importante relación con la acidez total. Si se observa la gráfica 54 de la acidez total se comprueba un importante aumento en los vinos envejecidos en contacto con madera no microoxigenados relacionado a su vez con un importante aumento de la acidez volátil, que sería la explicación más razonable a la disminución de pH.

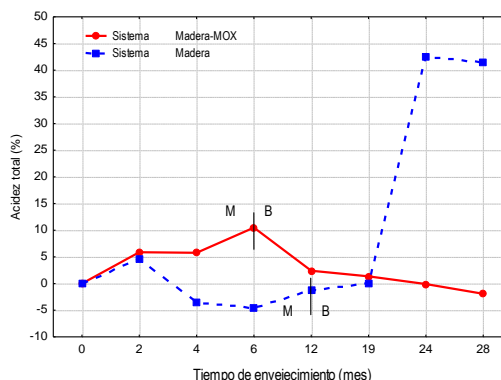
Es interesante destacar que durante el período de aportación de oxígeno (1-6 meses) en contacto con madera el valor de la **acidez total y la acidez volátil** del vino aumenta, con valores por encima de los vinos que no han tenido aportaciones de oxígeno, pero en la fase de botella estos valores se reducen alcanzando concentraciones inferiores a los vinos al abrigo del aire. No siendo por tanto, la aportación de oxígeno un efecto negativo sobre la calidad final de los vinos en términos de acidez volátil. Estos resultados coinciden con los encontrados por Cano, M., et al. (2006) y Sánchez, M. (2007) para los parámetros pH y acidez total en un vino de la variedad Tinto del País, aunque se debe tener en cuenta que en este estudio las aportaciones de oxígeno se aplicaron al final de la fermentación maloláctica realizando una comparación entre un vino testigo y otro vino al que se ha microoxigenado, para posteriormente envejecer los vinos en barricas de roble.

Si se observa la gráfica 54 se deduce que la acidez volátil de los vinos en contacto con astillas y aportación de oxígeno han presentado un leve aumento temporal de la acidez volátil durante su estancia en depósitos con microoxigenación y en presencia de astillas (2-6 meses). Este aumento puede ser causado por dos reacciones en las que están presentes los grupos acetilados, por una parte la cesión de

grupos acetilo procedentes de la hemicelulosa de la madera (Del Álamo, M. et al., 2006a) y por otra parte, por las reacciones de oxidación del etanol a ácido acético (González, L. A. et al., 2006).



**Gráfica 54:** Comparación de la evolución de la acidez volátil (%) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX

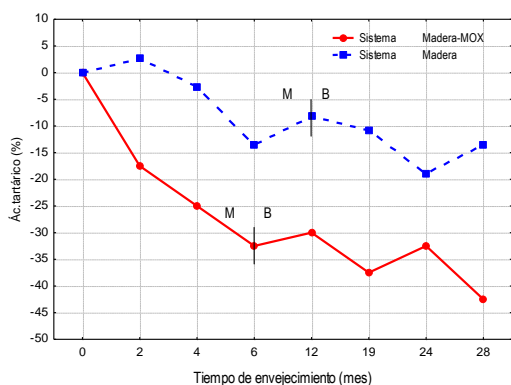


**Gráfica 55:** Comparación de la evolución de la acidez total (%) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX

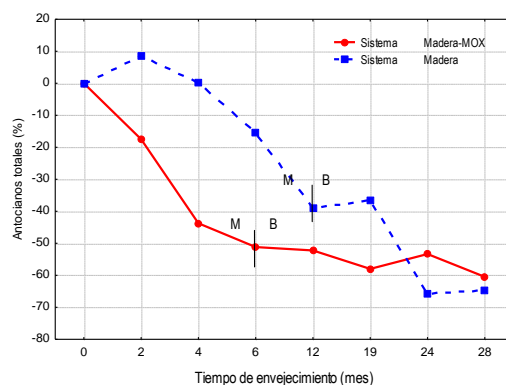
También se comprueba (gráfica 55) que un aumento de la acidez total podría atribuirse al aumento de la acidez volátil, así cuando el valor de la acidez volátil se ve considerablemente incrementada, como se observa en los meses finales de envejecimiento en botella para el vino al abrigo del oxígeno en el primer período de envejecimiento, también lo hace la acidez total. Sin embargo cuando se produce un aumento moderado de la acidez volátil no parece ser atribuible a una mayor acidez total. Resultado que coincide con lo encontrado por Sánchez, M. (2007).

Aunque no se han encontrado diferencias significativas en la concentración de **anhídrido sulfuroso libre** ( $\text{SO}_2$  libre) entre ambos vinos (con y sin oxígeno), como era de esperar los valores más bajos se mantuvieron en los vinos que han sido microoxigenados. Por lo que se puede decir que existe una relación, aunque no significativa, entre la presencia de oxígeno disuelto en el vino y el contenido de  $\text{SO}_2$  libre en el mismo (tabla 31).

El **ácido tartárico** (gráfica 56) de los vinos descendió durante todo el proceso de envejecimiento (madera-botella), siendo este descenso menos acusado en el período de botella. Esta pérdida de ácido tartárico por precipitación de sales tartáricas y de otros compuestos, permite la estabilización y clarificación de los vinos (Martínez, J., 2000, 2004, 2005a y 2006a y b), produciéndose una precipitación tartárica mayor en los vinos en contacto con madera y oxígeno (lo que podría indicar que la aportación de oxígeno acelera los procesos de estabilización en los vinos). La pérdida de ácido tartárico observada en los vinos envejecidos con microoxigenación es más acelerada que en los vinos sin microoxigenar (gráfica 56). Además, las diferencias en ácido tartárico entre un vino con o sin microoxigenación alcanzan valores de significación del 100 % (tabla 31). Por tanto parece indicar que la aportación de oxígeno acelera la precipitación del ácido tartárico que podría ser debido a la formación de su correspondiente sal y por tanto su inestabilidad.



**Gráfica 56:** Comparación de la evolución del ácido tartárico (%) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX



**Gráfica 57:** Comparación de la evolución de los antocianos totales (%) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX

Los **antocianos libres** de los vinos intervienen en reacciones, bien de condensación y polimerización, así como de cicloadición, dando lugar a nuevos pigmentos más estables (Bakker, J. et al., 1997b; Revilla, I. et al., 1999b; Mateus, N. et al., 2001; Atanasova, H. et al., 2002; Mateus, N. et al., 2002; Vivar, A. M. et al., 2002; Wang, B. et al., 2003; Del Álamo, M. et al., 2004b). Además hay que tener en cuenta que el oxígeno acelera las reacciones de combinación o condensación de los antocianos y flavanoles libres a través de puentes etilo, ya que favorece la formación de acetaldehído (Bosso, A. et al., 2000). La disminución de antocianos totales tanto en vinos en contacto con madera como en vinos con madera y aportación de oxígeno es evidente (gráfica 57), pero destaca una mayor pérdida en los vinos descritos en segundo lugar (madera-MOX), que podría ser debida a una degradación oxidativa producida por la adición de oxígeno. Por tanto, como ya se ha comentado con anterioridad, la aportación de oxígeno no parece ser decisiva en la pérdida de la calidad de los vinos, sin embargo destaca en este estudio la pérdida de antocianos totales durante el proceso de microoxigenación de los vinos, donde la pérdida de antocianos totales es más acusada en los vinos a los que se les aporta oxígeno. Podría ser indicativo por tanto, que la aportación de oxígeno en dosis de 0,01 a 0,1 mL/L.mes más la aportación inicial de oxígeno por parte de las astillas a razón de 14 mg de  $O_2$ /100 g de astillas, ha resultado ser excesiva para el vino estudiado. Aunque la evolución también revela que, en períodos prolongados de envejecimiento (hasta 28 meses), los vinos que inicialmente fueron microoxigenados pierden antocianos totales pero de manera menos acelerada, como indica la curva de la pendiente de la gráfica 57 para el vino madera-MOX.

A continuación se analizará lo que ocurre con los compuestos fenólicos y los antocianos libres de manera individualizada durante la fase de aportación de oxígeno, para explicar las posibles reacciones que tienen lugar entre los diversos compuestos fenólicos cuando existe en el vino oxígeno disuelto y determinar cómo ha afectado la dosis aportada al mismo en dichos parámetros.

#### V.2.4. Compuestos fenólicos, parámetros de color y edad química de los vinos

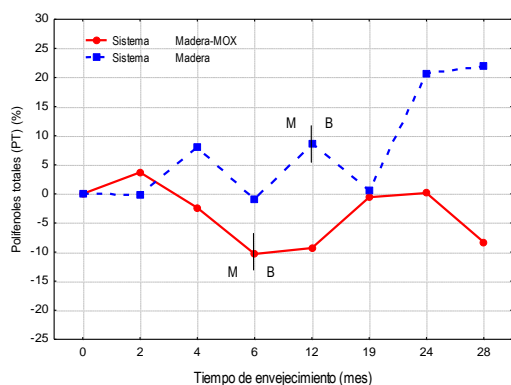
La composición fenólica de los vinos durante su total envejecimiento (0-28 meses) en depósitos de acero inoxidable a los que se ha incorporado astillas de roble francés de tostado medio, con y sin

microoxigenación se exponen en la tabla 31. Se presentan datos de los parámetros de color y la presencia de compuestos fenólicos de los vinos con microoxigenación (Madera-MOX) frente a los vinos que se envejecieron en ausencia de aportaciones de oxígeno (Madera).

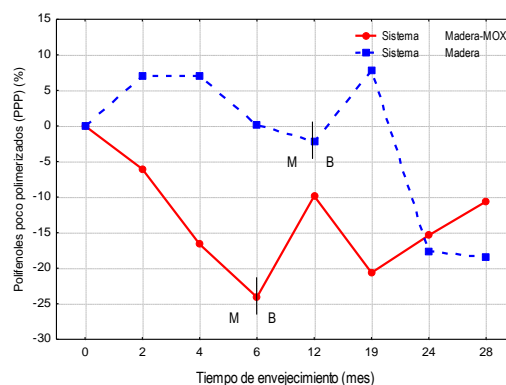
Los vinos envejecidos en contacto con madera y oxígeno (Madera-MOX) presentaron los valores significativamente inferiores en el contenido de polifenoles totales (PT Folin), polifenoles poco polimerizados (PPP), taninos (TAN), intensidad colorante (IC), componente roja (%A520), luminosidad (L), relación amarillo-azul ( $b^*$ ) y tono o matiz (H) y más elevados de tonalidad (T), componente amarilla (%A420), importancia del color rojo (%dA), relación rojo-verde ( $a^*$ ), croma ( $C^*$ ).

El contenido en **polifenoles totales** (PT Folin, gráfica 58) de los vinos ha experimentado una evolución que lleva a interpretaciones contradictorias, dado que hay autores que han definido que a lo largo del proceso de envejecimiento los compuestos fenólicos disminuyen por la pérdida de materia colorante y los polifenoles en general (Vivas, N., 1993; Peyron, E., 1994; Pomar, M. et al., 2001; Fernández, B. et al., 2003b; Pérez, L. J. et al., 2003a; Cadahía, E. et al., 2004; Ojeda, S., 2012), frente a los que han descrito un aumento de los polifenoles totales durante la crianza de los vinos debido este aumento al aporte que reciben los vinos de los compuestos fenólicos que cede la madera que permanece en contacto con los vinos (Martínez, J., 1998 y 2004; Martínez, J. et al., 2005a y 2006b). De la interpretación de los resultados obtenidos por los diversos autores puede deducirse que la aportación de oxígeno podría producir una pérdida de dichos compuestos por procesos de reacción con los compuestos existentes en el vino (condensación antociano-tanino o polimerización tanino-tanino), causando una mayor pérdida de los mismos, frente a los vinos que en ausencia de oxígeno la madera aportaría polifenoles que sufrirían menos reacciones con otros compuestos, explicando así su aumento ligero de concentración en el proceso de envejecimiento. Parece un factor decisivo por tanto, que la ausencia de oxígeno mantiene valores más altos de polifenoles totales en los vinos durante su proceso de envejecimiento en contacto con madera y posterior envejecimiento en botella.

Otros autores como Castellari, M. et al., 1998; Amati, A. et al., 2000; Bosso, A. et al. (2000) y Sánchez, M. (2007) determinaron que los vinos microoxigenados durante los procesos fermentativos o los primeros meses tras la fermentación maloláctica, no han presentado diferencias significativas en su contenido fenólico entre los vinos microoxigenados y el vino testigo, definiendo así que el aporte controlado de oxígeno no da lugar a una oxidación de los compuestos fenólicos, y por tanto a una pérdida de los mismos. Sin embargo, en este trabajo la adición de oxígeno sí ha modificado de forma notable el contenido de polifenoles totales (PT Folin) (gráfica 58), siendo significativamente inferiores los valores de polifenoles totales en vinos microoxigenados, frente a sus respectivos testigos. Estos resultados podrían ser corroborados con los valores encontrados en los parámetros de color, con un aumento elevado de la tonalidad y la componente amarilla (%A420) para los vinos microoxigenados, como se describirá a continuación.



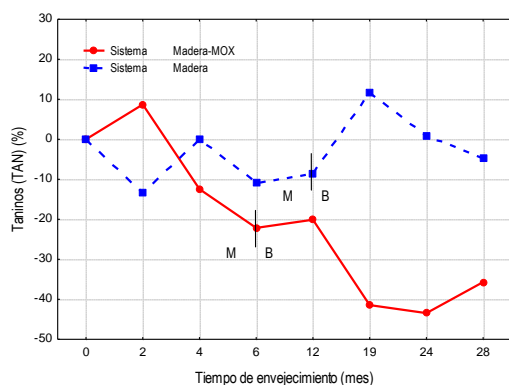
**Gráfica 58:** Comparación de la evolución de los polifenoles totales (PT Folín) (%) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX



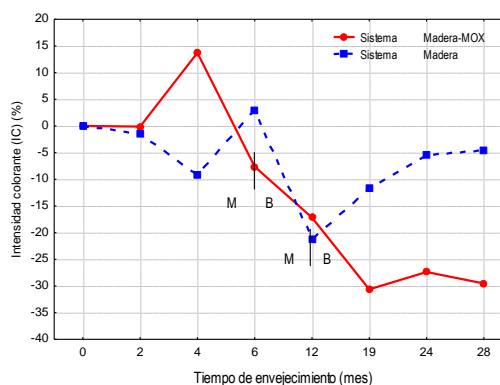
**Gráfica 59:** Comparación de la evolución de los polifenoles poco polimerizados (PPP) (%) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX

Respecto al contenido de **polifenoles poco polimerizados (PPP)** de los vinos se ha observado una disminución en su concentración durante el proceso de envejecimiento (gráfica 59). Como era de esperar los vinos que han sido sometidos al proceso de microoxigenación presentaron pérdidas mayores de polifenoles poco polimerizados, demostrando que el oxígeno favorece los procesos de polimerización o condensación entre los compuestos fenólicos presentes en el vino o aportados por la madera. Se comprueba que el vino, durante el proceso de microoxigenación (0-6 meses), pierde polifenoles poco polimerizados, sin embargo cuando se introduce en un ambiente reductor parte de estos compuestos se recuperan provenientes de procesos de hidrólisis, permitiendo a los vinos mantener niveles más elevados de estos compuestos que aquellos vinos que no se microoxigenaron.

El contenido de los vinos en taninos (TAN) y catequinas (CAT) (no significativo), (tabla 31) ha sido más bajo en el vino envejecido en contacto con astillas y aportes de oxígeno, este menor contenido debido a la presencia de oxígeno, favorece las reacciones de polimerización y condensación con los antocianos (Glories, Y., 1990; Del Álamo, M. et al., 2000 y 2002; Martínez, J., 2004). Según Chatonnet, P. (2007) el descenso en la concentración de taninos en los vinos podría ser debido a reacciones de complejación con proteínas, péptidos y polisacáridos. Diversos autores (Del Álamo, M. et al., 2000 y 2002; Martínez, J., 1998, 2004 y 2006a; Ojeda, S., 2012) observaron un aumento en el contenido en taninos en el tiempo de envejecimiento en vinos en contacto con barricas. Sin embargo, las reacciones que se dan en los vinos microoxigenados parecen repercutir en la pérdida de taninos libres por los procesos descritos anteriormente. Así, los vinos microoxigenados han disminuido su contenido en taninos a lo largo del proceso de envejecimiento y los vinos al abrigo del oxígeno mantuvieron estable su concentración en taninos e incluso aumentaron ligeramente como puede observarse en la gráfica 60.



**Gráfica 60:** Comparación de la evolución de los taninos (TAN) (%) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX



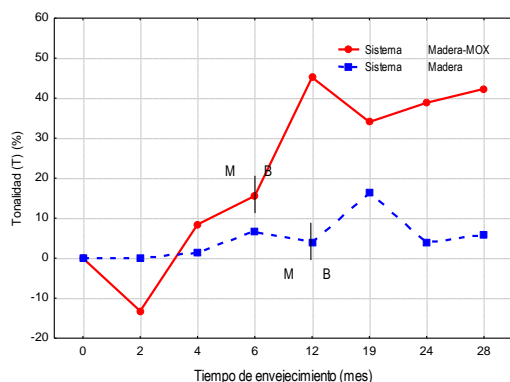
**Gráfica 61:** Comparación de la evolución de la intensidad colorante (IC) (%) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX

Los resultados de los parámetros de color analizados por el método de Glories en los que se han encontrado diferencias significativas han sido intensidad colorante (IC), tonalidad (T), componente amarilla (%A420), componente roja (%A520) e importancia del rojo (%dA). La intensidad colorante de los vinos (IC) ha experimentado un descenso a lo largo del tiempo de envejecimiento con madera (gráfica 61), manteniéndose los valores estables e incluso aumentando ligeramente durante el período de envejecimiento en botella y tras un período en madera. Este primer aumento puntual estaría justificado por la condensación de antocianos y taninos (Chatonnet, P., 2007) que presentan un color más intenso que los antocianos libres, y por la polimerización de los antocianos con las catequinas. Como ya apreciaran diversos autores como Cadahía, E. et al. (2008); Del Álamo, M. et al., (2002); González, L. A. et al., (2006); Martínez, J. et al., (2005a y 2006b), y se indicara en el Capítulo 1. Además, los primeros meses de envejecimiento en contacto con la madera y la aportación de oxígeno son decisivos para que se lleven a cabo dichos procesos, sin embargo eso no limita la pérdida de color a lo largo del proceso de envejecimiento, dado que los vinos que fueron microoxigenados sufrieron un descenso mayor de color en los meses de envejecimiento en botella que aquellos vinos que no fueron microoxigenados. Parece que el aporte de oxígeno podría tener un efecto acelerante en la pérdida de **intensidad colorante (IC)** (gráfica 61) y por tanto también en la estabilidad polifenólica de los vinos. Este resultado podría explicarse porque la presencia de oxígeno también favorece reacciones de copigmentación y polimerización que pueden acabar en la formación de estructuras menos estables con su consiguiente precipitación (Hernández, T. et al., 2007 y Cano, M. et al., 2007).

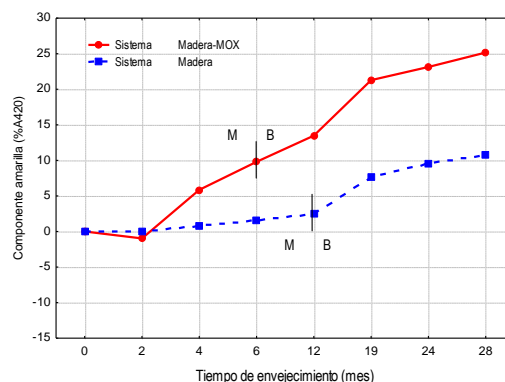
Una menor intensidad colorante en los vinos microoxigenados difiere de lo descrito por otros autores (Cano, M. et al., 2006, 2007; Rayne, S. et al., 2011; Gallego, L., 2013) que observaron, durante todo el periodo de envejecimiento, que la intensidad colorante fue superior en los vinos microoxigenados respecto al vino control (vino sin madera y sin microoxigenación) alabando el efecto positivo de la técnica de la microoxigenación en las características cromáticas de los vinos, que han conseguido mantenerse en los vinos embotellados. Esto vuelve a confirmar que la causa de una pérdida mayor ha podido ser debida a un exceso de oxígeno causante de la oxidación de los compuestos que aportan mayor intensidad en color. Lo que demostraría la gran importancia que tiene la gestión correcta del oxígeno durante el envejecimiento de los vinos.



Para explicar el comportamiento de la pérdida de la intensidad colorante disponemos del parámetro siguiente, la **tonalidad** (T). Según Ojeda, S. (2012), la tonalidad podría definirse como indicador del grado de envejecimiento de un vino ya que los resultados habituales obtenidos tienen relación con el aumento de la tonalidad cuando se aumenta el tiempo de envejecimiento ahora bien, para vinos con el mismo tiempo de envejecimiento, en las que se encuentran diferencias significativas en su tonalidad hace pensar que aquellos vinos con mayor aumento de tonalidad se encuentran más envejecidos. Si se observa la gráfica 62, se comprueba que la tonalidad se eleva en los vinos que han sido microoxigenados, mientras que los vinos que no lo han sido presentan un aumento mucho más ligero a lo largo de todo el proceso de envejecimiento. Según Casassa, F. et al. (2006a) parece tener una relación positiva el tono con los antocianos polimerizados, ya que la tonalidad guarda relación con los pigmentos amarillos presentes en los antocianos polimerizados, aunque no parece concluyente dado que otros parámetros parecen demostrar que la aportación de oxígeno precisamente es un factor decisivo en la polimerización de los compuestos fenólicos.



**Gráfica 62:** Comparación de la evolución de la tonalidad (T) (%) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX

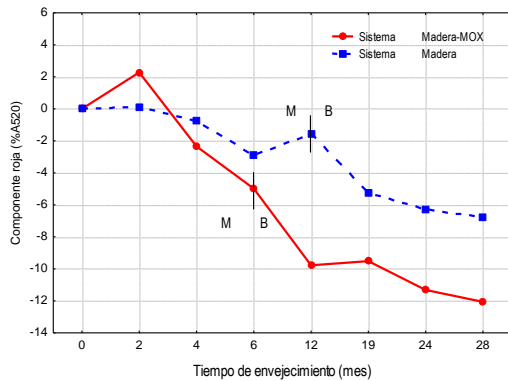


**Gráfica 63:** Comparación de la evolución de la componente amarilla (%A420) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX

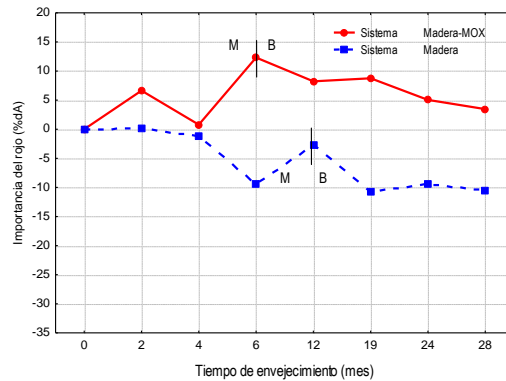
El aumento de la **componente amarilla** (%A420) podría atribuirse por una parte a la formación de compuestos amarillos debidos a la oxidación del vino, las polimerizaciones o a la mayor extracción de los componentes de la madera por la extracción de compuestos coloreados de la misma a lo largo del envejecimiento (Cadahía, E. et al., 2008) y su reacción con los antocianos del vino (Pomar, M. et al., 2001; Pérez, L. J. et al., 2003a y González, L. A. et al., 2006), produciéndose una mayor polimerización y condensación de los taninos (Vivas, N. et al., 1993; Chatonnet, P. et al., 1997; Ribéreau, P. et al., 1998; Martínez, J., 2004). Esta hipótesis se comprueba en la gráfica 63 y se confirma la evolución más rápida de los parámetros de color en los vinos microoxigenados, ya que la componente amarilla (%A420) aumenta hasta valores un 25 % más elevados con respecto al vino inicial, frente a un aumento del 11 % con respecto al vino inicial, en vinos en ausencia de oxígeno al final del periodo de envejecimiento.

La pérdida de la **componente roja** (%A520) (gráfica 64) en los vinos microoxigenados podría nuevamente justificarse por la mayor formación de combinaciones antocianos-taninos en presencia de oxígeno, que además con la aportación de elagitaninos de la madera se ven favorecidas estas reacciones

(Revilla, I. et al., 1999a; Del Álamo, M. et al., 2002; Fernández, B. et al., 2003b; Pérez, L. J. et al., 2003a, b y d; Martínez, J., 2004; González, L. A. et al., 2006; Martínez, J. et al., 2006 a y b).



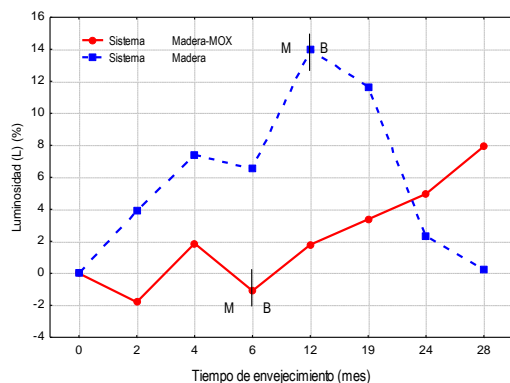
**Gráfica 64:** Comparación de la evolución de la componente roja (%A520) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX



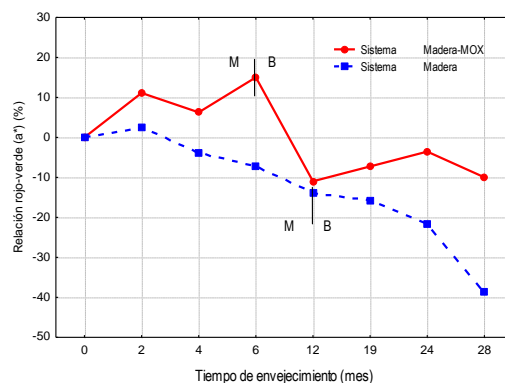
**Gráfica 65:** Comparación de la evolución de la importancia del rojo (%dA) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX

La **importancia del rojo** (%dA) (gráfica 65) hace referencia a la proporción de color rojo producido por el catión flavilium en estado libre y asociado con los antocianos, este dato es claramente superior en los vinos que han sido microoxigenados en presencia de madera a lo largo de todo el proceso de envejecimiento. El aumento elevado de la componente amarilla frente a la roja podría explicar este resultado. Aunque la tonalidad (T), es indicativo del cociente entre la medida del color amarillo frente al color rojo, parece razonable encontrar que la importancia del rojo (%dA) sería inversa a este parámetro, sin embargo, no ocurre esto en los datos obtenidos, eso indicaría que se ha producido un aumento de la componente amarilla pero a su vez los vinos microoxigenados presentan valores de color azul más elevados. Cuanto más elevado es el valor de la componente azul y amarilla frente al color rojo mayor es el brillo del color rojo. Su composición muestra que el color dominante de la solución de antocianos es aún el rojo; en el caso del vino, si la suma amarillo-azul es mayor al rojo, el vino es oscuro con reflejos amarillos (Glories, Y. 1984b).

Los resultados de los parámetros de color analizados por el método CIELab en los que se han encontrado diferencias significativas han sido luminosidad (L), relación rojo-verde ( $a^*$ ), y croma ( $C^*$ ). El parámetro que determina la claridad del vino o también definida como **luminosidad** ( $L^*$ ) (gráfica 66) ha aumentado durante el tiempo de envejecimiento, principalmente en los vinos microoxigenados. Este aumento viene definido por varios procesos, un proceso de sedimentación natural en los vinos, aumento de los tonos teja o a una disminución de la intensidad colorante (Miguel et al. 2001; Noriega, M. J. 2003; Casassa, F. et al., 2006a; Guzmán 2010). Se observa en los vinos sin aporte de oxígeno, en la fase de permanencia en botella, una reducción de la luminosidad que parece estar relacionado con el aumento de la intensidad colorante en los vinos en ausencia de oxígeno, el descenso del extracto seco y las clarificaciones y precipitaciones en botella. González, A. (2009) ha observado que los vinos con mayores adiciones de oxígeno (entre 17 mg/L y 24 mg/L de oxígeno) presentaron el mayor aumento de la luminosidad, comparado con un vino testigo.



**Gráfica 66:** Comparación de la evolución de la luminosidad (L) (%) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX

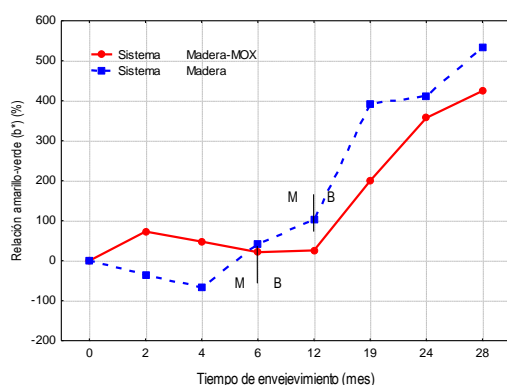


**Gráfica 67:** Comparación de la evolución de la relación rojo-verde ( $a^*$ ) (%) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX.

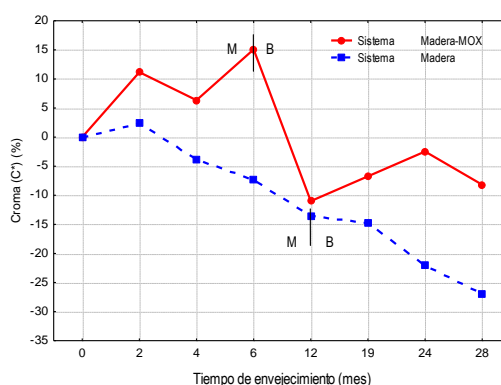
El parámetro  $a^*$  representa la **tonalidad rojo-verde** que tiene un vino (gráfica 67). La aportación de oxígeno en la primera fase de envejecimiento aumenta la componente  $a^*$ , mientras que en ausencia del mismo (Madera) disminuye desde el inicio del proceso de envejecimiento, lo que se traduce en un valor menor de la componente  $a^*$  para los vinos en contacto con astillas sin oxígeno. Este resultado determina que una pérdida de parámetro  $a^*$  indicaría una pérdida de la tonalidad roja. Sin embargo, este parámetro de color medido a través de las coordenadas CIELab contradice lo indicado para el porcentaje de rojo (%A520), ya que en los vinos envejecidos en presencia de oxígeno ha mantenido valores más elevados de componente roja ( $a^*$ ) pero no del porcentaje de rojo (%A520) medido aisladamente. Los resultados obtenidos para este parámetro coinciden con estudios realizados por González, A. (2009), en las que se ha comparado un vino tinto testigo con vinos a los que se les ha ido incrementando las dosis de oxígeno. En ellos observaron diferencias significativas durante todo el tiempo de oxigenación. También observaron una bajada brusca de los valores de  $a^*$  al comienzo del tratamiento, esto significa que se produce una disminución del color rojo, y después durante el resto de los muestreos a diferentes dosis de oxígeno mantuvieron la misma tendencia. Según González, A. (2009) el resultado obtenido demostraría que con la microoxigenación se busca una estabilización de color y no su desplazamiento hacia colores más rojizos.

La coordenada que relaciona el **color amarillo frente al azul** ( $b^*$ ) ha aumentado (gráfica 68), aunque no de forma significativa, durante el tiempo de crianza para los vinos que permanecieron en madera sin oxígeno más que para los vinos microoxigenados. Este resultado se traduce en una pérdida de componente azul y un aumento de la componente amarilla. Sin embargo, en los vinos que fueron microoxigenados el menor valor de la coordenada  $b^*$  indicaría que mantienen un equilibrio entre el aumento de la componente amarilla (+) y la pérdida de la componente azul (-), demostrando que los vinos microoxigenados a pesar de perder intensidad en color, antocianos y aumentar en tonalidad, son capaces gracias al oxígeno, de mantener valores más altos del color azul, ya que la componente amarilla (%A420), como se viera anteriormente, alcanza para los vinos microoxigenados valores más elevados que en los vinos al abrigo del oxígeno. Este aumento de la componente azul ya ha sido encontrada por diversos autores cuya explicación ha sido que el color azul del vino puede aumentar como consecuencia de las reacciones de condensación entre antocianos y taninos con etanal como intermediario y en presencia de oxígeno (Martínez, J., 1998 y 2004; Del Álamo, M. et al., 2002; Fernández, B. et al., 2003b;

Pérez, L. J. et al., 2003a, b y d; Cadahía, E. et al., 2004; Cano, M. et al., 2007; Cadahía, E. et al., 2008) y por un efecto batocromo (desplazamiento a longitudes de onda más elevadas) causadas por los procesos de copigmentación (Timberlake, C., 1976).



**Gráfica 68:** Comparación de la evolución de la relación amarillo-verde ( $b^*$ ) (%) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX



**Gráfica 69:** Comparación de la evolución del cromatismo ( $C^*$ ) (%) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX

El parámetro **cromatismo** o pureza del color ( $C^*$ ) (gráfica 69), está directamente relacionado con la coordenada  $a^*$  y la intensidad colorante, pero inversamente relacionado con la luminosidad (L). Como ya observaran diversos autores (Casassa, F. et al., 2006a; Ojeda, S., 2012) la evolución de  $C^*$  es similar a lo largo del proceso de envejecimiento a la evolución de la coordenada  $a^*$ . Los autores Noriega, M. J. et al. (2003), Cano, M. et al. (2007) y Gallego, L. (2013) han observado que en el proceso de envejecimiento en barrica, astillas y tablonos el cromatismo tiende a disminuir, sin embargo otros autores como Iñiguez, M. et al. (1995); Guzmán (2010) y Ojeda S., (2012) han observado un aumento paulatino de la cromaticidad y Gordillo et al (2012) observó un aumento de cromaticidad los primeros meses de envejecimiento para posteriormente disminuir en un vino envejecido durante 12 meses en barrica. Los resultados determinados en la comparación de dos vinos diferenciados por la aportación de oxígeno parece revelar que durante la fase de madera, la aportación de oxígeno es decisiva en la cromaticidad dado que en los vinos microoxigenados el valor aumenta durante los 6 meses de aportación de oxígeno y sin embargo los vinos que no recibieron oxígeno disminuyeron el contenido en cromaticidad. Este aumento en la primera fase de envejecimiento en vinos microoxigenados hace que este parámetro mantenga a lo largo de todo el proceso de envejecimiento valores más altos que en los vinos sin aporte de oxígeno. Valores más elevados de  $C^*$  y de contribución al color total del vino.

En vista de los resultados obtenidos en los parámetros de color, existe una controversia con el método empleado en la determinación del color, así los parámetros de color por el método de Glories definen a los vinos microoxigenados como vinos con mayor componente amarilla y mayor pérdida de rojos, es decir, vinos más envejecidos y con menor intensidad en color, pero los datos obtenidos a partir de las coordenadas CIELab determinan que los vinos mantienen mayor intensidad en color, son vinos más azules y más rojos cuando los vinos son microoxigenados. Por tanto, parece interesante comprobar cómo se comportan los vinos cuando se determina de manera individualizada los antocianos del vino por cromatografía de líquidos y cuál es su comportamiento cuando se determina la edad química de los vinos, estos resultados se describirán a continuación.

### V.2.5. Antocianos monómeros y acilados en los vinos

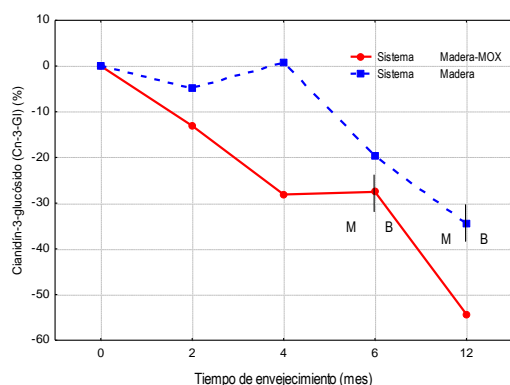
Los datos presentados en este trabajo han sido estudiados para vinos con 12 meses de envejecimiento. Los resultados obtenidos en los vinos objeto de estudio indican que los valores de los antocianos monómeros en los vinos microoxigenados alcanzan una pérdida de los mismos mayor en los vinos que han sido microoxigenados, destacando significativamente cianidín-3-glucósido (Cn-3-Gl), petunidín-3-glucósido (Pt-3-Gl). A su vez los vinos microoxigenados mantienen valores más altos para los antocianos acilados, siendo significativamente mayores en Vitisín A (Mv-3-Gl-Py), cianidín-3-glucósido acetilado (Ci-3-Gl-Ac), peonidín-3-glucósido acetilado (Pn-3-Gl-Ac), malvidín-3-glucósido acetilado (Mv-3-Gl-Ac), malvidín-3-glucósido caferilado (Mv-3-Gl-Cf) y cianidín-3-glucósido cumarilado (Cn-3-Gl-Cm). De manera excepcional y significativamente mayor pérdida en vinos microoxigenados los antocianos acilados delphinidín-3-glucósido acetilado (Df-3-Gl-Ac) y malvidín-3-glucósido cumarilado (Mv-3-Gl-Cm).

**Tabla 32:** Valores medios en porcentaje de la variación de los antocianos monómeros y acilados de los vinos envejecidos (de 0 a 12 meses) en depósitos de acero inoxidable, astillas de roble francés de tostado medio, con y sin aportación de oxígeno. Resultados de la ANOVA

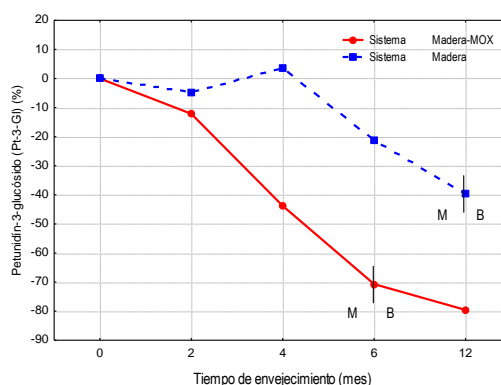
Microoxigenación	Madera-MOX	Madera	p-level
Df-3-Gl	-8,42a	-12,38a	0,444
Cn-3-Gl	-24,61a	-11,63b	<b>0,043</b>
Pt-3-Gl	-41,24a	-12,41b	<b>0,000</b>
Pn-3-G	-14,98a	-14,65a	0,955
Mv-3-Gl	-15,49a	-12,96a	0,546
Vit A (Mv-3-Gl Py)	-9,07b	-32,09a	<b>0,002</b>
Df-3-Gl-Ac	-49,27a	-20,78b	<b>0,000</b>
Cn-3-Gl-Ac	6,31b	-31,98a	<b>0,022</b>
Pt-3-Gl-Ac	-4,63a	-29,78a	0,113
Pn-3-Gl-Ac	-5,29b	-21,48a	<b>0,003</b>
Df-3-Gl-Cm + Mv-3-Gl-Ac	-25,99a	-20,10a	0,447
Mv-3-Gl-Ac	-14,97b	-23,17a	<b>0,045</b>
Mv-3-Gl-Cf	8,06b	-45,02a	<b>0,001</b>
Cn-3-Gl-Cm	18,70b	-24,07a	<b>0,000</b>
Pt-3-Gl-Cm	-13,67a	-34,08a	0,117
Pn-3-Gl-Cm	-21,73a	-26,18a	0,390
Mv-3-Gl-Cm	-36,71a	-21,25b	<b>0,002</b>
Ant-3--Gl-Ac	-21,50a	-23,78a	0,340
Ant-3-Gl-Cm	-18,01a	-22,34a	0,380
Antocianos totales	-19,50a	-14,76a	0,251

Para cada factor, letras distintas en la misma fila indican diferencias estadísticamente significativas, en negrita se muestra el p level con significación > 95 % (p<0,05) expresado en % (v/v)

También puede observarse en las gráficas 70, 71 y 72 que la pérdida de antocianos monómeros (Cn-3-Gl, Pt-3-Gl, Mv-3-Gl) en los vinos microoxigenados es ligeramente superior a lo largo de todo el proceso de envejecimiento. Alcanzando al final del período de envejecimiento (12 meses) una pérdida del 55 % en vinos microoxigenados frente al 35 % de pérdida de cianidín-3-glucósido (Cn-3-Gl) en vinos sin microoxigenar.



**Gráfica 70:** Comparación de la evolución del cianidín-3-glucósido (Cn-3-Gl) (%) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX



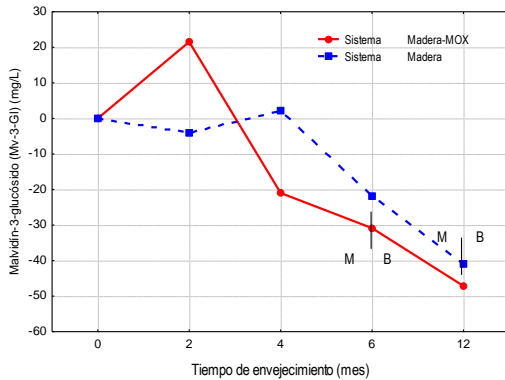
**Gráfica 71:** Comparación de la evolución del petunidín-3-glucósido (Pt-3-Gl) (%) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX

En el caso del **petunidín-3-glucósido** (Pt-3-Gl) la pérdida al final del envejecimiento alcanzó un 80 % en los vinos microoxigenados frente al 40 % de pérdida de este compuesto en los vinos sin aporte de oxígeno. Lo que indica una pérdida del 50 % del compuesto antociano monómero petunidín-3-glucósido en los vinos cuando se aporta oxígeno durante el envejecimiento. Similares resultados fueron encontrados por diversos autores (Amati, A. et al., 2000; Bosso, A. et al., 2000; Cano, M. et al. 2006 y Sánchez, M., 2007) para la medida de los antocianos monoglucosilados tanto por HPLC como por medidas espectrofotométricas.

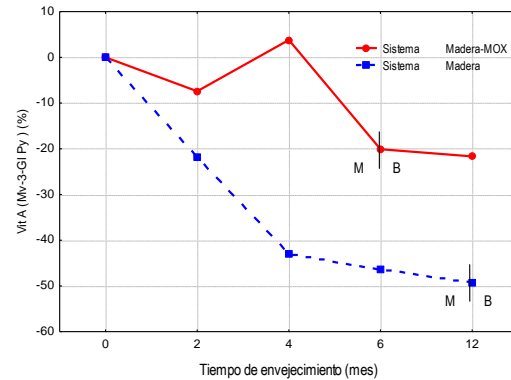
Esta pérdida de antocianos monoglucosilados se debe a las reacciones de acilación, condensación o polimerización para formar pigmentos poliméricos y oligoméricos más estables en el vino (Monagas, B. et al., 2006a) y que se ven favorecidas por la presencia de oxígeno. También y de manera inevitable a las reacciones de degradación (Cano, M. et al., 2006).

La evolución del contenido del **malvidín-3-glucosilado** (Mv-3-Gl), no es significativamente distinta en los 2 tipos de vinos estudiados, sin embargo parece interesante comprobar su comportamiento en las primeras fases de envejecimiento, ya que el resto de los antocianos monoglucosilados analizados en los vinos, siguen la misma tendencia. Existe un aumento del malvidín-3-glucosilado (Mv-3-Gl) en el vino en los primeros meses de aportación de oxígeno para posteriormente descender a niveles inferiores a los vinos sin microoxigenar. Existe una formación de malvidín-3-glucosilado (Mv-3-Gl) más rápida (a los 2 meses de envejecimiento) gracias al proceso de microoxigenación frente a los vinos sin microoxigenar que presentan un ligero aumento a los 4 meses de envejecimiento (gráfica 72), pero este aumento más rápido en los vinos microoxigenados no evita que posteriormente descienda en concentración llegando a perder el 46 % de su valor inicial. El aumento del malvidín-3-glucósido (Mv-3-Gl) se produce en ambos vinos estudiados pero el momento de aumento del compuesto se produce en dos tiempos diferentes a lo

largo del envejecimiento. Así, los vinos microoxigenados ven aumentado este compuesto a los 2 meses de envejecimiento, pero los vinos al abrigo del aire no lo hacen hasta pasados 4 meses de envejecimiento.



**Gráfica 72:** Comparación de la evolución del malvidín-3-glucósido (Mv-3-Gl) (%) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX



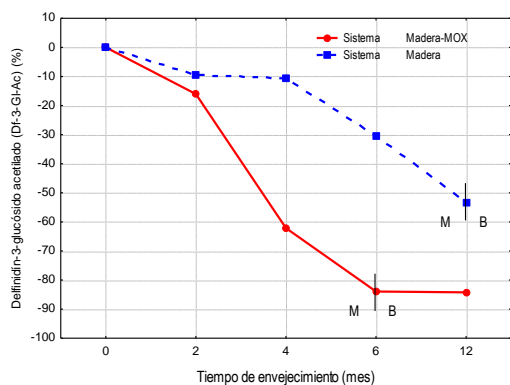
**Gráfica 73:** Comparación de la evolución del vitisin A (Mv-3-Gl-Py) (%) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX

El **vitisin A** (Malvidín-3-glucósido piruvato) es el resultado de la unión de un antociano con ácido pirúvico para formar un piranoantociano. Éste y otros derivados pirúvicos han sido identificados por numerosos autores en vinos envejecidos tanto en barricas como en sistemas alternativos durante su permanencia en los mismos y a lo largo de su crianza en botella (Sarni, P. et al., 1996; Bakker, J. et al., 1997b; Francia, E. M. et al., 1997; Es-Safi, N. et al., 2000; Revilla, I. et al., 1999b; Romero, C. et al., 1999; Mateus, N. et al., 2001 y 2002; Del Álamo, M. et al., 2006b), así como en vinos microoxigenados (Atanasova, H. et al., 2002; Cano, M. et al., 2006; Llaudy et al., 2006; Pérez, S. et al., 2007; Gallego L. 2013). Se observa en la gráfica 73 una disminución en el contenido de vitisin A para los vinos que han permanecido en ausencia de oxígeno siendo más marcada dicha pérdida (42 %) en los 4 primeros meses de envejecimiento en contacto con astillas y ausencia de oxígeno y alcanzado hasta el 50 % de pérdida de vitisin A respecto al punto de partida en los 8 meses restantes de envejecimiento. Por el contrario, el vino microoxigenado aumenta la concentración de vitisin A entre el segundo y cuarto mes de envejecimiento para posteriormente disminuir hasta alcanzar una pérdida final del compuesto del 21 %.

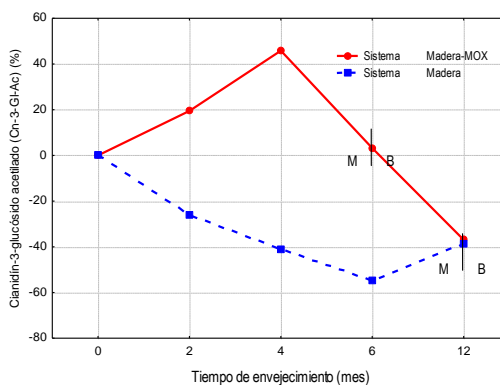
Estos datos obtenidos en este trabajo corroboran los resultados encontrados por diversos autores, tanto si la microoxigenación se ha llevado a cabo en la fase de fermentación alcohólica, maloláctica o durante el proceso de conservación de los vinos (Atanasova, H. et al. 2002 y Cano, M. et al., 2006 y Sanchez, M 2007). Por una parte se ha encontrado que la microoxigenación aumenta el contenido de vitisin A en los vinos frente a los vinos testigos y también se demuestra que se produce una pérdida en la concentración de vitisin A lo largo del envejecimiento como ocurre en la totalidad de los antocianos presentes en el vino, sin embargo, gracias al oxígeno la pérdida de este compuesto es menos acusada y se mantiene en niveles superiores a lo largo del proceso de envejecimiento de los vinos. Como ya observara Apetrei, I.M. et al. (2012), tras la monitorización de un vino envejecido en barricas y sistemas alternativos, mediante panel electrónico en su medida del color, ha deducido un aumento en la concentración de piranoantocianos mayor en los vinos tintos tratados con microoxigenación, estando este dato estrechamente relacionado con su estabilización del color. Y como consecuencia de ello, también han

observado valores más altos de la componente amarilla y rojo del color de los vinos. Corroborando lo interpretado en los datos de medida del color de este capítulo.

Autores como Pérez, S. et al. (2002a) y por Cano, M. et al. (2007) han encontrado valores más bajos de antocianos acéticos y cinámicos en vinos microoxigenados frente al vino testigo. Vinos que han sido microoxigenados en el proceso inmediatamente posterior al proceso de fermentación, indicando que estos resultados se correlacionan perfectamente con los mayores niveles de nuevos pigmentos. Sin embargo, contradicen a los encontrados por Llaudy et al. (2006). Aunque de manera general, los antocianos acetilados tienen mayor concentración en los vinos microoxigenados, los resultados encontrados en los vinos indican que dependiendo del tipo de antociano presente en el vino el resultado difiere. Los datos obtenidos que son significativamente distintos presentados en las gráficas 74, 75 y 76 indican que el delfinidín-3-glucósido acetilado (Df-3-Gl-Ac) alcanza valores más altos en los vinos microoxigenados, pero el cianidín-3-glucósido acetilado (Cn-3-Gl-Ac) y el peonidín-3-glucósido acetilados (Pn-3-Gl-Ac) pierden mayor concentración cuando el vino ha sido microoxigenado.



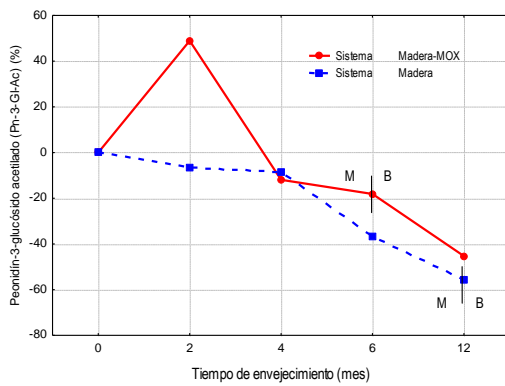
**Gráfica 74:** Comparación de la evolución del delfinidín-3-glucósido acetilado (Df-3-Gl-Ac) (%) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX



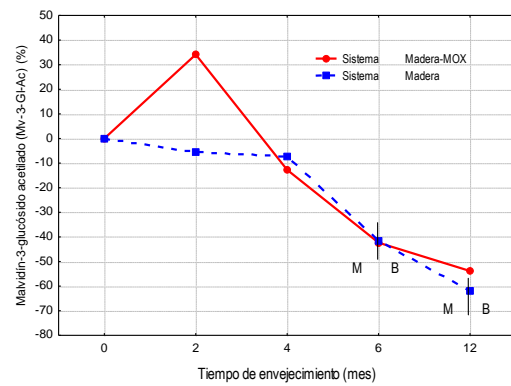
**Gráfica 75:** Comparación de la evolución del cianidín-3-glucósido acetilado (Cn-3-Gl-Ac) (%) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX

El contenido en **malvidín-3-glucósido acetilado** (Mv-3-Gl-Ac) del vino, presenta una evolución variable en función del mes de envejecimiento en el que se encuentra el vino, así al inicio del mismo (2 meses) los vinos microoxigenados aumentan su concentración, motivada por la presencia de oxígeno y la formación de ácido acético al comienzo del proceso. Sin embargo posteriormente (4-12 meses), este antociano acetilado desciende su concentración hasta valores similares a los vinos al abrigo del oxígeno, no existiendo diferencias entre ambos procesos (gráfica 77).



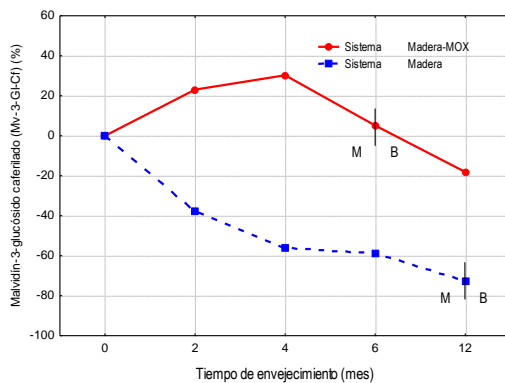


**Gráfica 76:** Comparación de la evolución del peonidín-3-glucósido acetilado (Pn-3-Gl-Ac) (%) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX

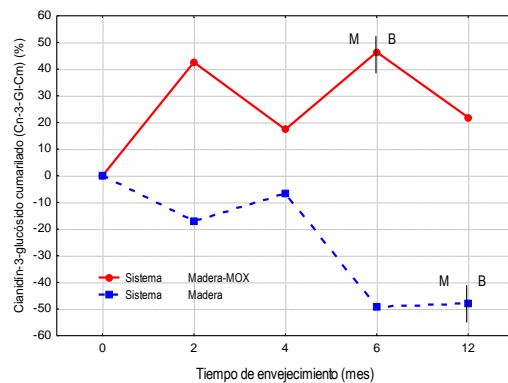


**Gráfica 77:** Comparación de la evolución del malvidín-3-glucósido acetilado (Mv-3-Gl-Ac) (%) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX

Las reacciones entre el malvidín-3-glucósido y el ácido caféico para formar **malvidín-3-glucósido caferilado** (Mv-3-Gl-Cf) (gráfica 78), presentes en el vino durante los 4 primeros meses de envejecimiento han aumentado hasta valores un 30 % superior, respecto al valor inicial en los vinos microoxigenados. Este aumento de concentración ha fomentado que en su posterior pérdida de concentración, dicho descenso se vea mitigado, de manera que los vinos microoxigenados mantienen valores más elevados de malvidín-3-glucósido caferilado (Mv-3-Gl-Cf) durante todo el tiempo de envejecimiento estudiado.



**Gráfica 78:** Comparación de la evolución del malvidín-3-glucósido caferilado (Mv-3-Gl-Cf) (%) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX

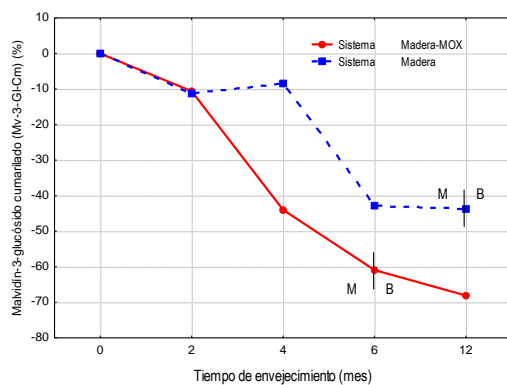


**Gráfica 79:** Comparación de la evolución del cianidín-3-glucósido cumarilado (Cn-3-Gl-Cm) (%) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX

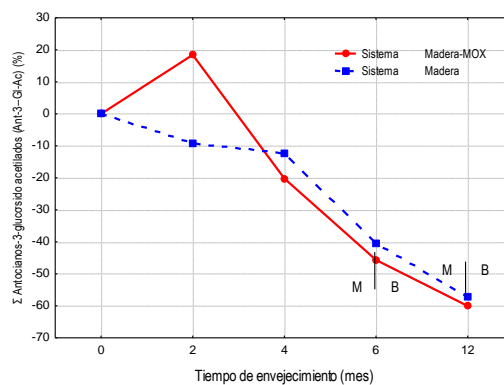
Las reacciones de copigmentación entre el cianidín-3-glucósido (Cn-3-Gl) y el ácido p-cumárico hacen que el **cianidín-3-glucósido cumarilado** (Cn-3-Gl-Cm) (gráfica 79) aumente durante el envejecimiento de los vinos para aquellos recipientes con aportación de oxígeno, sin embargo cuando hay ausencia del mismo el proceso de copigmentación es menor y por tanto este compuesto no sigue formándose e incluso sufre una pérdida mayor que su capacidad de formación. Eso explicaría por qué los vinos al abrigo del oxígeno presentan valores más elevados del ácido p-cumárico (tabla 32), aunque esta diferencia no sea significativa. Algunos autores han encontrado una disminución en la concentración de ácido p-cumárico en los vinos envejecidos en botella (Zamora, F., 2003b; Monagas, B. et al., 2005b;

Cadahía, E. et al., 2008; Alén, F. et al., 2009; Gallego, L., 2013), explicando su pérdida por las reacciones de copigmentación con los antocianos.

La descripción realizada anteriormente con el cianidín-3-glucósido cumarilado (Cn-3-Gl-Cm) no se cumple como ya predijeran algunos autores (Zamora, F., 2003b; Monagas, B. et al., 2005b; Cadahía, E. et al., 2008; Alén, F. et al., 2009; Gallego, L., 2013) para el **malvidín-3-glucósido cumárico** (gráfica 80). Esto podría explicarse por la elevada concentración que presentan los vinos del compuesto malvidín-3-glucósido, que a pesar de fomentarse la copigmentación no en grado suficiente para impedir la pérdida del compuesto por precipitación, por tanto la copigmentación para este compuesto no contribuye a que pierda su concentración con el paso del tiempo a mayor velocidad, en los vinos microoxigenados, que en los vinos al abrigo del oxígeno.

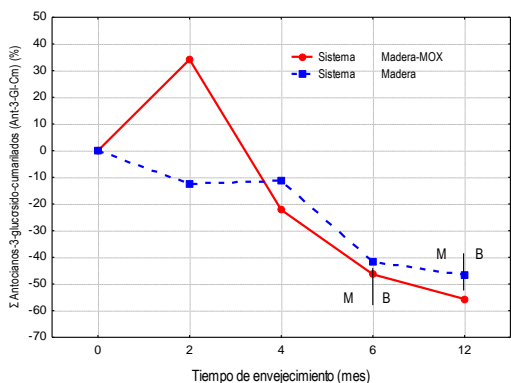


**Gráfica 80:** Comparación de la evolución del malvidín-3-glucósido cumarilado (Mv-3-Gl-Cm) (%) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX

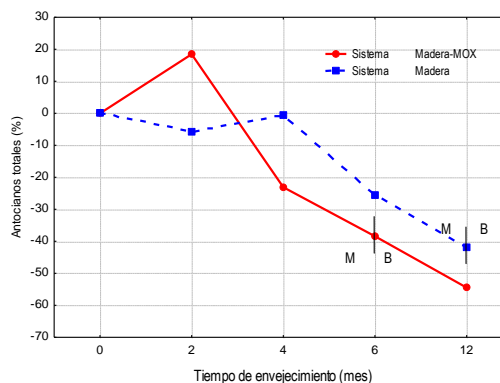


**Gráfica 81:** Comparación de la evolución de la suma de antocianos-3-glucósido acetilados (%) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX

En general, los **derivados acetilados y cumarilados** de los antocianos han sufrido un descenso hacia la fase final del envejecimiento en contacto con madera, tanto con o sin oxígeno, causada posiblemente por la hidrólisis de estos compuestos (Monagas, B. et al., 2005a). Se observa un ligero aumento para los vinos microoxigenados en el mes 2 de envejecimiento posponiéndose hasta el mes 4 para los vinos al abrigo del aire, pero al final del envejecimiento (6-12 meses) los compuestos acetilados y cumarilados descienden. Para los compuestos acetilados se producen pérdidas del 39,8 % en vinos microoxigenados y del 44,8 % en vinos sin aporte de oxígeno (gráfica 81). Para los antocianos cumarilados la pérdida es del 33,4 % en los vinos microoxigenados y del 35,4 % en vinos sin aporte de oxígeno (gráfica 82).



**Gráfica 82:** Comparación de la evolución de la suma de antocianos-3-glucósido-cumarilados (%) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX



**Gráfica 83:** Comparación de la evolución de los antocianos totales (%) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX

Los resultados obtenidos de la **suma de los antocianos** monómeros y sus derivados acilados (gráfica 83) han demostrado que la aportación de oxígeno fomenta el descenso de antocianos totales en los vinos a lo largo del envejecimiento. Este resultado parece acertado, teniendo en cuenta los parámetros de color descritos en el apartado IV.4.1.1., (determinación del color por el método de Glories), que han indicado que los vinos microoxigenados presentan una menor intensidad en color y con vinos que alcanzan valores más elevados de la componente amarilla, produciéndose una mayor pérdida de componente roja. Todos ellos relacionados con el mayor descenso de antocianos. Sin embargo, tras revisar los resultados descritos por otros autores (Somers, T. C., 1971; Glories, Y., 1978; Timberlake, C. et al., 1976) a todos ellos les ha llamado la atención la ausencia de correlación entre la intensidad de color y la concentración de antocianos libres en los vinos, lo que coincidiría también con la ausencia de relación obtenida en este trabajo y los parámetros CIELab. Según los trabajos publicados por Somers, T. C. (1971), solamente el 15 % de las formas libres parecen ser coloreadas, esto demostraría que la coloración de los vinos estaría más bien definida por las formas coloreadas poliméricas de los vinos que tras el envejecimiento de los vinos pasan a ser las formas más abundantes en contribución al color de los mismos hasta valores de más del 50 %. Por tanto, para relacionar el color de los vinos con los antocianos en el proceso de envejecimiento, parece más interesante centrarse en los antocianos combinados con polifenoles o con taninos.

### V.2.6. Formación de nuevos pigmentos en los vinos.

Los parámetros de edad química analizados permiten comprobar las reacciones que experimentan los antocianos del vino que se unen a los flavanoles para formar nuevos pigmentos. Las diferencias encontradas en los vinos analizados para los parámetros definidos como edad química han determinado que se han alcanzado valores significativamente superiores en los vinos a los que se les ha aportado astillas y oxígeno (Madera-MOX) para la relación pigmento polimérico respecto de los antocianos en forma flavilium (ii), para el porcentaje de antocianos que se encuentran como ión flavilium tras suprimir el efecto del sulfuroso ( $\alpha\alpha$ ) y significativamente inferiores para la relación de los antocianos en forma flavilium respecto a los antocianos totales del vino (i/ii) y para el porcentaje de antocianos que se

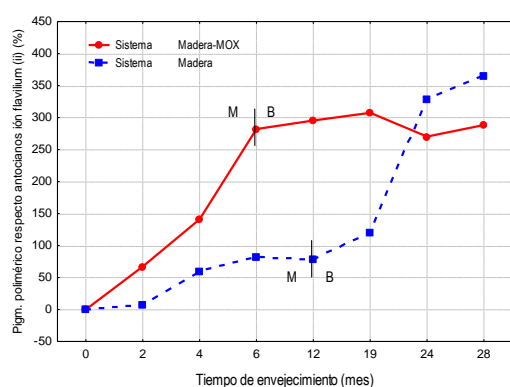
encuentran como ion flavilium ( $\alpha$ ), frente a los vinos a los que se les ha aportado solamente astillas (Madera) (tabla 33).

**Tabla 33:** Valores medios en porcentaje de la variación de la edad química de los vinos envejecidos (de 0 a 28 meses) en depósitos de acero inoxidable, astillas de roble francés de tostado medio, con y sin aportación de oxígeno. Resultados de la ANOVA.

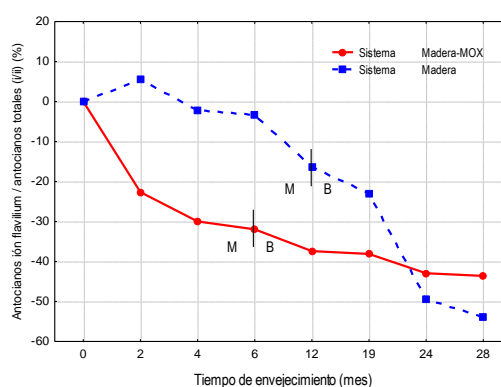
Microoxigenación	Madera-MOX	Madera	p-level
i	70,64a	63,35a	0,229
ii	201,43b	130,52a	<b>0,000</b>
i/ii	-31,58a	-17,81b	<b>0,000</b>
$\alpha$	-7,14a	16,58b	<b>0,000</b>
$\alpha\alpha$	50,95b	25,67a	<b>0,000</b>

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

Se observa en la gráfica 84 un aumento de la **relación pigmento polimérico respecto de los antocianos en forma flavilium (ii)**, demostrando que los niveles de los pigmentos poliméricos han aumentado en todos los vinos durante el proceso de envejecimiento y este aumento es más elevado a largo de los 28 meses de envejecimiento en los vinos que fueron microoxigenados. Estos resultados muestran claramente la influencia del tratamiento de microoxigenación en las reacciones de polimerización de los antocianos. Estos datos coinciden con lo observado por Gallego, L. (2013), donde los vinos microoxigenados y envejecidos en contacto con astillas durante 120 días alcanzaron valores más elevados de la componente ii, que el vino testigo, de igual forma coincide con lo descrito por Amati, A. et al. (2000) que también encontraron un contenido mayor de antocianos poliméricos en los vinos microoxigenados. Estos resultados obtenidos también coinciden con lo propuesto por Castellari, M. et al. (1998 y 2000), Atanasova, H. et al. (2002) y Cano, M. et al. (2006), que indicaron que la oxigenación influye significativamente en la formación de pigmentos poliméricos rojos que estabilizan el color como además se ha expuesto en otros trabajos (Singleton, V. L., 1987; Bakker, J. et al., 1993; Francia, E. M. et al., 1997). Ante estos resultados puede deducirse que la microoxigenación favorece la polimerización oxidativa.



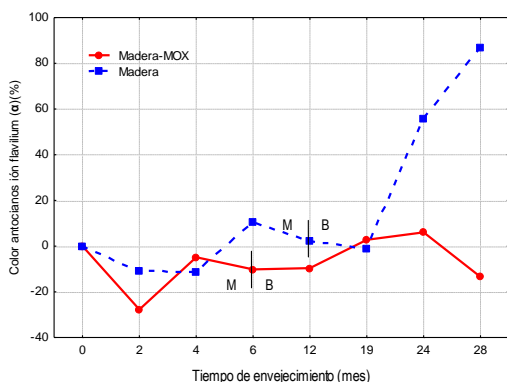
**Gráfica 84:** Comparación de la evolución de la relación pigmento polimérico respecto de los antocianos en forma flavilium (ii) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX



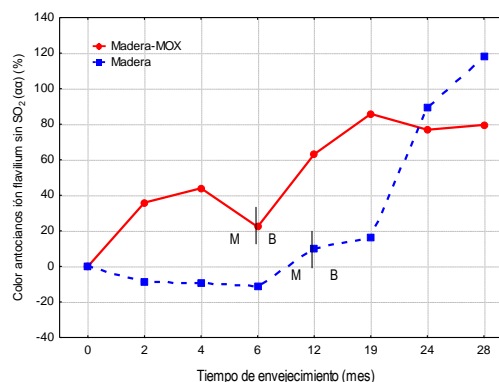
**Gráfica 85:** Comparación de la evolución de la relación de los antocianos en forma flavilium respecto a los antocianos totales del vino (i/ii) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX

La **relación de los antocianos en forma flavilium respecto a los antocianos totales del vino (i/ii)** ha sufrido un descenso en los vinos a lo largo del envejecimiento, debido a ese descenso de los antocianos en forma libre (flavilium) (gráfica 85). Como era de esperar el descenso más acusado ha sido para los vinos microoxigenados debido a las reacciones descritas anteriormente mediadas por la presencia de oxígeno y madera. Destaca el resultado observado en la fase final del envejecimiento en botella, dado que la pérdida de antocianos flavilium en los vinos microoxigenados se ve mitigada, superando los antocianos libres a los totales en los vinos microoxigenados. El descenso de los antocianos libres, para formar pigmentos resultantes de la combinación de estas moléculas con otras presentes en el vino, fomenta la estabilización del color (González, A., 2009).

El **porcentaje de antocianos que se encuentran como ión flavilium ( $\alpha$ )** ha sido significativamente inferior en los vinos microoxigenados como se observa en la gráfica 86, sobre todo al final del proceso de envejecimiento en botella (24-28 meses). Esto demostraría que las dosis aplicadas de oxígeno en este estudio han favorecido la polimerización de los antocianos, dando lugar a la formación de compuestos más resistentes a la decoloración y por tanto arrojando valores ligeramente superiores de antocianos sin sulfuroso ( $\alpha\alpha$ ) como se muestra en la gráfica 87.



**Gráfica 86:** Comparación de la evolución del porcentaje de antocianos que se encuentran como ión flavilium ( $\alpha$ ) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX



**Gráfica 87:** Comparación de la evolución del porcentaje de antocianos que se encuentran como ión flavilium tras suprimir el efecto del sulfuroso ( $\alpha\alpha$ ) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX

Destaca el resultado obtenido el **porcentaje de antocianos que se encuentran como ión flavilium tras suprimir el efecto del sulfuroso ( $\alpha\alpha$ )**, ya que ha sido superior en vinos microoxigenados (gráfica 87). Al suprimir el efecto decolorante del sulfuroso sobre los antocianos libres se descubre que los vinos con presencia de oxígeno alcanzan los valores más elevados de antocianos en forma flavilium, pero hasta ahora no se han podido cuantificar debido a la decoloración que sufrían por existir sulfuroso en el medio. Sin embargo, al final del proceso de envejecimiento (24-28 meses) los vinos microoxigenados ya no han sido capaces de mantener valores elevados de antocianos libres decolorables por el sulfuroso y su concentración cae por debajo de los valores que alcanzan los vinos al abrigo del oxígeno. Como ya observara González, A., (2009) los efectos de la microoxigenación no se mantienen con el paso del tiempo de envejecimiento (después de 8 meses de envejecimiento en botella) y además decaen ligeramente para alcanzar valores similares o por debajo de los vinos sin microoxigenar.

Si bien parece ser cierto que la microoxigenación favorece las reacciones de polimerización (Del Álamo, M. et al., 2000 y 2002; Martínez, J., 2004), pasando a obtenerse compuestos no decolorables por el sulfuroso, lo que se interpreta de ellos es en una disminución de los antocianos y los taninos para dar compuestos de color más estables, conforme la dosis de oxígeno es mayor, la concentración de antocianos libres decae y aumenta la concentración de antocianos polimerizados. Por lo tanto confirma que las diferentes dosis de oxígeno aplicadas a los vinos presentan distintos efectos sobre los antocianos y sus formas copigmentadas, aciladas o polimerizadas.

#### **V.2.7. Compuestos fenólicos de bajo peso molecular en vinos.**

A continuación se presentan los datos de los compuestos fenólicos de bajo peso molecular cuantificados por cromatografía de líquidos de manera individualizada y presente en los vinos envejecidos con aporte de oxígeno y astillas frente a los vinos a los que sólo se les ha incorporado las astillas. Su interpretación ayudará a entender las reacciones de los compuestos fenólicos tanto de los presentes en el vino como de los extraídos por el contacto con la madera. Estos vinos han sido estudiados para los parámetros de compuestos fenólicos de bajo peso molecular durante un período de 19 meses de envejecimiento. Este tiempo de envejecimiento se ha establecido por ser el disponible para realizar la comparativa de ambos procesos en el mismo período.

En el caso de los vinos sin aportación de oxígeno, se ha realizado el estudio durante su período de envejecimiento en depósito con madera (12 meses) más 7 meses de botella (Madera), mientras que para los vinos microoxigenados se ha estudiado su evolución durante los 6 meses de permanencia en depósito con madera y oxígeno (Madera-MOX) y los 13 meses de envejecimiento en botella.

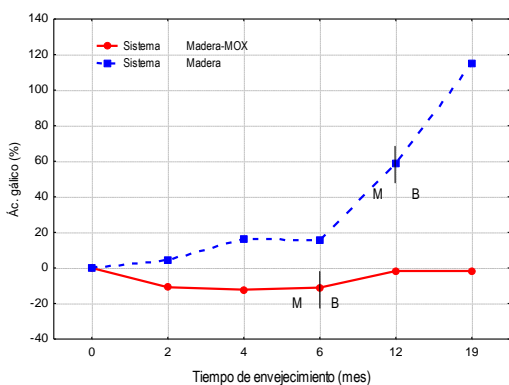
Los resultados obtenidos en la tabla 34 muestran que, dependiendo del tipo de compuestos, su concentración aumenta o disminuye significativamente en vinos con madera y microoxigenación frente a los vinos en madera y ausencia de oxígeno. Así, los compuestos ácido gálico, vanillina, ácido protocatéquico, ácido vanilínico, ácido caféico y ácido sinápico son significativamente inferiores respecto al vino inicial en vinos microoxigenados que en los vinos que han permanecido en ausencia de oxígeno. Y son significativamente superiores respecto al vino inicial en los vinos microoxigenados los compuestos catequina, ácido siríngico, epicatequina, y ácido ferúlico.

**Tabla 34:** Valores medios en porcentaje de la variación de los compuestos fenólicos de bajo peso molecular de los vinos envejecidos (de 0 a 19 meses) en depósitos de acero inoxidable, astillas de roble francés de tostado medio, con y sin aportación de oxígeno. Resultados de la ANOVA.

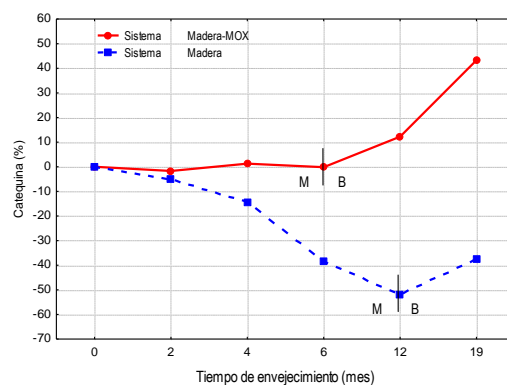
	Microoxigenación	Madera-MOX	Madera	p-level
Acido gálico		-6,26a	35,17b	<b>0,000</b>
Ald. protocatéquico		46,70a	72,09a	0,085
Ald. p-Hydroxibenzoico		-15,93a	-25,45a	0,246
Catequina		0,98b	-24,48a	<b>0,010</b>
Acido siríngico		127,62b	48,60a	<b>0,001</b>
Vanillina		36,74a	152,77b	<b>0,014</b>
Epicatequina		47,61b	-32,62a	<b>0,000</b>
Acido p-cumárico		52,88a	70,15a	0,326
Acido protocatéquico		17,56a	31,93b	<b>0,041</b>
Acido vanilínico		-14,04a	14,28b	<b>0,001</b>
Acido gentísico		-13,30a	-9,41a	0,298
Acido caféico		10,52a	99,40b	<b>0,000</b>
Acido ferúlico		91,41b	31,83a	<b>0,004</b>
Acido sinápico		-40,49a	17,28b	<b>0,007</b>

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

El **ácido gálico** ha aumentado su concentración a lo largo del proceso de envejecimiento en los vinos que han permanecido en contacto con astillas de roble de tostado medio en ausencia de oxígeno. Este incremento podría ser debido a las reacciones de degradación de la lignina durante el proceso de tostado de la misma y por tanto a la extracción del ácido gálico por etanólisis de la madera, así como la hidrólisis de los elagitaninos (Del Álamo, M. et al., 2002; Cadahía, E. et al., 2008). Si observamos en la gráfica 88 lo que ocurre a los vinos que han estado en contacto con oxígeno se observa un descenso durante el período de microoxigenación y posteriormente su concentración aumenta o se mantiene cuando el vino es embotellado y permanece en un ambiente reductor. Este resultado sugiere que el contenido en ácido gálico cedido por la madera reacciona con otras sustancias presentes en el vino y por tanto su concentración disminuye, y todo ello mediado por la presencia de oxígeno.



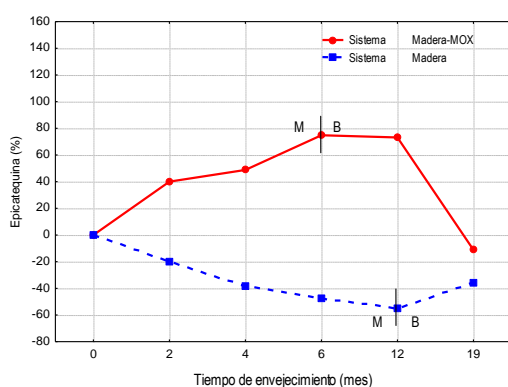
**Gráfica 88:** Comparación de la evolución del ácido gálico (%) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX



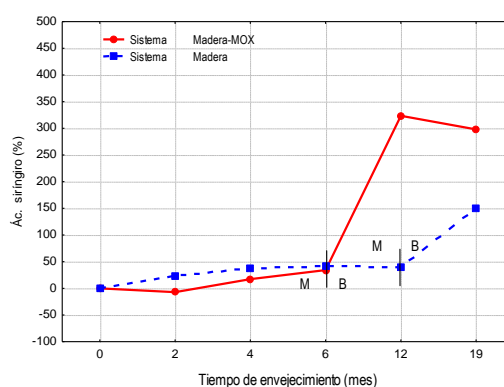
**Gráfica 89:** Comparación de la evolución de la catequina (%) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX

Los flavanoles **catequina y epicatequina** (gráficas 89 y 90) han aumentado su concentración en los vinos a los que se les ha realizado pequeñas aportaciones de oxígeno durante el contacto con madera. En el caso de los vinos en contacto con madera y ausencia de oxígeno su concentración ha disminuido. Este resultado contradice lo esperado, dado que la catequina y la epicatequina suelen descender su concentración durante el proceso de envejecimiento como en el caso de los antocianos, debido a su alto poder de reacción en presencia de oxígeno (Cadahía, E. et al., 2008) debido a fenómenos de estabilización y clarificación del vino (Izcarra, E., 2004), a su gran reactividad con los antocianos en procesos de copigmentación, o con ellos mismos, participando en reacciones de polimerización que conllevan la precipitación de los compuestos de alto grado de polimerización, disminuyendo también su contenido en el vino (Izcarra, E., 2004). Las cinéticas de ambas reacciones son más lentas o más rápidas en presencia de acetaldehído (Cheynier, V. et al., 2000b), cuya formación será favorecida por la presencia de oxígeno.

Sin embargo, autores como Catania, A. (2009) ha establecido que los tratamientos con madera y oxígeno (imitando el efecto de la barrica nueva) son vinos con mayor nivel de catequinas, lo que se debería a que el alto nivel de copigmentos causados por la presencia de oxígeno habría protegido los polifenoles e inhibido la polimerización de las catequinas con los antocianos, ya que muchos de los flavonoides actuaron como cofactores (Boulton, R., 2001). Del Álamo, M. et al. (2004a) observaron un aumento significativo en el contenido de catequinas y taninos condensados totales, superior en el vino envejecido en barrica que en el vino testigo. Aunque numerosas experiencias no han obtenido diferencias entre el vino que se encontraba en barrica y el que se encontraba en depósito (Pontallier, P. et al., 1982; Peyron, E. et al., 1994; Martínez, J. et al., 2000; Vivas, N, et al., 2000; Pérez, L. J. et al., 2003a; Martínez, J. et al., 2005a; De Beer, D. et al., 2008), estos resultados parecen indicar que el nivel de catequinas disminuye cuando en el vino se produce una rápida polimerización de estos compuestos, causada por la ausencia de oxígeno o madera.



**Gráfica 90:** Comparación de la evolución de la epicatequina (%) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX



**Gráfica 91:** Comparación de la evolución del ácido siríngico (%) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX

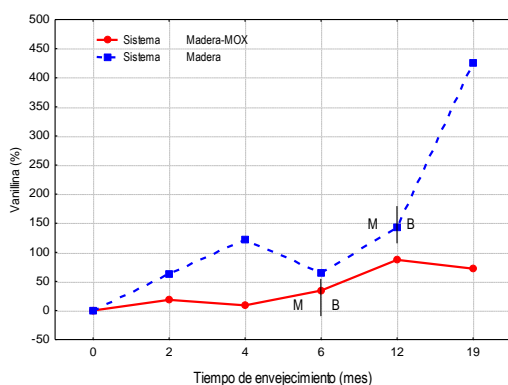
Al igual que ocurriera con el ácido gálico, el aumento del **ácido siríngico** en los vinos durante el proceso de envejecimiento puede ser debido a las reacciones de degradación de la lignina y la hidrólisis de los elagitaninos de la madera. Sin embargo, el resultado obtenido para el ácido siríngico (gráfica 91) difiere del ácido gálico, ya que los resultados más elevados se alcanzan en vinos microoxigenados en su fase de



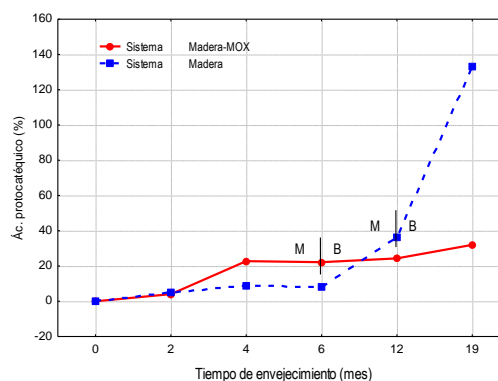
botella, lo que sugiere que la presencia de oxígeno fomenta las reacciones de este compuesto con el vino pero dichas reacciones podrían ser reversibles y permitir aumentar la concentración de ácido siríngico en la fase de botella hasta valores de un 300 % superior al valor inicial, aunque podría sugerir también un error en la medida del ácido siríngico en los 12 y 19 meses de envejecimiento (gráfica 91).

La concentración de **vanillina** (gráfica 92) ha aumentado en el vino a lo largo del envejecimiento, debido a su extracción de la madera, sin embargo este aumento es más elevado en los vinos envejecidos en ausencia de oxígeno, debido a que la ausencia de oxígeno no ha fomentado las reacciones de la vanillina con flavanoles y antocianos (Sousa, A. et al., 2007), pero la principal causa de aumento en la concentración de este aldehído fenólico es la presencia de la madera. Este aumento se puede explicar por la degradación de la lignina, despolimerización, la posterior hidrolización y la degradación oxidativa de los monómeros en procesos químicos (Cadahía, E., 2007) y su extracción más rápida en estos fragmentos pero mitigada por una mayor pérdida en presencia de oxígeno.

Además se debe tener en cuenta que en general los aldehídos fenólicos generados desde la madera están sujetos a la lixiviación, fotodegradación, y degradación bioquímica, lo que provoca que disminuyan sus concentraciones, principalmente en las capas superficiales de la madera (Chatonnet, P. et al. 1994b). El origen de cetonas fenilo en la madera podría ser explicada por la termodegradación de estructuras polifenólicos (lignanós) de la madera de roble (Seikel, M. K. et al., 1971) en lugar de la lignina (Chatonnet, P. et al., 1989b), contenido relacionado también con el grado de tostado de la madera (Cadahía, E. et al., 2003).



**Gráfica 92:** Comparación de la evolución de la vanillina (%) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX

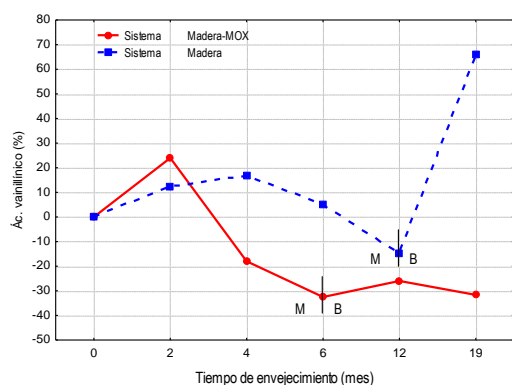


**Gráfica 93:** Comparación de la evolución del ácido protocatéquico (%) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX

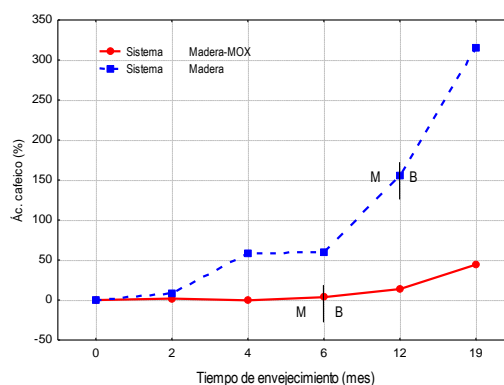
El **ácido protocatéquico** (gráfica 93) aumenta durante el proceso de envejecimiento de los vinos, siendo ese aumento constante en los vinos microoxigenados y mucho mayor en vinos al abrigo del oxígeno en su período de envejecimiento en botella. Este aumento en la concentración del ácido protocatéquico en los vinos ha sido debida a su formación a partir del aldehído protocatéquico presente en el vino, por los procesos de oxidación que se han llevado a cabo en el vino en la fase de envejecimiento en depósito. Los vinos microoxigenados durante este período alcanzaron valores ligeramente superiores a los vinos en depósitos con astillas y al abrigo del oxígeno.

El **ácido vanilínico** (gráfica 94) aumenta en las primeras fases de envejecimiento motivado por la transformación de la vanillina en este ácido, sin embargo al final del proceso su concentración disminuye explicándose dicha disminución por su capacidad de reducción para formar alcohol vanilínico (Garde, T. et al., 2004) y junto con el ácido vanilínico producir su etil éster correspondiente. Al igual que ocurriera con la vanillina en los vinos estudiados, el ácido vanilínico presenta los valores más elevados en los vinos en contacto con madera y sin aportación de oxígeno.

La cantidad de **ácido caféico** en el vino se ha visto incrementada durante el proceso de envejecimiento (gráfica 95), debida a las reacciones de hidrólisis del ácido trans-caftárico (éster tartárico del ácido caféico), dando lugar tanto a su correspondiente forma libre, también por su regeneración en reacciones de esterificación. Este aumento en el contenido de ácido caféico se ha producido tanto en período de madera como en botella en los vinos. Similares datos han sido obtenidos por diversos autores como (Monagas, M. et al., 2005b; Cadahía, E. et al., 2008 y Gallego L., 2013). El contenido en ácido caféico es significativamente menor en vinos microoxigenados debido a la condensación con antocianos para dar compuestos acilados. Este resultado confirmaría que el oxígeno favorece las reacciones de copigmentación, atenuando en cierta medida la disminución del color formado por la formación de un piranoantociano, aunque este proceso de unión parece estar limitado a los primeros meses de envejecimiento, que es cuando se mantienen constantes los valores de ácido caféico en el vino microoxigenado.

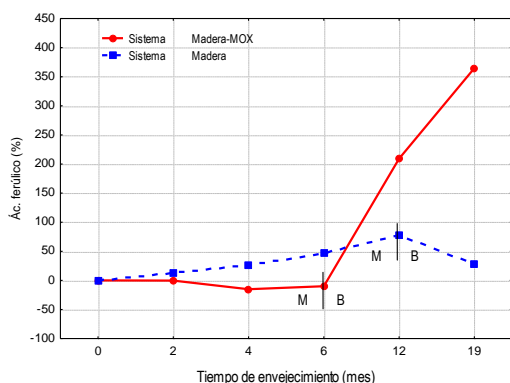


**Gráfica 94:** Comparación de la evolución del ácido vanilínico (%) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX

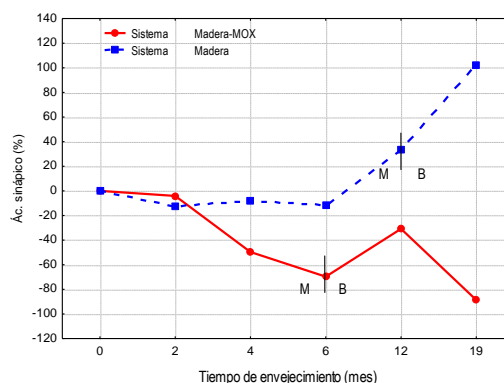


**Gráfica 95:** Comparación de la evolución del ácido caféico (%) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX

El **ácido ferúlico** tiene la excepcionalidad de ser un ácido hidroxicinámico cuya característica respecto a todos los ácidos hidroxicinámicos estudiados en este trabajo es que a diferencia del ácido caféico, ácido p-cumárico y ácido sinápico tiene la capacidad de aumentar su concentración desde valores de partida de 0 % hasta más de un 350 % en vinos que han sido microoxigenados, además este aumento tan elevado se produce durante el proceso de permanencia en ambiente reductor (botella). Su disminución inicial durante el proceso de permanencia en depósito microoxigenado y con presencia de astillas podría ser debido a su efecto antioxidante, evitando mantenerse en el vino en forma libre (gráfica 96).



**Gráfica 96:** Comparación de la evolución del ácido ferúlico (%) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX



**Gráfica 97:** Comparación de la evolución del ácido sinápico (%) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX

Incluso, se ha demostrado en estudios realizados en sistemas lipídicos realizados por Guohua, C. (1997) que el **ácido sinápico** tiene un mayor efecto antioxidante que el ácido ferúlico, el cual a su vez es más activo que el p-cumárico. Asimismo han observado que el ácido sinápico tiene más capacidad antioxidante que los ácidos vanilínicos y p-hidroxibenzoico. Esto podría ser la causa de la mayor pérdida de ácido sinápico en los vinos microoxigenados principalmente durante su estancia en depósito, mientras que en los vinos al abrigo del oxígeno aumentan su concentración hasta un 100 % superior sobre el vino inicial (gráfica 97).

En general, algunos de los compuestos fenólicos descritos anteriormente además de provenir del vino también lo hacen de la etanolisis de la madera, de forma que la evolución de estos compuestos viene definida por su extracción de la madera e incluso por la interacción de estos compuestos con los propios del vino (Del Álamo, M. et al., 2002), siendo algunos de estos compuestos fenólicos no sólo buenos marcadores de envejecimiento, sino también buenos indicadores de la presencia de oxígeno en el vino envejecido.

## **V.2.8. Análisis sensorial de los vinos**

### **V.2.8.1. Estudio del efecto de la microoxigenación en los vinos**

La evaluación organoléptica de los vinos tras el tratamiento de microoxigenación y a lo largo del envejecimiento se considera un aspecto importante en la valoración final de los vinos. Se han seleccionado entre las dos fichas de cata empleadas para analizar los vinos sensorialmente de las Denominaciones de Origen Cigales y Toro (apartado IV.5.), aquellos descriptores que describieran aspectos similares. Además, para unificar resultados, los datos se han extrapolado para ser referidos todos ellos a una escala comprendida entre 0-10 puntos. Los resultados se han representado como valores promedios otorgados por los catadores.

Se han seleccionado los datos de las sesiones de cata realizadas a los 2, 6 y 12 meses de envejecimiento, momento en el que han sido coincidentes en el tiempo en ambos vinos. Las muestras se han tratado por duplicado en cada período. Se han seleccionado los vinos envejecidos en depósitos a los que se les incorporaron astillas de tostado medio de origen francés, diferenciándose los vinos por la aportación o no de oxígeno a lo largo de su envejecimiento en madera.

Con los resultados obtenidos en el ANOVA se seleccionan las variables que presentan diferencias significativas a lo largo del tiempo de envejecimiento de los vinos, sin diferenciar entre el período de envejecimiento en madera o botella, de esta forma se han seleccionado aquellas variables analíticas capaces de distinguir entre vinos envejecidos en astillas con y sin microoxigenación (tabla 35).

**Tabla 35:** Valores medios del análisis sensorial de los vinos envejecidos durante 2, 6 y 12 meses con y sin MOX. Resultados de la ANOVA

	Sistema			Tiempo de envejecimiento (mes)			
	Madera	Madera-MOX	p-Level	2	6	12	p-Level
Intensidad color	6,32a	6,32a	0,999	6,45a	5,89a	6,63a	0,465
Limpidez	6,89b	5,15a	<b>0,011</b>	6,15a	5,56a	6,36a	0,424
Rojos	5,75a	5,89a	0,243	5,63a	5,94a	5,89a	0,148
Violáceos	5,6a0	3,87a	0,138	5,71a	4,10a	4,38a	0,435
Tejas	2,34b	0,37a	<b>0,002</b>	0,87a	1,52a	1,68a	0,234
Afrutados	2,89a	3,18a	0,086	3,54c	3,03b	2,53a	<b>0,003</b>
Vegetal	2,68a	1,93a	0,177	2,17a	2,50a	2,23a	0,847
Lácticos	3,18a	2,39a	0,230	2,92a	2,63a	2,80a	0,927
Especiados	4,02b	0,49a	<b>0,000</b>	2,74a	2,10a	1,93a	0,414
Intensidad aromática	3,69a	4,63a	0,294	3,27a	4,86a	4,35a	0,331
Primarios	2,51a	3,18a	0,062	3,24a	2,85a	2,45a	0,169
Herbáceos	2,30a	2,11a	0,187	2,18ab	1,90a	2,53b	<b>0,018</b>
Madera	3,60b	1,62a	<b>0,045</b>	1,53a	2,95a	3,34a	0,221
Caramelo	2,37a	1,5a1	0,191	2,44a	1,98a	1,39a	0,392
Frutos secos	1,83b	0,75a	<b>0,012</b>	1,24a	1,27a	1,36a	0,938
Ahumado	2,05b	0,34a	<b>0,010</b>	0,99a	1,37a	1,23a	0,802
Cuero	2,18a	1,08a	0,070	1,16a	2,25a	1,48a	0,264
Balsámico	2,07a	2,11a	0,937	2,20a	1,90a	2,16a	0,872
Yodo	1,91b	0,18a	<b>0,003</b>	0,85a	1,16a	1,12a	0,743
Acidez	5,01b	3,88a	<b>0,021</b>	4,06a	4,14a	5,13a	0,097
Intensidad tánica	5,25a	5,96b	<b>0,027</b>	5,55a	5,74a	5,53a	0,755
Astringencia	5,27b	3,99a	<b>0,001</b>	4,48a	4,60a	4,81a	0,440
Untuosidad	3,86a	3,85a	0,982	3,61a	3,63a	4,31a	0,329
Persistencia	4,79a	4,81a	0,959	5,10a	4,54a	4,75a	0,633
Postgusto	4,68a	4,66a	0,971	5,03a	4,29a	4,69a	0,616

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

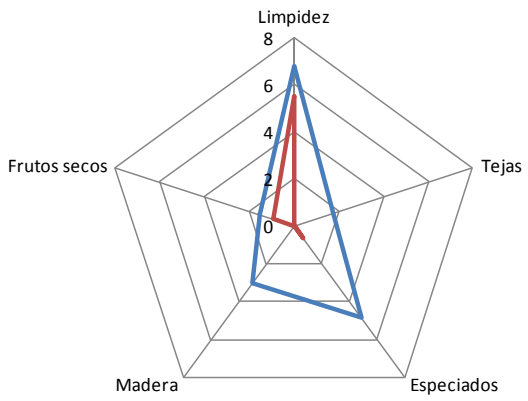
Los descriptores con diferencias significativas se han representado en las gráficas 98 y 99, a los 2, 6 y 12 meses de envejecimiento. En la **fase visual** los catadores sólo han encontrado diferencias en la limpidez y tonos tejas de los vinos. Aunque se valora a los vinos al abrigo del oxígeno como los más limpios y

tejas, destacando el aumento de la limpidez y esos tonos tejas en los vinos microoxigenados a lo largo del envejecimiento, principalmente tras 12 meses de envejecimiento. Como ya se ha reiterado en diversas ocasiones, la aportación de oxígeno ayudaría a reproducir e incluso acelerar el proceso de estabilización de la materia colorante que tiene lugar durante la crianza en barricas (Bakker, J. et al., 1997a; Fulcrand, H. et al. 1998; Atanasova, H. et al., 2002; Pérez, L. J. et al., 2003a; Zamora, F., 2003b). También es cierto que puede usarse como técnica para acelerar la crianza; ya que el vino posee un margen de aceptación de oxígeno por encima del cual no estaríamos oxigenando sino oxidando el vino provocando así una evolución negativa. Su propósito bien orientado ha sido conducir y resaltar las cualidades positivas del vino, corrigiendo las negativas y alargando su periodo de vida.

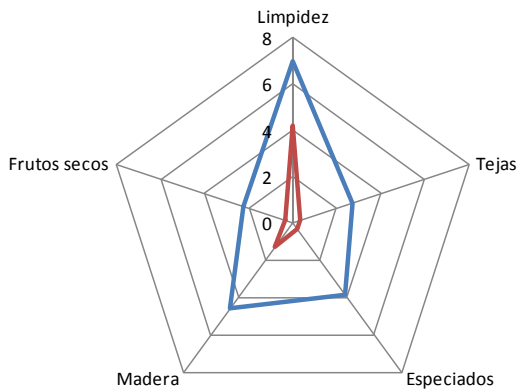
En la **fase olfativa** las diferencias se alcanzan en descriptores propios del envejecimiento en contacto con madera (astillas), como son los aromas especiados, madera, frutos secos, ahumados y yodo. En general los aromas especiados y frutos secos son menos valorados, a medida que el vino envejece en los vinos en ausencia de oxígeno, pero en los vinos microoxigenados aumentan ligeramente. Roig, G. et al., (2003) describió a la microoxigenación como una técnica que aumenta los efectos positivos sobre la expresión aromática, eliminando caracteres herbáceos o vegetales y potenciando los caracteres afrutados varietales.

Destaca el aumento tan elevado de los aromas a madera tras 12 meses de envejecimiento en los vinos microoxigenados frente a los vinos sin aportación de oxígeno. Los aromas ahumados y yodo alcanzan las puntuaciones más altas a los 6 meses de envejecimiento en ambos casos. Este mismo aumento se produce en la fase gustativa a los 6 meses para los descriptores acidez y astringencia, aunque el descriptor que define a vinos astringentes no muestra diferencias entre los vinos con y sin oxígeno, tras 12 meses de envejecimiento.

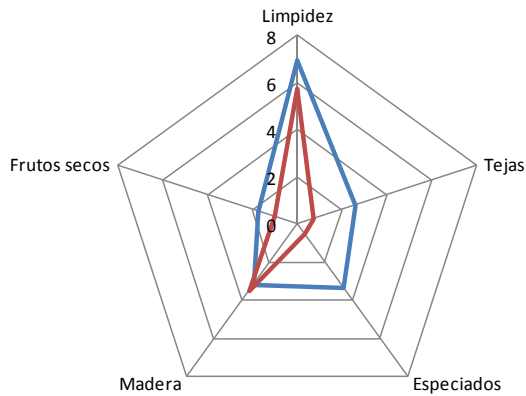
Destaca en **fase gustativa** la valoración tan elevada que han otorgado los catadores a la intensidad tánica en los vinos envejecidos con aportación de oxígeno. Este resultado contradice el efecto esperado del oxígeno sobre la astringencia o tanicidad de los vinos, ya que al disminuir el número de grupos hidroxilos por polimerización gracias al oxígeno se mitiga la reacción con la proteína de la boca (Galvin, C., 1993; Ribéreau-Gayon, P. et al., 1998) haciendo a los vinos menos astringentes. Pizarro, C. et al. (2013) observaron en vinos tintos D. O. Navarra tratados con astillas de roble americano de tostado medio y microoxigenación, diferencias significativas en los atributos maderizado, astringencia y sequedad, aumentando progresivamente la intensidad de estos descriptores a lo largo del proceso de envejecimiento. Aunque diversos autores han descrito los aportes controlados de oxígeno como una técnica para lograr el desarrollo de la estructura de los vinos, suavizando la astringencia (Glories, Y., 1984a; Robichaud, L., 1990).



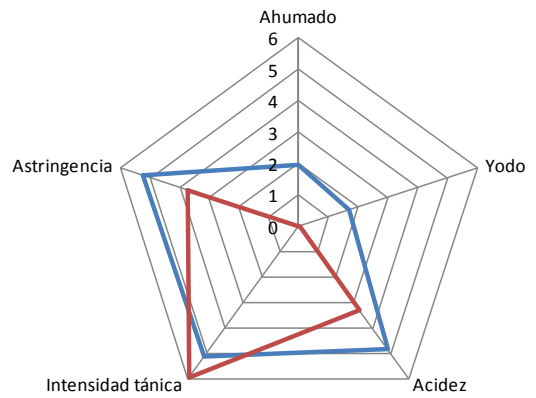
Tiempo de envejecimiento (2 meses)



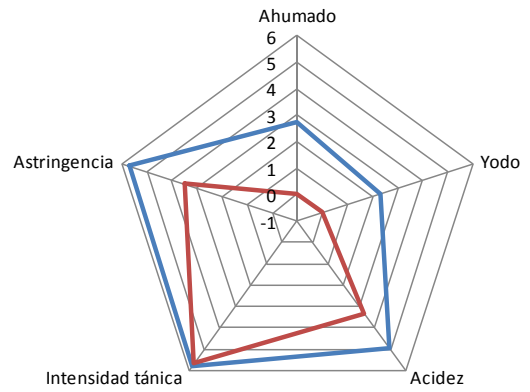
Tiempo de envejecimiento (6 meses)



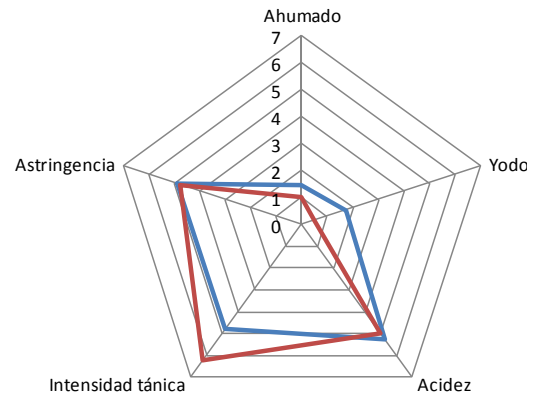
Tiempo de envejecimiento (12 meses)



Tiempo de envejecimiento (2 meses)



Tiempo de envejecimiento (6 meses)



Tiempo de envejecimiento (12 meses)

**Gráfica 98:** Análisis sensorial a los 2, 6 y 12 meses de envejecimiento en madera con y sin microoxigenación (fase visual y olfativa)

**Gráfica 99:** Análisis sensorial a los 2, 6 y 12 meses de envejecimiento en madera con y sin microoxigenación (fase olfativa y gustativa)

### V.2.8.2. Análisis multivariante de los vinos sometidos a microoxigenación

Con los descriptores que diferencian estadísticamente a los vinos microoxigenados de los que no han recibido oxígeno extra ( $p$ -Level  $<0,05$ ), se ha llevado a cabo el análisis discriminante lineal con el fin de identificar y evaluar las relaciones entre los descriptores para diferenciar a los vinos microoxigenados. Para poder efectuar este análisis discriminante lineal ha sido necesario incluir el vino control de los vinos D.O. Cigales y D.O. Toro, que han permanecido en depósito sin astillas y sin presencia de oxígeno, al que se ha efectuado un análisis sensorial a los 2 meses de envejecimiento.

En la tabla 36 se presentan los atributos significativamente distintos (ANOVA, tabla 35) que se han seleccionado para realizar el análisis discriminante, en ella se observa el peso de cada parámetro en las funciones discriminantes, siendo significativos los aromas especiados, madera y yodo.

**Tabla 36:** Resumen del análisis de funciones discriminantes

	Wilks y apos; Parcial F-remove p-level Toler. 1-Toler.					
<b>Limpidez</b>	0,0211	0,8878	0,8844	0,4348	0,5255	0,4745
<b>Tejas</b>	0,0196	0,9572	0,3130	0,7363	0,7370	0,2630
<b>Especiados</b>	0,0439	0,4274	9,3795	<b>0,0026</b>	0,3511	0,6489
<b>Madera</b>	0,0297	0,6329	4,0604	<b>0,0407</b>	0,3264	0,6736
<b>Frutos secos</b>	0,0209	0,8977	0,7977	0,4698	0,4155	0,5845
<b>Ahumado</b>	0,0200	0,9377	0,4652	0,6374	0,3161	0,6839
<b>Yodo</b>	0,0416	0,4506	8,5336	<b>0,0038</b>	0,6145	0,3855
<b>Acidez</b>	0,0279	0,6724	3,4099	0,0622	0,6085	0,3915
<b>Intensidad tánica</b>	0,0277	0,6765	3,3478	0,0648	0,4583	0,5417
<b>Astringencia</b>	0,0275	0,6822	3,2603	0,0688	0,4486	0,5514

Nº. de vars en model: 11; Grupos: Tipo (4 grps) Wilks' Lambda: ,01877 approx. F (20,28)=8,8191  $p < ,0000$

En la tabla 37 se muestran el número de muestras correctamente clasificadas. Se observa que el 100,00 % de los casos se encuentran clasificados correctamente, por tanto, el modelo obtenido podrá considerarse válido para diferenciar adecuadamente entre vinos con y sin oxígeno.



**Tabla 37:** Matriz de clasificación de los vinos envejecidos con y sin MOX

	Porcentaje de casos clasificados correctamente			
	Astillas	Astillas-MOX	Control	
<b>Astillas</b>	100,00	12	0	0
<b>Astillas-MOX</b>	100,00	0	12	0
<b>Control</b>	100,00	0	0	2
<b>Total</b>	100,00	12	12	2

Filas: casos observados; Columnas: casos predichos

La tabla 38 representa los coeficientes estandarizados de las funciones canónicas discriminantes, que contienen los grupos correlacionados de cada variable predictiva con valores propios de función canónica (función 1 y 2), el total de la varianza explicada y las variables altamente correlacionadas con función 1 y 2, que aparecen destacadas en negrita. En ella se observa que la función 1 explica el 92,22 % de la varianza, con un valor propio de 19,284. Seleccionando las variables de esta función canónica con los coeficientes más altos, se observa una gran relación positiva con el atributo madera y negativa con la limpidez, los aromas especiados y yodo. La función canónica 2 también es capaz de alcanzar un valor propio superior a 1 (1,6267), explicando ambas funciones una varianza del 100,00 %, por lo que aporta información relevante y se relaciona positivamente con los descriptores astringencia y ahumados y negativamente con tejas, acidez e intensidad tánica.

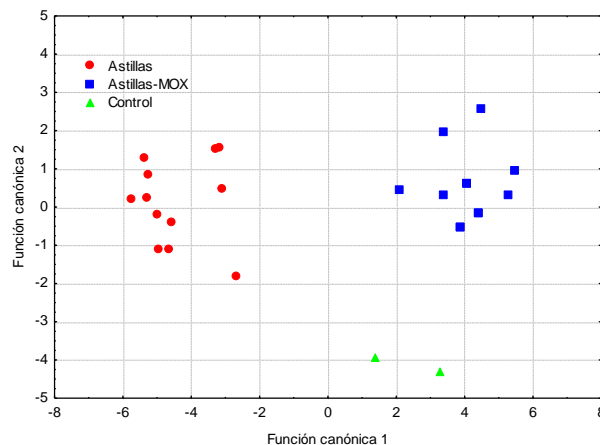
**Tabla 38:** Coeficientes estandarizados de las variables canónicas discriminantes de los vinos envejecidos con y sin MOX

	Función 1	Función 2
<b>Limpidez</b>	-0,4211	0,2691
<b>Tejas</b>	-0,0295	-0,3040
<b>Especiados</b>	-1,0363	-0,9926
<b>Madera</b>	1,0652	-0,2731
<b>Frutos secos</b>	-0,4137	0,3672
<b>Ahumado</b>	0,1068	0,5485
<b>Yodo</b>	-0,9696	-0,0163
<b>Acidez</b>	-0,4972	-0,6998
<b>Intensidad tánica</b>	0,6458	-0,7069
<b>Astringencia</b>	0,1884	1,0437
<b>Valor propio (Eigenv.)</b>	19,2840	1,6267
<b>% varianza explicada</b>	92,22	100,00

Se ha realizado una representación (gráfica 100) de los vinos en el plano formado por las funciones canónicas 1 y 2, se observa a los vinos elaborados con microoxigenación en un espacio en el gráfico,

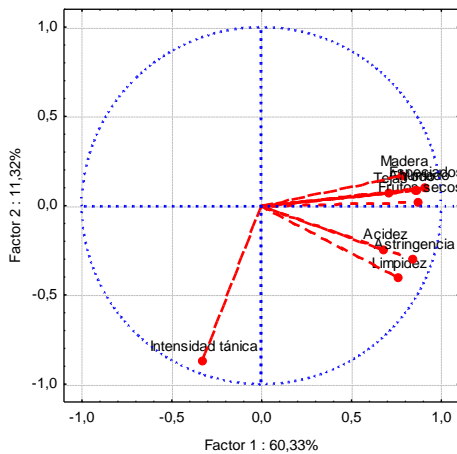
perfectamente diferenciado. Estos vinos se sitúan en el eje positivo de la función 1, definidos por la variable madera, se trata por tanto de vinos con atributos de contacto con astillas más marcados, frente a los vinos elaborados sin oxígeno añadido, situándose en el eje negativo definidos limpidez, aromas especiados y yodo, que representan vinos más evolucionados en aromas.

La función canónica 2 también es capaz de alcanzar un valor propio superior a 1 (1,6267), explicando ambas funciones una varianza del 100,00 %, por lo que aporta información relevante y se relaciona positivamente con los descriptores astringencia y ahumados y negativamente con tejas, acidez e intensidad tánica. La función canónica 2 diferencia en el eje positivo a los vinos envejecidos en astillas-MOX, aunque también se posicionan la mayoría de los casos analizados en los vinos envejecidos al abrigo del aire (Astillas) por una mayor valoración en descriptores como astringencia y ahumados y en el eje negativo a los vinos control, que se caracterizan por ser más tejas, ácidos, tejas y con mayor intensidad tánica que los vinos envejecidos en astillas con y sin oxígeno. El dato aportado por la intensidad tánica, puede llevar a error en la interpretación de los resultados, aunque también es posible que los catadores apreciaran mayor intensidad tánica, refiriéndose a la aportación de tanino herbáceo o verde que aporta el raspón o las pepitas poco maduras de las uvas, y que sin aportación de oxígeno y madera que ayude a suavizarlos, se apreciaría con mayor intensidad en los vinos control.

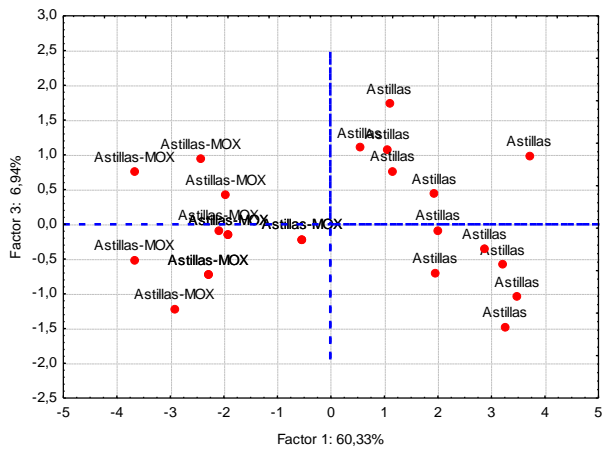


**Gráfica 100:** Análisis discriminante canónico del análisis sensorial de los vinos envejecidos con y sin MOX.

Un desarrollo PCA de las 10 variables más diferenciadoras entre los vinos con y sin oxígeno ha hecho posible diferenciar los vinos por el sistema en el que han envejecido. Parece que la aportación de astillas sin microoxigenación da lugar a vinos definidos por los descriptores astringencia, acidez, madera, ahumados..., ubicándose en el eje positivo del factor 1.



**Gráfica 101:** Distribución de las variables en el plano definido por los dos primeros factores de los vinos con y sin MOX



**Gráfica 102:** Distribución de los casos en el plano definido por los dos primeros factores de los vinos con y sin MOX

### V.2.9. Conclusiones del capítulo 2

De la comparación entre las características de los vinos tintos (sometidos a un envejecimiento con astillas y con y sin microoxigenación) se ha obtenido que los vinos envejecidos con aportaciones de oxígeno han presentado:

- Parámetros enológicos significativamente más altos en glicerol, extracto seco y pH, y más bajos en ácido tartárico, antocianos totales, acidez total, acidez volátil y azúcares. Parece influir significativamente en una menor liberación de azúcares tanto por hidrólisis de los antocianos del vino, como de los taninos provenientes de la madera. Además se facilita la precipitación tartárica, ya que disminuye la existencia de ácido tartárico en los vinos, por inestabilidad.
- Mayor pérdida de antocianos totales, que podría ser debida inicialmente a una degradación oxidativa producida por la adición de oxígeno. Aunque los resultados revelan que en períodos prolongados de envejecimiento (hasta 28 meses), los vinos que inicialmente fueron microoxigenados pierden antocianos totales, pero de manera menos acusada que los que no se microoxigenaron.
- Han presentado valores significativamente inferiores en polifenoles totales (PT Folin), polifenoles poco polimerizados (PPP), taninos (TAN), intensidad colorante (IC), componente roja (%A520), luminosidad (L), relación amarillo-azul ( $b^*$ ) y tono o matiz (H) y más elevados de tonalidad (T), componente amarilla (%A420), importancia del color rojo (%dA), relación rojo-verde ( $a^*$ ), croma ( $C^*$ ).
- Se ha producido una pérdida de compuestos fenólicos y color por procesos de reacción con los compuestos existentes en el vino (condensación antociano-tanino o polimerización tanino-tanino). Menores polifenoles poco polimerizados (PPP), demostrando que el oxígeno favorece

los procesos de polimerización o condensación entre los compuestos fenólicos presentes en el vino o aportados por la madera. Sin embargo, cuando el vino se introduce en un ambiente reductor parte de estos compuestos se recuperan, provenientes de procesos de hidrólisis, permitiendo a los vinos mantener niveles más elevados.

- La tonalidad se eleva, la componente amarilla (%A420), importancia del rojo (%dA) y luminosidad aumentan y la componente roja (%A520) disminuye, confirmando la evolución más rápida de los parámetros de color en los vinos microoxigenados. Aumenta la componente  $a^*$ , y mantiene los valores más altos del color azul, como consecuencia de las reacciones de condensación entre antocianos y taninos con etanal como intermediario y en presencia de oxígeno y por un efecto batocromo (desplazamiento a longitudes de onda más elevadas) causadas por los procesos de copigmentación. El aporte de oxígeno podría tener un efecto acelerante en la pérdida de intensidad colorante, ya que mantienen valores más elevados de contribución al color del vinos ( $C^*$ ).
- En vista de los resultados obtenidos en los parámetros de color, existe una controversia con los resultados dependiendo del método empleado en la determinación del color, así los parámetros de color por el método de Glories definen a los vinos microoxigenados como vinos con mayor componente amarilla y mayor pérdida de rojos, es decir, vinos más envejecidos y con menor intensidad en color, pero los datos obtenidos a partir de las coordenadas CIELab determinan que los vinos mantienen mayor intensidad en color, son vinos más azules y más rojos cuando los vinos son microoxigenados.
- Mayor pérdida de antocianos monómeros y menor pérdida de antocianos acilados y cumarilados, siendo significativamente mayores en Vitisin A (Mv-3-Gl-Py).
- Valores significativamente superiores para la relación pigmento polimérico respecto de los antocianos en forma flavilium (ii), para el porcentaje de antocianos que se encuentran como ión flavilium tras suprimir el efecto del sulfuroso ( $\alpha\alpha$ ) y significativamente inferiores para la relación de los antocianos en forma flavilium respecto a los antocianos totales del vino (i/ii) y para el porcentaje de antocianos que se encuentran como ion flavilium ( $\alpha$ ). Estos resultados muestran claramente la influencia del tratamiento de microoxigenación en las reacciones de polimerización de los antocianos, siendo más importantes en estos vinos. Destaca el resultado observado en la fase final del envejecimiento en botella, dado que la pérdida de antocianos flavilium en los vinos microoxigenados se ve mitigada, y han favorecido la polimerización de los antocianos, dando lugar a la formación de compuestos más resistentes a la decoloración. Sin embargo, al final del proceso de envejecimiento (24-28 meses) los vinos microoxigenados ya no han sido capaces de mantener valores elevados de antocianos libres y su concentración cae por debajo de los valores que alcanzan los vinos al abrigo del oxígeno.

- Menores niveles de los compuestos fenólicos ácido gálico, vanillina, ácido protocatéquico, ácido vanillínico, ácido caféico y ácido sinápico y aumento de catequina, ácido siríngico, epicatequina, y ácido ferúlico. El ácido gálico disminuye por la presencia de oxígeno y la vanillina ha tenido un aumento más limitado porque se han fomentado las reacciones de la vanillina con flavanoles y antocianos. Aumento del ácido protocatéquico debida a su formación a partir del aldehído protocatéquico, por los procesos de oxidación. Menor ácido vanillínico y ácido caféico (debido a la condensación con antocianos para dar compuestos acilados). Este resultado confirmaría que el oxígeno favorece las reacciones de copigmentación, atenuando en cierta medida la disminución del color formado por la formación de un piranoantociano, aunque este proceso de unión parece estar limitado a los primeros meses de envejecimiento. Mayor pérdida de ácido siríngico por su elevada capacidad antioxidante (Guohua, C., 1997).
- En el análisis sensorial destaca el aumento de la limpidez y tonos tejas en los vinos microoxigenados a lo largo del envejecimiento, principalmente tras 12 meses de envejecimiento. En general aumentan los aromas especiados y frutos secos ligeramente. Destaca el elevado aumento de los aromas a madera descrito tras 12 meses de envejecimiento y en boca la elevada valoración que han otorgado los catadores a la intensidad tánica. Además el análisis multivariante refleja la capacidad de los catadores de diferenciar a los vinos que han sido microoxigenados de los que no han tenido tal aportación.



### V.3. CAPÍTULO 3: EFECTO DEL TIPO DE TOSTADO Y MOMENTO DE ADICION DE LAS ASTILLAS JUNTO A MICROOXIGENACIÓN EN LAS CARACTERÍSTICAS FENÓLICAS DE LOS VINOS TINTOS

#### V.3.1. Resumen

Como se ha indicado en capítulos anteriores, un parámetro que merece especial relevancia en los vinos es su color, ya que define su calidad y determina la vida útil del mismo. La presencia e interacción de los compuestos fenólicos con la madera definen su evolución, esta interacción hace imprescindible la necesidad de evaluar el grado de tostado y el momento de adición de las astillas junto a la aportación de oxígeno al vino para conocer el comportamiento de los compuestos fenólicos y su efecto a lo largo del proceso de envejecimiento, estableciendo especial mención en este capítulo la formación de nuevos compuestos por interacciones a lo largo del tiempo de envejecimiento. Parece por tanto interesante, destacar los compuestos fenólicos implicados en los procesos de copigmentación, polimerización y formación de piranoantocianos.

El proceso de copigmentación, se produce en medio acuoso y que afecta a los antocianos monómeros en su forma de catión flavilium y a otros compuestos fenólicos, normalmente no pigmentados, denominados copigmentos o cofactores de copigmentación. Por lo tanto, la copigmentación actúa disminuyendo el número de formas libres (Boulton, R., 2001).

La evolución y estabilización del color de los vinos tintos durante su envejecimiento han sido atribuidas clásicamente a la formación de pigmentos poliméricos, por reacción entre los antocianos monómeros y los flavan-3-oles (taninos). Se sabe que el acetaldehído acelera la formación de estos pigmentos antocianicos poliméricos, actuando de nexo de unión entre los antocianos y los taninos.

Sin embargo, en los últimos años se han aislado e identificado una serie de pigmentos derivados de los antocianos monómeros que se caracterizan por poseer un anillo de pirano adicional que está fusionado con el esqueleto flavonoideo del catión flavilium del antociano original. Estos nuevos pigmentos denominados piranoantocianos participan en la formación de pigmentos poliméricos entre antocianos y taninos, y por lo tanto en el proceso de estabilización del color durante el envejecimiento de los vinos tintos. Se forman en los vinos tintos por la presencia de ácidos hidroxicinámicos y antocianos tras unos meses de envejecimiento (Rentsch, M., 2007).

Este experimento ha pretendido supervisar la variación de algunas características cuantitativas y cualitativas de un vino tinto en contacto con astillas de roble de diversos tostados al que se le han aplicado pequeñas dosis de oxígeno. Además se ha pretendido simular los efectos que el envejecimiento de un vino en contacto con una bodega de roble de origen francés produce sobre los componentes del vino. Su efecto al aplicar diferentes tostados y si las mezclas de diversos tostados de la madera y su adición al vino en distintos tiempos tiene efectos significativos diferenciadores sobre el vino final. Por ello, el objetivo de este capítulo es evaluar las diferencias en la composición fenólica del vino procedente de

los distintos sistemas de envejecimiento (barricas y depósitos con Astillas+MOX) a fin de estimar qué sistema permite estabilizar más el color de los vinos y por lo tanto alargar su vida útil. Para ello, se ha evaluado la contribución de la copigmentación en la medida del color en el vino, analizando la relación entre el grado de copigmentación, la composición fenólica y la edad química del mismo. Se pretenden encontrar, de entre las variables analíticas evaluadas, aquellas que permitan diferenciar a los vinos envejecidos en diversos sistemas (madera-MOX y barrica) o, de no encontrarse tales diferencias, evaluar el sistema de envejecimiento alternativo estudiado que más se asemeje a la barrica, con el fin de ofrecer un vino que alcance las características propias de un envejecimiento en barrica en un tiempo menor y con menos costes.

### V.3.2. Vino estudiado

Los resultados que se presentan a continuación se han obtenido a partir del envejecimiento de un vino tinto de variedad Tinta de Toro de la D.O. Toro (Bodegas Bajoz, Morales de Toro (Zamora)). Se han establecido un total de 4 sistemas de envejecimiento con madera de roble francés descritos en el apartado de materiales y métodos y representados en la tabla 39, destacando que tanto las barricas y como las astillas han sufrido distintos niveles de tostado (ligero, medio y fuerte). Además, a los vinos tratados con astillas en depósitos de acero inoxidable se han adicionado pequeñas dosis de oxígeno (0,01-0,1 mL/L.mes) con un equipo dosificador de oxígeno Ducounau-Laplace (OENODEV) que ha permitido simular la microoxigenación ejercida a través de la madera de la barrica sobre el vino, junto con un medidor de oxígeno disuelto (LDO HQ10 de la marca HACH®) que ha permitido evaluar la cantidad de oxígeno disuelto presente en el vino. El tiempo de envejecimiento se ha dividido en 2 períodos (madera: 6 meses y botella: 22 meses). Durante el período de madera se ha tomado muestra de los diversos sistemas en los que ha permanecido el vino a los 2, 4, 5 y 6 meses de envejecimiento y durante el período de botella se ha realizado un muestreo a los 12, 19, 24 y 28 meses desde el inicio. Siendo un total de 9 muestreos analizados por duplicado (234 muestras analizadas).

**Tabla 39:** Sistemas empleados en un vino tinto variedad Tinta de Toro de la D.O. Toro para el estudio de su comportamiento durante el proceso de envejecimiento.

Depósito	Tostado	Mezcla	Tipo de envejecimiento	Recipiente
D0	no	no	control	Depósito
D1	Ligero	2 g/L BF + 2 g/L SCA	Astillas-MOX 1	Depósito + MOX
D2	Ligero	3 g/L BF	Astillas-MOX 2	Depósito + MOX
D3	Medio	2 g/L BF + 2 g/L DC180	Astillas-MOX 1	Depósito + MOX
D4	Medio	3 g/L DC180	Astillas-MOX 2	Depósito + MOX
D5	Fuerte	2 g/L BF + 2 g/L DC210	Astillas-MOX 1	Depósito + MOX
D6	Fuerte	3 g/L DC210	Astillas-MOX 2	Depósito + MOX
D7	Ligero	2 g/L BF + 2 g/L SCA a los 45 días	Astillas-MOX 3	Depósito + MOX
D8	Medio	2 g/L BF + 2 g/L DC180 a los 45 días	Astillas-MOX 3	Depósito + MOX
D9	Fuerte	2 g/L BF + 2 g/L DC210 a los 45 días	Astillas-MOX 3	Depósito + MOX
D10-D11	Ligero	Ligero	Barrica	Barrica
D12-D13	Medio	Medio	Barrica	Barrica
D14-D15	Fuerte	Fuerte	Barrica	Barrica



A diferencia de los vinos analizados en el capítulo 1, donde con la aportación de astillas / tablonos no recibían aporte adicional de oxígeno, en este ensayo se ha incorporado este factor que ayuda a asemejar el envejecimiento en barricas a los sistemas alternativos (madera-MOX). Se sabe que uno de los efectos de la dosificación controlada de oxígeno es la modificación significativa tanto cuantitativa como cualitativamente de la fracción fenólica de los vinos (González, M. L. et al., 2005), aspecto que se ha tratado de cuantificar en este experimento.

A continuación se mostrarán los datos del vino inicial (T0), y su evolución en los diversos sistemas y tostados analizados durante su período de estancia en recipiente en contacto con madera y oxígeno durante 6 meses (T2-6) y su estancia en botella durante los 22 meses siguientes (T12, 19, 24 y 28).

### V.3.3. Parámetros enológicos básicos del vino

Los datos iniciales (T0) del vino de la variedad Tinta de Toro de la DO Toro han sido un pH de 3,37, una acidez total de 5,5 g/L, anhídrido sulfuroso libre de 32 mg/L, grado alcohólico 13,7 % v/v, acidez volátil 0,45 g/L, ácido tartárico 2,0 g/L, índice de polifenoles totales (IPT) 88, antocianos totales 807 mg/L y extracto seco 30,4 g/L entre otros (tabla 29).

Los datos mostrados en la tabla 4 (apartado IV.1) dan una idea del vino de partida, donde se deduce que el vino cumple los criterios necesarios para ser envejecido con madera, dado que ha seguido un proceso correcto de elaboración en la fase fermentativa, en la que los azúcares han disminuido hasta un valor de 1,3 g/L, logrando un grado alcohólico de 13,7 % v/v. Continuando con una fermentación maloláctica hasta valores de málico de 0,1 g/L. Ambas fermentaciones han llevado al vino a una acidez volátil de 0,45 g/L y un pH de 3,37. Además del pH bajo y un buen grado alcohólico, que ayudarán a favorecer los procesos de un buen envejecimiento del vino en las fases tanto oxidativa como reductora, destacan los valores de partida de compuestos como antocianos totales e índice de polifenoles totales (IPT), siendo respectivamente de 807 mg/L y 88. Valores elevados característicos de la variedad Tinta de Toro que hacen a los vinos idóneos para el envejecimiento, soportando tanto el aporte de madera de diversos tostados como la incorporación de oxígeno a lo largo de todo el proceso de envejecimiento en depósitos, así como prolongados tiempos de envejecimiento en botella.

La información obtenida estadísticamente mediante un análisis de varianza (ANOVA), para los parámetros básicos del vino desde que inicia su proceso de envejecimiento en contacto con madera hasta el final de su seguimiento en botella, se muestran las tablas 40 y 41, en ellas se han comparado el nivel de tostado de la madera (ligero, medio y fuerte), así como el sistema de envejecimiento (astillas-MOX y barricas) diferenciando entre período de madera y botella; excepto los resultados del análisis sensorial que se han analizado conjuntamente. Las tablas recogen los p-valores, que indican la importancia estadística de cada uno de ellos. Los p-valores inferiores a 0,05 indican que dicho factor afecta de forma estadísticamente significativa sobre el parámetro correspondiente para un 95 % y se indican en negrita.

**Tabla 40:** Valores medios de los parámetros básicos de los vinos envejecidos durante 6 meses en maderas de distinto tostados (ligero, medio y fuerte) y sistemas (astillas-MOX 1, astillas-MOX 2, astillas-MOX 3 y barricas).

Resultados de la ANOVA

	Tostado				Sistema				
	Ligero	Medio	Fuerte	p level	Astillas-MOX 1	Astillas-MOX 2	Astillas-MOX 3	Barrica	p level
Ácido tartárico <sup>1</sup>	1,6a	1,6a	1,6a	0,139	1,6a	1,6a	1,6a	1,6a	0,253
Glicerol <sup>1</sup>	8,7a	8,7a	8,7a	0,651	8,7a	8,7a	8,7b	8,6a	<b>0,012</b>
Antocianos totales <sup>2</sup>	510a	517a	506a	0,688	512a	506a	520a	506a	0,703
K <sup>2</sup>	1064a	1067a	1065a	0,788	1071a	1060a	1067a	1064a	0,188
IPT	85a	85a	85a	0,199	85b	84a	85c	85c	<b>0,000</b>
Grado alcohólico <sup>3</sup>	14,0a	14,0a	14,0a	0,300	14,0a	14,0a	14,0a	14,0a	0,217
Ext. Seco <sup>1</sup>	32,3a	32,3a	32,7b	<b>0,000</b>	32,1a	32,5b	32,5b	32,6b	<b>0,000</b>
Acidez total <sup>1</sup>	5,5a	5,5a	5,5a	0,717	5,5a	5,5a	5,5a	5,6b	<b>0,000</b>
Acidez volátil <sup>1</sup>	0,46a	0,46a	0,45a	0,480	0,44a	0,44a	0,42a	0,53b	<b>0,000</b>
SO <sub>2</sub> libre <sup>2</sup>	16a	16a	16a	0,990	14a	16a	18a	15a	0,626
Azúcares <sup>1</sup>	1,3a	1,3a	1,3a	0,584	1,3a	1,3a	1,3a	1,3a	0,724
Densidad	0,8950a	0,8922a	0,8503a	0,800	0,8950a	0,8950a	0,8354a	0,8912a	0,877
pH	3,35a	3,35a	3,35a	0,997	3,36a	3,35a	3,35a	3,35a	0,955
Ácido málico <sup>1</sup>	0,1a	0,1a	0,1a	0,971	0,1a	0,1a	0,1a	0,1a	0,925

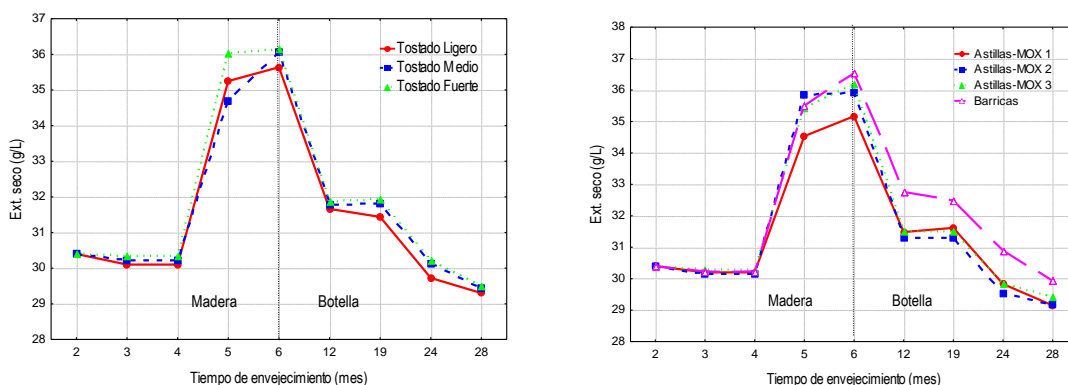
Para cada factor, letras distintas en filas indican diferencias estadísticamente significativas. En negrita se muestra el p level con significación > 95 % (p<0,05) <sup>1</sup> expresado en g/L, <sup>2</sup> expresado en mg/L, <sup>3</sup> expresado en % (v/v)

**Tabla 41:** Valores medios de los parámetros básicos de los vinos envejecidos en botella (12-28 meses) en distintos tostados (ligero, medio y fuerte) y sistemas (astillas-MOX 1, astillas-MOX 2, astillas-MOX 3 y barricas). Resultados de la ANOVA

	Tostado				Sistema				
	Ligero	Medio	Fuerte	p level	Astillas-MOX 1	Astillas-MOX 2	Astillas-MOX 3	Barrica	p level
Ácido tartárico <sup>1</sup>	1,2a	1,2a	1,2a	0,734	1,3b	1,3b	1,3b	1,0a	<b>0,023</b>
Glicerol <sup>1</sup>	9,3a	9,4a	9,3a	0,743	9,2a	9,3a	9,3a	9,6b	<b>0,000</b>
Antocianos totales <sup>2</sup>	363a	358a	355a	0,788	361a	357a	361a	356a	0,968
K <sup>2</sup>	1093a	1099a	1100a	0,854	1074a	1108a	1118a	1089a	0,058
IPT	83a	83a	83a	0,844	83a	83a	83a	84b	<b>0,000</b>
Grado alcohólico <sup>3</sup>	13,8a	13,8a	13,8a	0,772	13,7a	13,7a	13,7a	13,9b	<b>0,009</b>
Ext. Seco <sup>1</sup>	30,5a	30,8a	30,9a	0,518	30,5a	30,3a	30,6a	31,5b	<b>0,009</b>
Acidez total <sup>1</sup>	5,2a	5,2a	5,3a	0,145	5,2a	5,2a	5,2a	5,4b	<b>0,000</b>
Acidez volátil <sup>1</sup>	0,48a	0,51a	0,50a	0,466	0,43a	0,46a	0,47a	0,62b	<b>0,000</b>
SO <sub>2</sub> libre <sup>2</sup>	23a	22a	19a	0,416	22a	22a	23a	17a	0,282
Azúcares <sup>1</sup>	1,5a	1,5a	1,5a	0,242	1,5a	1,4a	1,5a	1,5b	<b>0,002</b>
Densidad	0,9009a	0,9320a	0,9321a	0,866	0,9528a	0,9112a	0,8698a	0,9530a	0,666
pH	3,45a	3,45a	3,45a	0,995	3,45a	3,46a	3,45a	3,44a	0,871
Ácido málico <sup>1</sup>	0,2a	0,2a	0,2a	0,484	0,2a	0,2a	0,2a	0,2a	0,393

Para cada factor, letras distintas en filas indican diferencias estadísticamente significativas. En negrita se muestra el p level con significación > 95 % (p<0,05) <sup>1</sup> expresado en g/L, <sup>2</sup> expresado en mg/L, <sup>3</sup> expresado en % (v/v)

Los resultados obtenidos en los vinos de los parámetros enológicos básicos han indicado que sólo se han encontrado diferencias significativas en algunos de los parámetros de los vinos envejecidos en astillas de **diferentes tostados (ligero, medio y fuerte)**. Concretamente el extracto seco es significativamente superior en los vinos envejecidos en astillas de tostado fuerte, (mientras han permanecido en madera), perdiendo tal significación en el período de botella. Si se observa la gráfica 103a parece que el vino con el tratamiento de las astillas de tostado ligero presenta valores inferiores pero no significativos en este período, lo que definiría que la intensidad del tostado de la madera aumenta ligeramente el extracto seco del vino. Destaca de manera general, para todos los vinos con independencia del tostado, el aumento tan elevado del extracto seco entre los meses 5 y 6, para posteriormente disminuir hasta valores inferiores a los datos de partida, resultado que identifica el proceso de envejecimiento en botella como un período de estabilización y sedimentación de las sustancias en suspensión. Ahora bien, el aumento producido entre los meses 5 y 6 ha podido deberse a un error en el análisis, que de ser así y no tenerse en cuenta tal aumento, parece evidente que la tendencia del extracto seco es aumentar entre los meses 5 y 19 de envejecimiento. Este aumento podría estar relacionado con la extracción de compuestos de la madera y con una importante polimerización de los fenoles, que debido a su gran tamaño aumentan el extracto del vino, pero que finalmente acaban precipitando por su elevada inestabilidad.

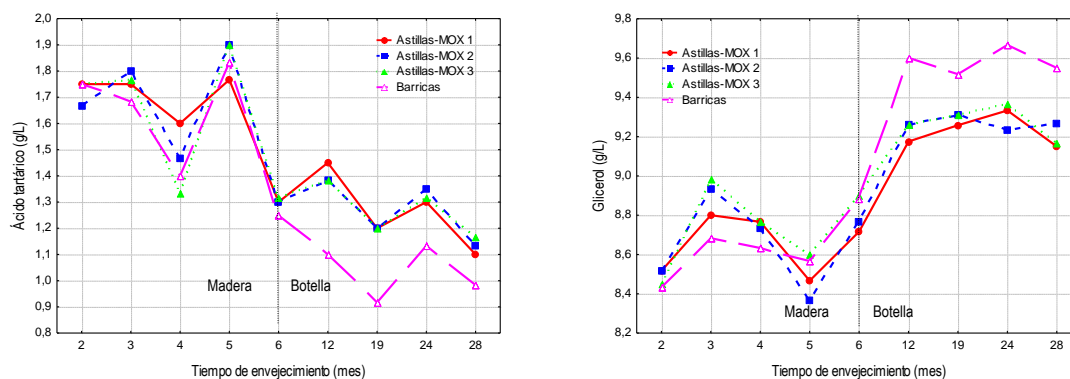


**Gráfica 103:** Evolución del extracto seco (mg/L) del vino durante la crianza en madera y botella de un vino de diferentes tostados (a) y distintos sistemas (b) de envejecimiento

Analizando el vino envejecido en **diferentes sistemas (astillas-MOX 1, astillas-MOX 2, astillas-MOX 3 y barricas)** se ha encontrado que las diferencias aumentan especialmente cuando el vino envejece en barricas, no siendo significativo el momento de adición de las astillas o la diferencia entre la composición final de la dosificación de las mismas. Analizando los vinos envejecidos en barricas el parámetro que alcanza los valores más bajos en este recipiente es el ácido tartárico. Por el contrario el vino en contacto con la barrica mantiene valores significativamente más altos (respecto a los vinos en contacto con astillas y microoxigenación) de glicerol, índice de polifenoles totales (IPT, grado alcohólico (% v/v), extracto seco (g/L), acidez total (g/L de á. tartárico), acidez volátil (g/L de á. acético) y azúcares (g/L) (tablas 40 y 41). En el capítulo 1 ya se observó una diferencia significativa de algunos de estos parámetros para los vinos que permanecieron en contacto con astillas, tablonos y barricas, a pesar de tratarse de un vino diferente y al que no se aportó oxígeno durante el proceso de envejecimiento en depósitos. Siendo máxima la diferenciación, en los vinos envejecidos en barricas, en su período de envejecimiento en botella.

Las concentraciones de **extracto seco** en los vinos envejecidos en diferentes sistemas (astillas-MOX y barricas) presentan un aumento en la fase de madera para posteriormente disminuir durante el envejecimiento en botella. Siendo los vinos envejecidos en barrica los que presentan un valor más elevado del extracto seco. Esta pérdida de extracto seco podría ser compensada en los vinos en contacto inicialmente con barricas por una mayor aportación de compuestos fenólicos en este sistema (Moutounet, M. et al., 1992; Vivas, N. et al., 1996c; Puech, J. L. et al., 1999) ayudando así a mantener valores más elevados de extracto seco.

El **ácido tartárico** en el vino presenta una importante inestabilidad cuando se transforma en su correspondiente sal, lo que se traduce en una precipitación de la misma y su pérdida como componente ácida. Si se observa la gráfica 104a se comprueba una pérdida de ácido tartárico en los vinos principalmente en su fase de envejecimiento en botella, siendo significativamente mayor en los vinos que permanecieron inicialmente en barrica, pudiéndose deducir que la barrica fomenta la formación de las sales tartáricas cuando el vino cambia de recipiente (de madera a botella).

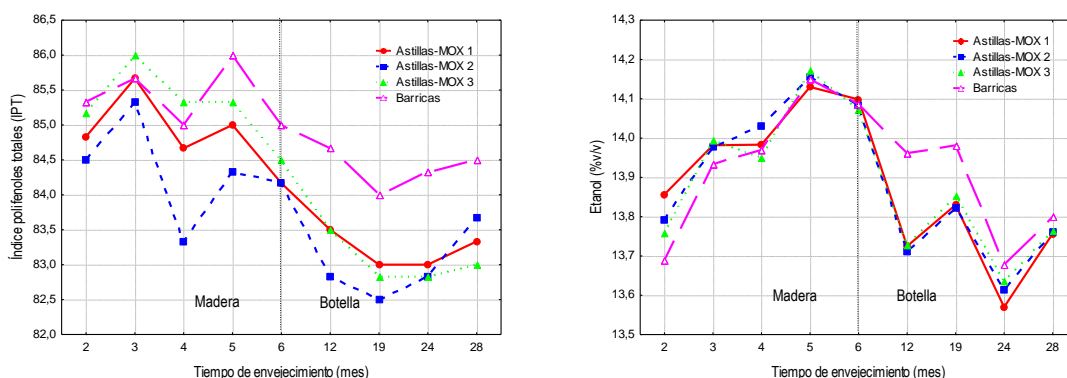


**Gráfica 104:** Evolución del ácido tartárico (g/L) (a) y el glicerol (g/L) (b) del vino durante la crianza en madera y botella de un vino en diversos sistemas de envejecimiento

Respecto a la presencia de **glicerol**, componente organolépticamente positivo en los vinos, se observa en los primeros meses de envejecimiento (2-3 meses) un aumento en su concentración (gráfica 104b), siendo más elevado en aquellos vinos a los que se les ha incorporado astillas en dosis iniciales menores astillas-MOX 2 (3 g/L) y astillas-MOX 3 (4 g/L); frente a las astillas-MOX 1 (4 g/L). La presencia de glicerol en los vinos envejecidos en barricas también es menor. Parece que los resultados obtenidos indicarían una mayor concentración de glicerol en vinos con menor aportación de madera en las primeras fases de envejecimiento. Estos resultados se ven mitigados durante los siguientes meses de envejecimiento (4-6 meses), incluso en la fase final de envejecimiento (botella: 12-28 meses) los vinos que aumentan significativamente su contenido en glicerol han sido los que inicialmente permanecieron en barrica. La barrica es por tanto el recipiente de manera global en el que se observa un mayor aumento de glicerol en los vinos.

Valores inferiores del **índice de polifenoles totales** (IPT) en vinos criados en depósito de acero inoxidable en comparación con los vinos que permanecieron en barricas ya ha sido encontrado por

autores como Vivas, N. et al. (1993) y Haba, M. et al. (1995) e indicado en el capítulo 1. Sin embargo, una nueva apreciación ha sido que el aporte de madera y la incorporación de oxígeno al vino han ayudado a que esas diferencias, aunque significativas se acorten, de manera que si observamos la tabla 41 (botella) la diferencia del valor del IPT por término medio entre un vino con astillas-MOX (IPT=83) y un vino en barrica (IPT= 84) es de 1 punto, frente a un vino que sólo se le ha aportado astillas como se llevara a cabo en el capítulo 1, donde las diferencias entre astillas (IPT=56) y barricas (IPT= 59) han sido de 4 puntos, esto indicaría que la aportación de oxígeno hace que los resultados adquiridos en los vinos Astillas-MOX se aproximen más a los encontrados en un vino envejecido en barrica. Sánchez, M. (2007) ha efectuado un envejecimiento durante 24 meses de un vino previamente microoxigenado durante la fase de elaboración y posteriormente envejecido en barrica, no encontrando diferencias estadísticamente significativas entre el vino testigo y microoxigenado en ninguna de las variedades estudiadas (Mencia, Tinto del País, Tinta de Toro, Tempranillo y Tinto Fino) en lo que al contenido de polifenoles totales se refiere medido como IPT. Tampoco encontraron diferencias significativas entre los vinos Celayeta, G. et al. (2003) y Llaudy, M. D. et al. (2006), quienes aplicaron pequeñas cantidades de oxígeno durante la crianza en barrica los primeros autores, y durante tres meses en tanques de acero inoxidable y posterior envejecimiento del vino durante ocho meses en barrica los segundos autores.



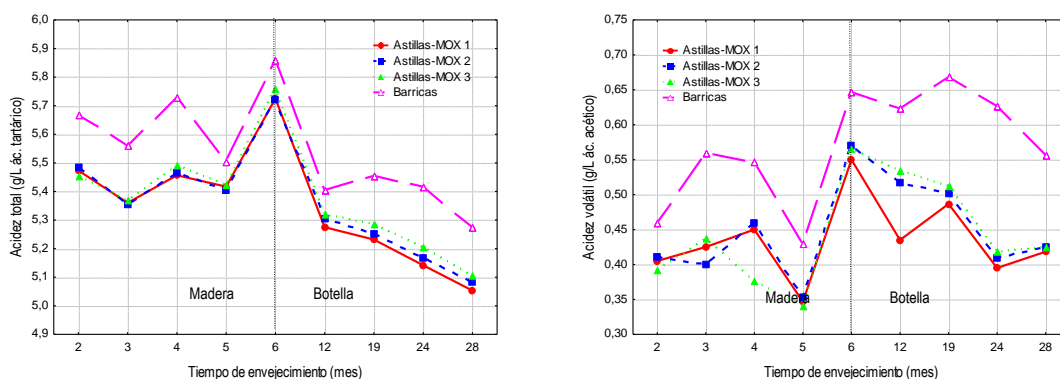
**Gráfica 105 :** Evolución del índice de polifenoles totales (IPT) (a) y el grado alcohólico (%) (b) del vino durante la crianza en madera y botella de un vino en diversos sistemas de envejecimiento

Una de las justificaciones del aumento del **grado alcohólico** (% v/v) durante el envejecimiento de un vino, es debida a la evaporación del agua a través de las duelas y de las uniones entreduelas de las barricas y a los procesos de etanólisis de la madera, o a la capacidad de absorción de la madera. La gráfica 105b parece indicar que el aumento del grado alcohólico se produce tanto en vinos en barricas como en vinos aislados del exterior (depósitos) en los primeros 5 meses de envejecimiento, aumentando la hipótesis de la etanólisis de la madera o la absorción de agua de la madera para aumentar el valor del porcentaje de alcohol global presente en el vino. Sin embargo, para un volumen de 225 L de capacidad total parece poco probable que el aumento de la concentración de alcohol sea capaz de producir un incremento del mismo de entre 0,3-0,4 % de alcohol, afianzando la suma de las dos hipótesis, un proceso de etanólisis sumado a un aumento de la absorción de agua a través de la madera. A pesar de esta ligera apreciación, la fase de envejecimiento en madera no presenta diferencias significativas en la concentración de grado alcohólico en el vino, cuando es destacable es en el periodo de envejecimiento en botella, donde se produce una importante pérdida de etanol, siendo mayor este descenso en los vinos

envejecidos en el primer período en contacto con astillas-MOX. Además esta disminución en el contenido en alcohol no guarda relación con el aumento de la acidez volátil (gráfica 106b), dado que este parámetro es también más elevado en los vinos envejecidos en barricas.

Como se comentara en el capítulo 1, la **acidez total y volátil** guardan una relación importante, ya que presentan evoluciones similares. Para los vinos de la D.O. Cigales se ha obtenido un aumento mayor de la acidez total y volátil en los vinos envejecidos en sistemas alternativos en la fase de botella, con diferencias significativas (capítulo 1, tabla 13). Sin embargo, para el vino tinto de la D.O. Toro analizado en este capítulo se observa una mayor acidez total y volátil a lo largo de todo el proceso de envejecimiento (madera-MOX y botella) en los vinos envejecidos en barrica, no siendo significativamente diferenciador entre los vinos envejecidos en distintos momentos de adición de astillas+MOX.

La **acidez total** de los vinos es significativamente mayor en aquellos vinos que han estado en contacto con barrica desde el inicio del envejecimiento (2 meses), manteniendo esta diferencia a lo largo de todo el proceso de envejecimiento (madera y botella) (gráfica 106a). Esta importante aportación de ácidos por la barrica tiene su origen en el aumento de la acidez volátil de los vinos y por tanto de la incorporación de grupos acetilos al vino.

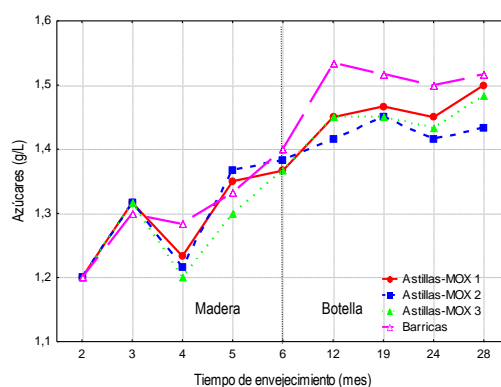


**Gráfica 106:** Evolución de la acidez total (g/L) (a) y la acidez volátil (g/L) (b) del vino durante la crianza en madera y botella de un vino en diversos sistemas de envejecimiento

El aumento de los grupos acetilo por la hemicelulosa junto a la aportación de oxígeno en los 3 primeros meses de envejecimiento parece ser la causa del aumento de la acidez volátil debido a la formación de ácido acético en barrica. En este caso de envejecimiento particular llevado a cabo en este trabajo no cumple directamente (como se dijera en el capítulo 1) que los fenómenos oxidativos producidos por la oxidación del etanol fomenten la formación de ácido acético, dado que como se indicara anteriormente el grado alcohólico aumenta en las primeras fases de envejecimiento y, de producirse una oxidación se produciría paralelamente una pérdida de etanol (González, L. A. et al., 2006). Únicamente se observa que el proceso de oxidación, que supone la pérdida de etanol, no compensa la evaporación de agua, que provocaría el aumento del grado alcohólico.

Como ya observara Del Álamo, M. (1997) el envejecimiento de los vinos produce un aumento de los **azúcares** en el vino cedidos por la hidrólisis de los antocianos glucosilados y también por los taninos de

la madera, corroborando además nuevamente lo encontrado en el capítulo 1, donde se indicara que los vinos de barricas de roble francés aumentan su contenido en azúcares y lo hace de manera más significativa que los vinos envejecidos en astillas de roble francés (frente a las astillas de origen americano y húngaro). También se vuelve a corroborar que las mayores aportaciones de azúcares al vino las producen las barricas frente al contacto con las astillas o tablonos. Destaca que el grado de tostado (ligero, medio, fuerte) no haya tenido una influencia significativa en la aportación de azúcares al vino de la madera. La causa probable ha podido ser la incorporación de mezclas de madera de diversos tostados para definir un determinado grado de tostado, que ha podido suavizar tales diferencias. Resultados semejantes fueron descritos por Gallego, L. (2013) donde a un vino al que se envejeció en astillas y tablonos con diversos tostados (ligero, medio y fuerte) junto a microoxigenación y comparando un secado de la madera tradicional con un secado acelerado, tampoco encontrara diferencias significativas en la concentración de azúcares en los vinos envejecidos en maderas de distintos tostados, tanto durante el envejecimiento en madera (170 días) como durante el envejecimiento en botella (510 días). Sí ha observado diferencias estadísticamente significativas entre los vinos envejecidos con tablonos+MOX que presentaron mayor contenido en azúcares que los vinos envejecidos en astillas+MOX. También describió diferencias significativas en el proceso de secado de la madera, destacando que el secado tradicional (típico de la madera de fabricación de barricas) aportó al vino valores más elevados de azúcares frente al secado acelerado (característico de la madera de fabricación de astillas). Pudiéndose explicar, el mayor contenido de azúcares encontrado en los vinos de barricas que en los envejecidos en contacto con astillas de este ensayo, por el sistema de tostado de las diversas astillas empleadas, a las que se les ha efectuado un doble tostado en horno rotativo de convección, que permite el tostado de las mismas a distinta intensidad a través de la aportación de aire caliente, permitiendo una conducción térmica más homogénea en el interior de las astillas, que el producido en las barricas por el sistema de aportación directa de llama.



**Gráfica 107:** Evolución de los azúcares (g/L) del vino durante la crianza en madera y botella de un vino en diversos sistemas de envejecimiento

### V.3.4. Compuestos fenólicos y parámetros de color del vino

Comparando los resultados obtenidos en un vino envejecido en barricas con un vino que permanece en depósitos a los que se le ha simulado el efecto de la bodega (aportación de astillas y pequeñas dosis de oxígeno), se ha logrado para los compuestos fenólicos una gran similitud entre los vinos dado que los

parámetros fenólicos analizados en este grupo tales como polifenoles totales (PT), polifenoles poco polimerizados (PPP), polifenoles muy polimerizados (PMP), catequinas (CAT) y taninos (TAN) no han sido estadísticamente capaces de diferencias a los vinos envejecidos en barricas de los vinos que han permanecido en contacto con astillas. Tampoco se han diferenciado los vinos por el grado de tostado de la madera o el momento de adición de las astillas, ni las mezclas de las mismas. Lográndose datos similares para estos parámetros en los vinos a lo largo del proceso de envejecimiento llevado a cabo (madera y botella).

Los parámetros de color que sí parecen ser capaces de identificar diferencias estadísticamente significativas entre los vinos respecto al grado de **tostado (ligero, medio y fuerte)** de la madera han sido la componente roja (% A520), importancia del rojo (% dA), luminosidad (L), relación rojo-verde (a\*), relación amarillo-azul (b\*), tono (H), cromas (C\*). A su vez también estos parámetros son capaces de diferenciar a los vinos en función del **sistema en el que han envejecido (astillas-MOX o barricas)** mediante el análisis de la intensidad colorante (IC), tonalidad (T), componente azul (% A620) y tono (H). Sólo la luminosidad (L), relación amarillo-azul (b\*) y tono o matiz (H) han diferenciado a los vinos por el **tipo de astillas y momento de adición** (astillas-MOX 1, astillas-MOX 2 y astillas-MOX 3).

**Tabla 42:** Valores medios de los parámetros de color y compuestos fenólicos de los vinos envejecidos durante 6 meses en maderas de distinto tostados (ligero, medio y fuerte) y sistemas (astillas-MOX 1, astillas-MOX 2, astillas-MOX 3 y barricas). Resultados de la ANOVA

	Tostado				Sistema				
	Ligero	Medio	Fuerte	p level	Astillas-MOX 1	Astillas-MOX 2	Astillas-MOX 3	Barrica	p level
PT Folin <sup>2</sup>	2707,82a	2684,64a	2705,21a	0,908	2718,38a	2696,71a	2703,04a	2678,76a	0,948
PPP <sup>2</sup>	1822,91a	1779,14a	1791,27a	0,105	1819,33a	1802,71a	1808,55a	1760,50a	0,087
PMP <sup>2</sup>	884,91a	905,50a	913,94a	0,839	899,05a	894,00a	894,50a	918,26a	0,972
CAT <sup>2</sup>	1129,08a	1132,44a	1139,48a	0,820	1138,47a	1141,61a	1115,21a	1139,37a	0,493
TAN <sup>1</sup>	3,90a	3,82a	3,77a	0,382	3,91a	3,81a	3,83a	3,76a	0,574
IC	19,53a	19,65a	19,71a	0,813	19,54a	19,62a	19,31a	20,05a	0,166
T	0,54a	0,54a	0,54a	0,899	0,54a	0,54a	0,55a	0,53a	0,431
%A420	30,68a	30,58a	30,65a	0,938	30,58a	30,49a	30,90a	30,57a	0,617
%A520	57,19a	57,26a	57,15a	0,900	57,24a	57,17a	56,98a	57,39a	0,495
%A620	12,16a	12,12a	12,20a	0,636	12,27b	12,28b	12,05a	12,04a	<b>0,010</b>
%dA	52,90a	52,48a	52,50a	0,935	52,88a	52,63a	54,49a	50,50a	0,072
L	62,00b	60,70b	60,20a	<b>0,001</b>	61,73b	60,87b	59,26a	62,00b	<b>0,000</b>
a*	43,64a	44,95ab	45,75b	<b>0,019</b>	44,31ab	45,31b	46,34b	43,17a	<b>0,003</b>
b*	2,11a	2,35a	2,43a	0,194	1,51a	1,75ab	2,06b	3,86c	<b>0,000</b>
H	2,82a	2,94a	3,11a	0,486	1,93a	2,20a	2,46a	5,26b	<b>0,000</b>
C*	43,79a	45,04ab	45,85b	<b>0,025</b>	44,36a	45,37ab	46,43b	43,41a	<b>0,006</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) <sup>1</sup> expresado en g/L, <sup>2</sup> expresado en mg/L, <sup>3</sup> expresado en % (v/v)



**Tabla 43:** Valores medios de los parámetros de color y compuestos fenólicos de los vinos envejecidos en botella (12-28 meses) en distintos tostados (ligero, medio y fuerte) y sistemas (astillas-MOX 1, astillas-MOX 2, astillas-MOX 3 y barricas). Resultados de la ANOVA

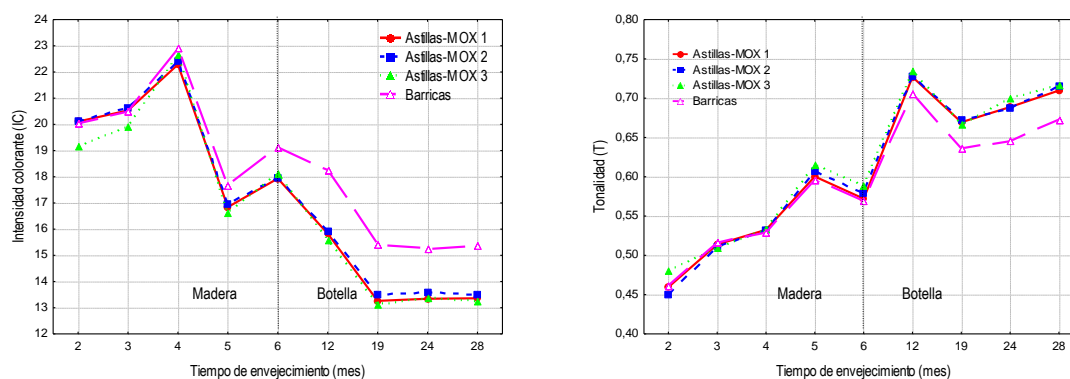
	Tostado				Sistema				
	Ligero	Medio	Fuerte	p level	Astillas-MOX 1	Astillas-MOX 2	Astillas-MOX 3	Barrica	p level
PT Folin <sup>2</sup>	2768,81a	2757,34a	2769,17a	0,892	2745,77a	2748,56a	2785,58a	2780,52a	0,488
PPP <sup>2</sup>	1769,55a	1769,83a	1761,91a	0,995	1766,86a	1749,51a	1772,33a	1779,69a	0,993
PMP <sup>2</sup>	999,27a	987,51a	1007,26a	0,982	978,91a	999,05a	1013,26a	1000,83a	0,994
CAT <sup>2</sup>	1169,66a	1165,44a	1169,85a	0,990	1196,56a	1195,64a	1130,93a	1150,14a	0,280
TAN <sup>1</sup>	2,72a	2,79a	2,84a	0,152	2,85a	2,74a	2,72a	2,82a	0,220
IC	14,31a	14,27a	14,92a	0,540	13,95a	14,12a	13,83a	16,08b	<b>0,013</b>
T	0,70a	0,69a	0,69a	0,752	0,70b	0,70b	0,70b	0,67a	<b>0,002</b>
%A420	35,20a	35,18a	34,99a	0,885	35,30a	35,37a	35,59a	34,23a	0,058
%A520	52,50a	52,61ab	52,70b	<b>0,034</b>	52,30a	52,32a	52,37a	53,44b	<b>0,000</b>
%A620	11,67a	11,59a	11,67a	0,161	11,74b	11,69b	11,41a	11,74b	<b>0,000</b>
%dA	54,74a	54,94ab	55,11b	<b>0,025</b>	54,38a	54,42a	54,50a	56,42b	<b>0,000</b>
L	63,84b	63,91b	62,84a	<b>0,001</b>	64,32bc	64,12b	64,98c	60,71a	<b>0,000</b>
a*	38,04a	38,51a	39,61b	<b>0,001</b>	36,87a	37,22a	36,81a	43,98b	<b>0,000</b>
b*	5,00a	5,32b	5,42b	<b>0,009</b>	4,86a	5,36b	5,93c	4,84a	<b>0,000</b>
H	7,49a	7,94a	7,85a	0,110	7,44b	8,12c	9,08d	6,40a	<b>0,000</b>
C*	38,46a	38,95a	40,04b	<b>0,001</b>	37,26a	37,68a	37,36a	44,30b	<b>0,000</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) <sup>1</sup> expresado en g/L, <sup>2</sup> expresado en mg/L, <sup>3</sup> expresado en % (v/v)

La **intensidad colorante** (IC) del vino es un parámetro que guarda una importante relación con la aportación de oxígeno, de manera que cuando se incorpora oxígeno en las primeras fases de envejecimiento la intensidad colorante de los vinos aumenta, como ya se indicara en el capítulo 1 y 2. Este aumento en las primeras fases del envejecimiento es debido a la transformación de los compuestos fenólicos de los vinos tintos (Ribéreau, P. et al., 1998). Estos resultados se observan en la gráfica 108a, aunque diversos autores ya indicaran que el efecto de la microoxigenación aumenta la intensidad colorante (Cano, M. et al. 2006, 2007; Rayne, S. et al., 2011, Gallego, L. 2013), se deduce alguna interpretación más con este experimento, dado que se ha observado entre los 2 y 3 meses, un aumento mayor de la intensidad colorante en aquellos vinos a los que se aportó mayor cantidad de astillas (astillas-MOX 1 (4 g/L), astillas-MOX 2 (3 g/L)), no siendo el aporte de oxígeno la causa única del aumento de la intensidad, sino también la aportación de taninos a través de las astillas como ya indicara Chatonnet, P. (2007). Donde en las primeras fases de envejecimiento en contacto con madera se favorecen las condensaciones de los antocianos del vino con los taninos que fomentan el incremento de la intensidad colorante, este resultado se cumpliría cuando la proporción de antocianos en el vino son suficientes para combinarse con los taninos (4/1). Si la concentración de antocianos es insuficiente, como se observara en el capítulo 1 puede ocurrir que tal combinación no se produzca en las proporciones adecuadas y la intensidad colorante disminuya por efecto de la aportación excesiva de taninos y oxígeno que ayudarían a una polimerización más acelerada de los compuestos. Esto explicaría también lo ya comentado en el capítulo 1, la controversia de diversos autores que sostienen un aumento de la intensidad colorante frente

a los que observaron una disminución a lo largo del envejecimiento. A pesar de producirse este aumento en la intensidad colorante, después de un período tan prolongado de envejecimiento como el efectuado en este experimento al vino (28 meses), la intensidad colorante disminuye hasta permanecer los vinos que envejecieron en barrica con valores más elevados que aquellos a los que se les aportó astillas y oxígeno.

Además la evolución en la medida de la intensidad colorante (IC) comienza con un aumento de concentración en los vinos en contacto con madera (2-4 meses). Posteriormente entre los meses 4 y 5 de envejecimiento la intensidad colorante disminuye, para recuperarse ligeramente (5-6 meses) en todos los vinos analizados, sin embargo tal recuperación es más elevada en los vinos envejecidos en contacto con barrica. Este aumento mayor en vinos que inicialmente permanecieron en barrica ayudará a mantener valores de intensidad colorante (IC) más elevados en los vinos durante su fase en envejecimiento en botella. Por tanto, los vinos guardados en barricas son los que más color presentan. Este resultado indica que en la barrica de roble francés los vinos tintos de la variedad Tinta de Toro ven estabilizado su color (Ribéreau, P. et al., 1998). Esta modificación de las características cromáticas de los vinos tintos es consecuencia de la transformación de los compuestos fenólicos que se encuentran en el medio, tanto los provenientes del vino como los aportados por la madera así como sus interacciones. Algunos estudios han encontrado que el color de los vinos tintos está fuertemente influenciado por la presencia de ácidos fenólicos (Zhang, B. et al. 2015b). Estos ácidos tienen una importante función al mejorar y estabilizar los pigmentos que aportan coloración roja (componente fundamental en el aumento de la intensidad colorante) en los vinos por reacciones de copigmentación intra e intermoleculares, especialmente los ácidos hidroxicinámicos que podrían ser la causa de un realce de color de aproximadamente 60 % a 70 % a 520 nm (Boulton, R. 2001; Eiro, M.J. et al. 2002).



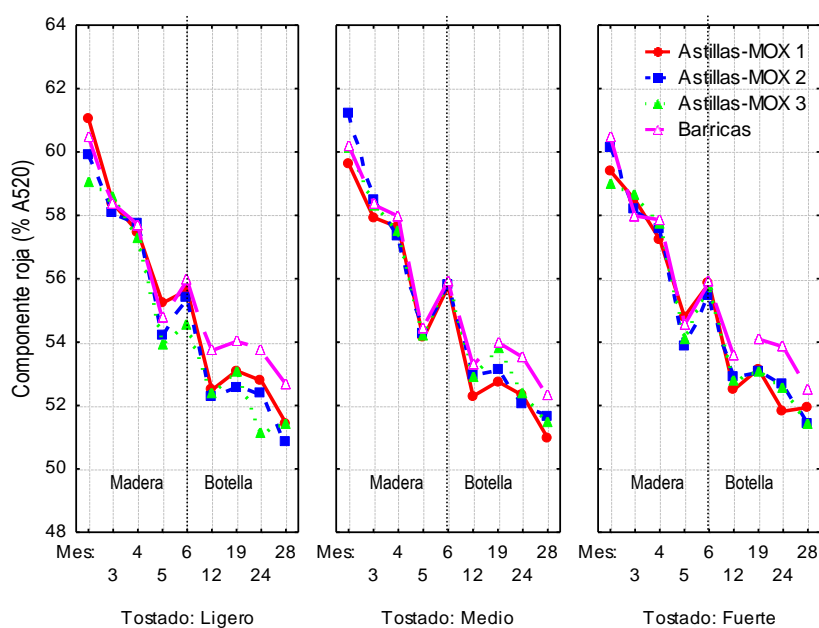
**Gráfica 108:** Evolución de la intensidad colorante (IC) (a) y la tonalidad (T) (b) del vino durante la crianza en madera y botella de un vino en diversos sistemas de envejecimiento

La relación inversa que guarda la intensidad colorante y la **tonalidad** (T) hace que esta segunda variable sea más baja en los vinos que han permanecido en barricas frente a los vinos envejecidos en contacto con astillas+MOX. Esas modificaciones que conducen al aumento de la tonalidad (gráfica 108b), se deben a la formación de diferentes pigmentos polímeros, para los cuales el equilibrio entre la forma coloreada y la incolora se desplaza en beneficio de la primera (Guerra, 1997). Si observamos el aumento de la tonalidad (T) en el vino de la variedad Tinta de Toro se comprueba que las diferencias se

incrementan, entre los vinos envejecidos en contacto con astillas-MOX de roble y los vinos envejecidos en barricas, en la fase de envejecimiento en botella (6-18 meses). Sobre el aumento de este parámetro, indicador del grado de envejecimiento del vino, que tiene lugar durante el envejecimiento reductor en botella, ya han observado su aumento durante este período autores como Peyron, E. (1994), Hernández, T. et al. (2007) y Ojeda, S. (2012). De este resultado se deduce que la aportación de astillas-MOX durante el tiempo que el vino se encuentra en depósito, mantiene una tonalidad similar a la obtenida en los vinos en las barricas, sin embargo cuando el vino se introduce en botella aumenta la tonalidad a mayor velocidad que lo hace el vino que permaneció inicialmente en barrica.

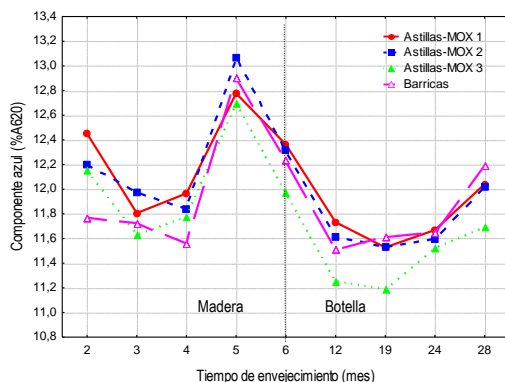
En la gráfica 109 se observa una disminución en la **componente roja** (%A520) a lo largo de los 28 meses de envejecimiento, esta disminución parece estar relacionada significativamente con el tostado realizado a la madera y con el tipo de sistema empleado en el envejecimiento. Observando una mayor pérdida de componente roja cuanto menor es el proceso de tostado empleado sobre la madera. Así, para el vino en contacto con madera de tostado ligero, la pérdida de componente roja se acentúa entre los meses 6 y 24 de envejecimiento del vino, seguida de los vinos en contacto con madera de tostado medio y finalmente los vinos con madera de tostado fuerte, que presentan de media el valor más elevado durante su período de envejecimiento en botella alcanzando un valor de %A520 de 52,70 frente a los 52,50 para el tostado ligero y 52,61 para el tostado medido (tabla 43). Este resultado podría explicar la cesión de compuestos fenólicos al inicio del envejecimiento al vino por parte de la madera de tostado fuerte (no así después de un período de contacto), en el que tiene lugar reacciones de polimerización y condensación con pérdida de grupos fenólicos (Del Álamo, M., et al., 2004a), que fomentarían esa pérdida de componente roja. Los vinos tintos durante su envejecimiento van perdiendo intensidad en su color rojo, y su tonalidad va cambiando del rojo-púrpura hacia el rojo-anaranjado (Hermosín, I., 2005; Schwarz, M. et al., 2005).

Se observa también en la gráfica 109 que, en el vino de todos los sistemas de envejecimiento, la pérdida de la componente roja se ve reflejada en la pendiente descendente de todas las curvas, con independencia del sistema empleado durante el envejecimiento del vino, como ya se observara en el capítulo 1 para un vino tinto de variedad Tinto del País. El sistema de envejecimiento en barrica mantiene a los vinos con mayor concentración de componente roja (%A520) frente a los vinos envejecidos en sistemas alternativos en su período de botella (19-28 meses). De este resultado se deduce que las reacciones que disminuyen el porcentaje de rojo en el vino son más lentas en los vinos envejecidos en barricas que en los que han permanecidos en depósitos de acero inoxidable con astillas y microoxigenación. Se ha observado este mismo comportamiento de la componente roja del color del vino en otros trabajos (Del Álamo, M. et al., 2002 y 2004a) en los que este valor es mayor en vinos envejecidos en barricas que en depósitos con astillas. Como ya se viera en el capítulo 1, los vinos pueden experimentar a lo largo del proceso de envejecimiento una ligera estabilización en la pérdida del color rojo (Valls, J. et al., 2000), siempre y cuando la formación de los nuevos compuestos no precipiten y se pierdan. Dicha estabilización con mayor componente roja (%A520) es apreciada en los vinos de la variedad Tinta de Toro al final del proceso de envejecimiento en botella (12-28 meses). Nuevamente destaca la similitud de los resultados entre los vinos en período de envejecimiento en madera con oxígeno entre los distintos sistemas, pero que se vuelve diferenciador en un ambiente reductor.



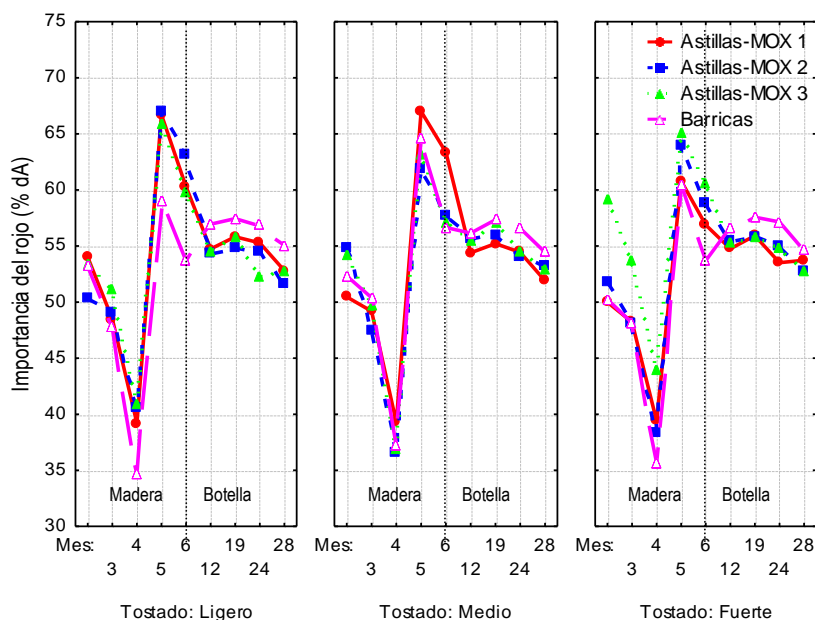
**Gráfica 109:** Evolución de la componente roja (%A520) del vino durante la crianza en madera y botella de un vino de diferentes tostados y sistemas de envejecimiento

Un parámetro que no ha sido diferenciador en los capítulos 1 y 2 y que ayuda a explicar los procesos de copigmentación que se dan en los vinos es la **componente azul** (%A620) (gráfica 110). El tono azul ha experimentado diferencias entre los vinos envejecidos, siendo más significativas en los vinos envejecidos en contacto con astillas aportadas en dos tiempos, al inicio de envejecimiento y a los 45 días de envejecimiento (Astillas-MOX 3), destacando una menor presencia de tonalidades azules durante su envejecimiento en botella. La pérdida de componente azul en los vinos se estabiliza a lo largo del envejecimiento, la causa puede ser el valor tan bajo de absorbancia a 620 nm que presentan los vinos cuando se realiza la medida de la componente de forma aislada, no permitiendo observar diferencias representativas de lo que está ocurriendo en los vinos con las tonalidades azules, aunque la causa puede deberse a los procesos de condensación entre taninos y antocianos, incluso a las copigmentaciones que sufre el vino con la formación de nuevos pigmentos, los cuales pueden incrementar los tonos azulados (Del Álamo, M. et al., 2004a) por el efecto batocrómico que se produce en los vinos (Fei, H., 2015). Los resultados de la evaluación del color obtenidos por el método de CIELab podría darnos información más detallada de lo que ocurre con la componente azul cuando se compara con lo que le ocurre a la componente amarilla en un mismo vino, definido como la relación amarillo-azul ( $b^*$ ).



**Gráfica 110:** Evolución de la componente azul (%A620) del vino durante la crianza en madera y botella de un vino en diversos sistemas de envejecimiento

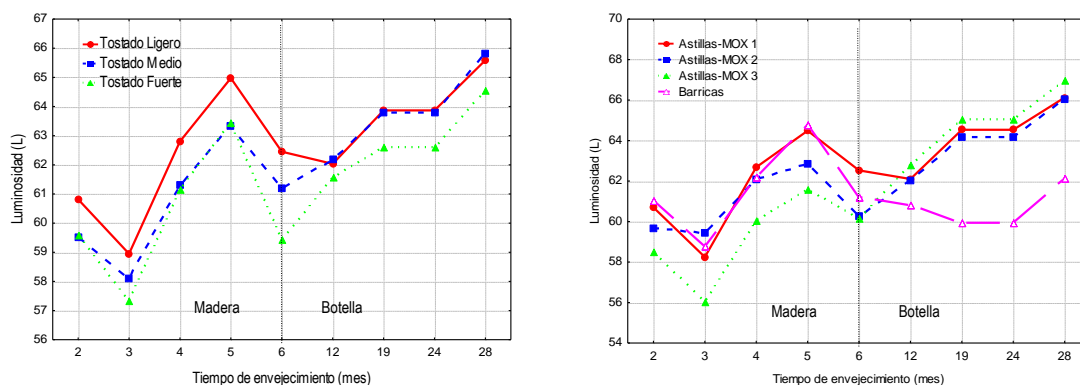
La **importancia del rojo** (%dA) (gráfica 111) en los vinos analizados indica que existen diferencias significativas, tanto para el sistema empleado como para el tostado de la madera, aportado a la madera durante su fase de envejecimiento en botella, siendo los vinos envejecidos en barricas los más diferenciadores, con valores de importancia del rojo más elevados. Este resultado explicaría que en estos vinos la componente roja se mantiene en concentraciones más elevadas que en el resto de los sistemas (Astillas-MOX), como ya indicara el dato analizado del la componente roja (%A520) visto anteriormente. Además, durante el período de botella, también se hace diferenciador el tostado de la madera, siendo el incremento del tostado la causa de la diferenciación. Parece que los vinos envejecidos en madera de tostado fuerte mantienen valores más elevados de componente roja.



**Gráfica 111:** Evolución de la importancia del rojo (%dA) del vino durante la crianza en madera y botella de un vino de diferentes tostados y sistemas de envejecimiento

La **luminosidad** (L) de los vinos guarda una relación directa con la tonalidad y por tanto inversa a la intensidad colorante. En la gráfica 112a se observa una influencia significativa entre los diversos tostados

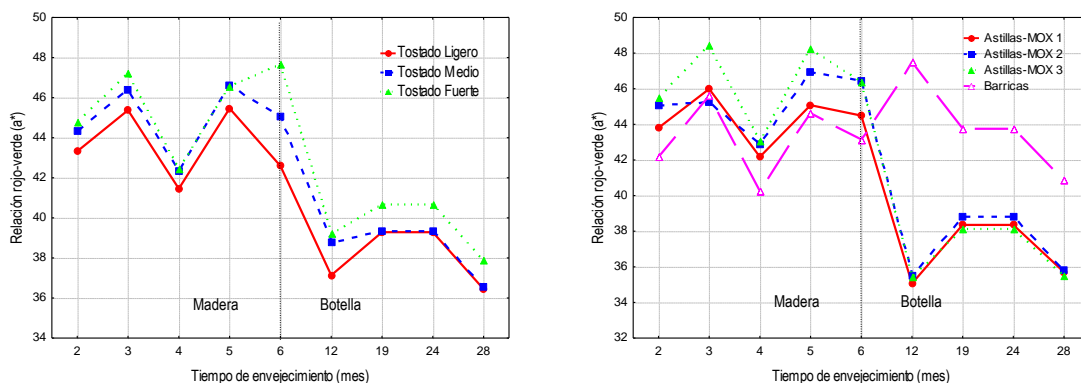
de la madera de roble para este parámetro. Así, en la fase de envejecimiento, los vinos en contacto con madera de tostado ligero presentan los valores más elevados de luminosidad, siendo el tostado fuerte de la madera el que menor luminosidad aporta a los vinos. Este resultado establece una relación entre la presencia de compuestos cedidos por la madera y la mayor luminosidad en los vinos, que podría estar relacionado con las interacciones de los taninos de la madera para contribuir a una mayor estabilidad del color de los vinos. La causa más lógica estaría en la pérdida de elagitaninos provocada por el grado de tostado aplicado a la madera, teniendo en cuenta que el vino tinto estudiado ha presentado elevada cantidad de compuestos fenólicos y antocianos, parece razonable pensar que la madera de tostado ligero ha aportado menor concentración de compuestos fenólicos y por tanto, la interacción de los mismos con el vino ha sido menor.



**Gráfica 112 :** Evolución de la luminosidad (L) del vino durante la crianza en madera y botella de un vino de diferentes tostados (a) y distintos sistemas (b) de envejecimiento.

Si se compara la evolución de la luminosidad de los vinos según el recipiente en el que han permanecido puede apreciarse en la gráfica 112b una menor luminosidad en los vinos envejecidos en barricas. Esta menor luminosidad hace que los vinos de barricas sean los que alcanzan los colores menos evolucionados en vinos con este envejecimiento. Destacando de manera significativa, el comportamiento de los vinos en contacto con astillas aportadas en dos tiempos (astillas-MOX 3: 2 g/L al inicio + 2 g/L a los 45 días de envejecimiento), para la luminosidad de los vinos (L). Se observa en la gráfica 101 que los vinos envejecidos en este sistema, inician su envejecimiento en luminosidad con los valores más bajos, que el resto de los vinos analizados, pero cuando el vino entra en botella los vinos envejecidos en astillas-MOX 3 se vuelven más luminosos.

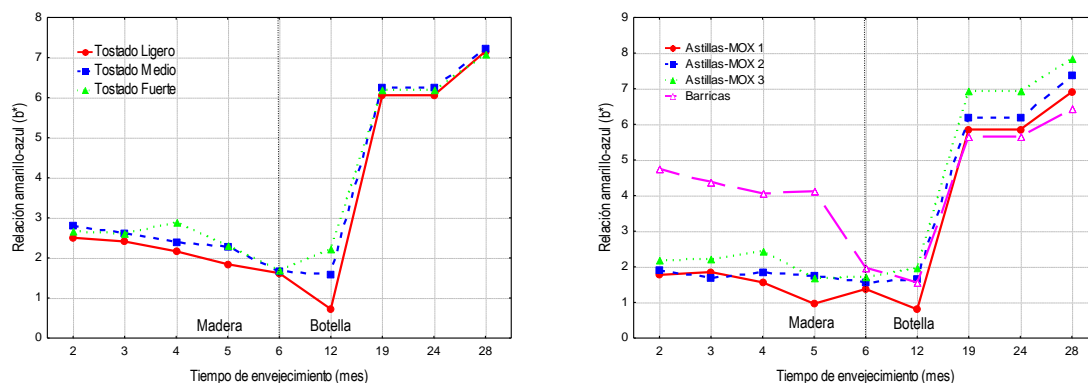
El parámetro  $a^*$  representa la **tonalidad rojo-verde** que tiene un vino. En todos los vinos analizados ha predominado la componente roja, con una tendencia general a descender debido a la degradación de los antocianos (gráficas 113 a y b). Se observa una mayor cantidad de tono rojo en los vinos que han estado en contacto con madera de tostado fuerte, como ya indicara el parámetro que describe la importancia del rojo (%dA) o la componente roja (%520).



**Gráfica 113 :** Evolución de la relación rojo-verde ( $a^*$ ) del vino durante la crianza en madera y botella de un vino de diferentes tostados (a) y distintos sistemas (b) de envejecimiento

También se observa que los vinos de las barricas presentan menor relación rojo verde ( $a^*$  más baja en barricas en la fase de madera) pero en su fase de envejecimiento en botella pasa a presentar los valores más elevados de color rojo ( $a^*$ ). Por tanto, según los resultados presentados, cabe pensar que la unión antociano-cofactor se genera al inicio del envejecimiento de un vino en barricas y marcará la diferenciación de estos vinos. Puech, C. et al. (2006) y Monagas, M. et al. (2006b) observaron en los vinos envejecidos en botella una disminución de la coordenada  $a^*$ . Como se viera en el capítulo 2, la presencia de oxígeno en el proceso de envejecimiento tiene una importante influencia en la evolución del color. Cuando se comparan los resultados obtenidos con el vino de la D.O. Toro con los obtenidos para el vino de la D.O. Cigales (capítulo 1) puede observarse que la componente  $a^*$  del vino de Tinta de Toro presenta valores más elevados en el vino de las barricas frente al de las astillas-MOX, aunque en el vino de Tinto del País (D.O. Cigales) esta diferencia entre barricas y astillas (sin oxígeno) es mucho mayor en el período de envejecimiento en botella. La baja pérdida de coordenada  $a^*$  en los vinos envejecidos en barricas, podría estar influenciado por la importante cantidad de antocianos existentes en los vinos de la variedad Tinta de Toro, con 807 mg/L de antocianos totales. Ojeda, S. (2013) ha observado un aumento de la componente  $a^*$  en el envejecimiento de un vino tinto de variedad Tempranillo de la D.O.Ca. Rioja durante su envejecimiento en barricas de roble de diversos orígenes, con un vino con 976 mg/L de antocianos totales.

Como ya se indicara en capítulos 1 y 2, la **componente  $b^*$**  en los vinos estudiados indica la relación del color amarillo en el plano positivo, frente al color azul en el plano negativo. El grado de tostado de la madera en los vinos ha presentado una influencia en esta componente, así los vinos en contacto con madera de tostado ligero han presentado menor tonalidad amarilla durante el envejecimiento en botella (tabla 43). Estos resultados obtenidos han mostrado la importancia del tostado en la presencia de compuestos fenólicos cedidos por la madera que repercuten en la formación de nuevos pigmentos (etil pigmentos), cuya absorbancia a 620 nm es mayor que la de los antocianos en forma libre (Del Álamo, M. et al., 2006b). Podría deberse a la formación de compuestos como el portosin (fenil-vinilpyranoantociano) que posee un efecto batocrómico cuyo máximo de absorción se desplaza a valores más elevados aumentando el valor del color azul (Mateus, N. et al, 2003; Oliveira, J. et al., 2006).

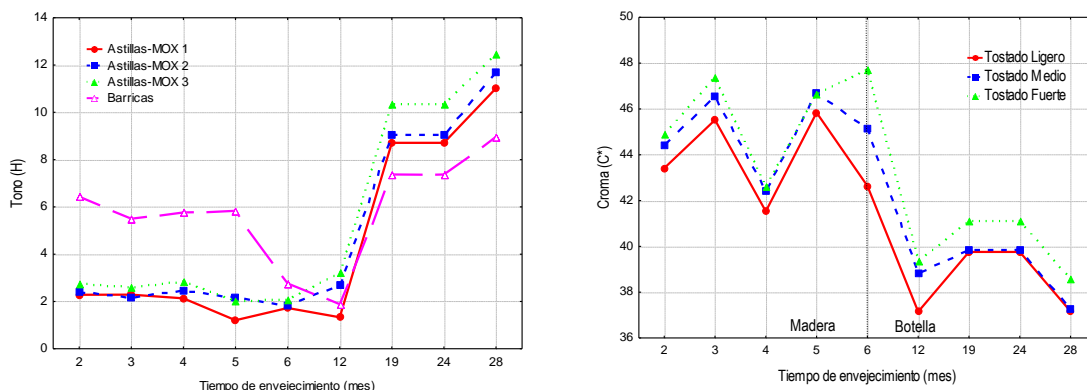


**Gráfica 114 :** Evolución de la relación amarillo-azul ( $b^*$ ) del vino durante la crianza en madera y botella de un vino de diferentes tostados (a) y distintos sistemas (b) de envejecimiento

La evolución del parámetro  $b^*$  en los vinos durante el envejecimiento ha aumentado principalmente durante el período de botella (gráficas 114 a y b). Los vinos de barricas han presentado una tonalidad amarilla estadísticamente más alta que los vinos en contacto con astillas-MOX al inicio del envejecimiento (2-5 meses), sin embargo durante el período de botella, los vinos de barricas han presentado mayor componente azul (19-28 meses) (gráfica 114b), es decir los vinos envejecidos en barricas durante el período de botella presentan el valor más bajo de componente  $b^*$ . Resultado previsible teniendo en cuenta los resultados encontrados hasta el momento. Cano, M. et al., (2007) y Ojeda, S. (2012) ya han observado que los vinos envejecidos en barricas de roble cambian hacia tonalidades azuladas y Gallego, L. (2013) ha descrito que los vinos envejecidos en contacto con astillas y microoxigenación aumentan también su componente  $b^*$ . Además se aprecia un aumento mayor de componente  $b^*$ , durante su período de envejecimiento en botella, en los vinos que permanecieron en contacto con astillas dosificadas en dos momentos distintos de envejecimiento (Astillas-MOX 3).

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 tono, y expresa la variación cualitativa del color, similar a la tonalidad descrita anteriormente por el método de Glories. El sistema en el que ha permanecido el vino (astillas-MOX o barricas) afecta de forma estadísticamente significativa al ángulo de color de los vinos analizados, tanto durante el envejecimiento en madera como el período de botella (tablas 42 y 43). Los vinos introducidos en barricas presentan mayor ángulo de color que al añadir astillas en el período de contacto con madera, sin embargo durante el período de botella el ángulo de color en los vinos que inicialmente permanecieron en barricas disminuyen hasta valores inferiores a los vinos en contacto con astillas-MOX, permaneciendo para estos vinos valores más elevados en aquellos a los que se les incorporó astillas en dos tiempos (astillas-MOX 3).





**Gráfica 115 :** Evolución del tono (H) del vino durante la crianza en madera y botella de un vino de distintos sistemas (a) y del croma (C\*) en diferentes tostados (b) de envejecimiento

El **croma o color del vino** (C\*) viene definido por el grado de tostado de la madera. Durante este proceso se producen importantes reacciones de hidrotérmólisis y pirolisis que se llevan a cabo en función del grado de tostado aplicado (ligero, medio o fuerte), influyendo estos procesos de hidrólisis de los elagitaninos (Matricardi, L. et al., 1999; Cadahia, E. et al., 2001 y Frangipane, M.T. et al. 2007), de la lignina y la hemicelulosa. La lignina, un polímero tridimensional formada por dos alcoholes fenilpropanoides: alcohol 4-hidroxi-3-metoxicinámico (coniferil alcohol) y 4-hidroxi-3,4-dimetoxicinámico alcohol (alcohol siringil), se ve influenciada también por el tostado de la madera. La lignina por procesos hidrolíticos y oxidativos se transforma en fenoles mono y di etoxilados, así como en altos niveles de ácidos cinámicos, ácidos benzoicos, y aldehídos, a partir de estos dos alcoholes. Por lo tanto, la degradación de estos compuestos contribuirá a aumentar los niveles de aldehídos fenólicos y otros componentes en la madera. En contraste, el tostado de la madera de roble contribuye a la degradación de los compuestos alcanzando sólo una pequeña cantidad de fenoles volátiles, principalmente eugenol, a la formación de trazas de aldehídos fenólicos (Sarni, F. et al., 1990, Chatonnet, P. et al 1999), y a la degradación de elagitaninos de la madera. Así, Cadahia, E., et al (2001) observaron que los elagitaninos roburina A-E, grandinina, vescalagina y castalagina disminuían durante este proceso, mientras que Alañón, M.E. et al. (2011) observaron un aumento en el contenido de ácido elágico de muestras tostadas, lo que podría ser debido a la liberación del compuesto desde los elagitaninos durante la degradación térmica. Doussot, F. et al. (2002) encontraron que el tostado medio mejora drásticamente la pérdida de elagitaninos. Esta liberación de compuestos fenólicos en tostados fuertes de la madera ayuda a mantener niveles más elevados de croma o color (C\*) en los vinos contribuyendo a mantenerles más jóvenes a lo largo del envejecimiento. La evolución del croma ha presentado pequeñas variaciones a lo largo del estudio, con una tendencia hacia el descenso (gráficas 115b), coincidiendo este resultado con lo obtenido por otros investigadores al envejecer un vino tinto en barricas de roble americano en botella (Cano, M. et al., 2007). Además como ya se indicara en parámetros anteriores, el color de los vinos (C\*) es mayor en los vinos que permanecieron en barricas, marcando un menor grado de envejecimiento a lo largo del tiempo (tablas 42 y 43).

Si se comparan los resultados del color obtenidos entre los dos métodos descritos (método Glories y CIELab), parece que ambos métodos para el vino D.O. Toro logran resultados más homogéneos que los

obtenidos en el capítulo 1 y 2. Además se aprecia que el método que hace más diferenciados a los vinos en su fase de envejecimiento en madera es el método CIELab, permitiendo diferenciar a los vinos envejecidos en Astillas-MOX de tipo 3.

### V.3.5. Índices, edad química y parámetros de copigmentación en el vino.

La evolución de los parámetros estudiados en el vino que se ven afectados de forma estadísticamente significativa por el nivel de **tostado** son: índice de ionización, color debido a los antocianos libres (TA), contenido de cofactores flavonoides (FlaC), fracción de color debida a la copigmentación (COP), fracción de color debida a los antocianos libres (AL). Así el índice de ionización, pigmentos poliméricos con respecto a los antocianos del vino (i), pigmentos poliméricos con respecto a los antocianos del vino en forma de ion flavilium (ii), porcentaje de antocianos que se encuentran como ion flavilium ( $\alpha$ ), porcentaje de antocianos que se encuentran como ion flavilium después de suprimir el efecto decolorante del  $\text{SO}_2$  ( $\alpha\alpha$ ), color debido a los antocianos copigmentados (C), fracción de color debida a la copigmentación (COP), fracción de color debida a los antocianos libres (AL) por el **sistema** de envejecimiento empleado (**astillas-MOX y barricas**), pudiéndose diferenciar los vinos por el **momento de adición de las astillas** (astillas-MOX: 1, 2 y 3) en cuanto a su color debido a los antocianos copigmentados (C), contenido de cofactores flavonoides (FlaC) y fracción de color debida a los antocianos libres (AL).

**Tabla 44:** Valores medios de índices, edad química y copigmentación de los vinos envejecidos durante 6 meses en maderas de distinto tostados (ligero, medio y fuerte) y sistemas (astillas-MOX 1, astillas-MOX 2, astillas-MOX 3 y barricas). Resultados de la ANOVA

	Tostado				Sistema				
	Ligero	Medio	Fuerte	p level	Astillas-MOX 1	Astillas-MOX 2	Astillas-MOX 3	Barrica	p level
Índice ionización	28,13a	28,27a	28,83a	0,773	28,64a	28,50a	27,25a	29,27a	0,395
Índice etanol	80,03a	80,42a	80,36a	0,880	80,17a	80,05a	80,66a	80,20a	0,928
Índice clorhídrico	45,50a	46,61a	43,64a	0,461	44,06a	44,52a	46,77a	45,65a	0,766
Índice gelatina	70,59a	71,60a	71,50a	0,826	73,49a	68,77a	72,36a	70,30a	0,116
i	0,40a	0,40a	0,41a	0,670	0,40a	0,40a	0,40a	0,41a	0,821
ii	0,14a	0,14a	0,14a	0,955	0,14a	0,14a	0,14a	0,15a	0,291
i/ii	2,84a	2,81a	2,86a	0,384	2,84a	2,87a	2,87a	2,77a	0,059
$\alpha$	26,77a	27,56a	26,64a	0,261	27,34a	26,97a	25,98a	27,66a	0,096
$\alpha\alpha$	27,51a	27,99a	27,15a	0,242	27,49a	27,24a	27,19a	28,28a	0,214
C	0,92a	0,96a	1,00a	0,070	1,04b	0,88a	0,96ab	0,96ab	<b>0,007</b>
TA	7,16c	6,89b	6,65a	<b>0,000</b>	6,88a	7,07a	6,79a	6,85a	0,119
Ep	3,80a	3,84a	3,90a	0,575	3,76a	3,82a	3,84a	3,97a	0,227
FlaC	14,43a	14,41a	14,31a	0,956	14,51a	14,55a	14,46a	14,03a	0,710
TP	94,81a	94,34a	91,69a	0,515	93,62a	94,19a	94,76a	91,88a	0,841
COP (relativo)	0,07a	0,08ab	0,08b	<b>0,014</b>	0,08b	0,07a	0,08b	0,08b	<b>0,002</b>
AL (relativo)	0,57b	0,56a	0,55a	<b>0,001</b>	0,56ab	0,57b	0,55a	0,55a	<b>0,032</b>
PP (relativo)	0,34a	0,35a	0,36a	0,275	0,35a	0,35a	0,36a	0,36a	0,615

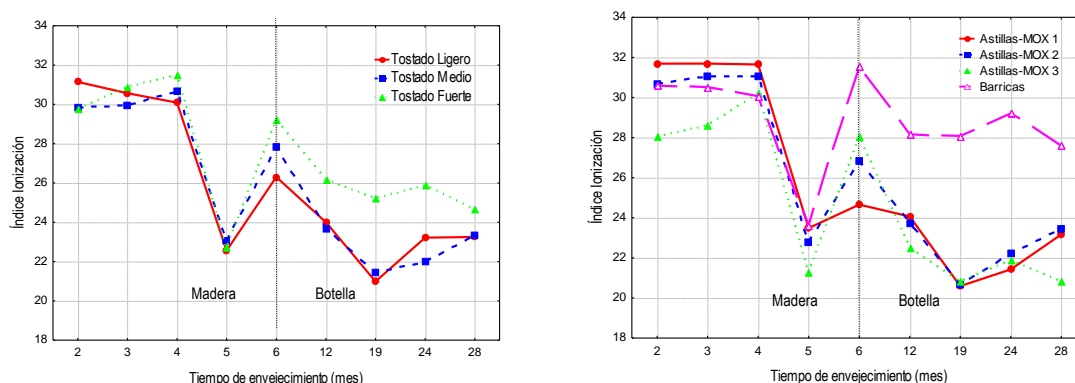
Para cada factor, letras distintas en filas indican diferencias estadísticamente significativas. En negrita se muestra el p level con significación > 95 % ( $p < 0,05$ )

**Tabla 45:** Valores medios de índices, edad química y copigmentación de los vinos envejecidos en botella (12-28 meses) en distintos tostados (ligero, medio y fuerte) y sistemas (astillas-MOX 1, astillas-MOX 2, astillas-MOX 3 y barricas). Resultados de la ANOVA

	Tostado				Sistema				
	Ligero	Medio	Fuerte	<i>p</i> level	Astillas-MOX 1	Astillas-MOX 2	Astillas-MOX 3	Barrica	<i>p</i> level
Índice ionización	22,87a	22,62a	25,48b	<b>0,000</b>	22,31a	22,52a	21,51a	28,26b	<b>0,000</b>
Índice etanol	14,94a	14,91a	15,27a	0,954	14,95a	14,30a	14,79a	16,12a	0,672
Índice Clorhídrico	6,71a	6,16a	7,01a	0,950	5,80a	6,13a	6,82a	7,76a	0,925
Índice gelatina	67,84a	71,53a	66,40a	0,561	65,82a	70,58a	68,62a	69,33a	0,858
i	0,41a	0,41a	0,42a	0,657	0,41a	0,41a	0,41a	0,44b	<b>0,006</b>
ii	0,21a	0,21a	0,21a	0,437	0,21a	0,21a	0,21a	0,22b	<b>0,000</b>
i/ii	2,30a	2,27a	2,28a	0,675	2,32a	2,31a	2,27a	2,25a	0,282
α	29,31a	29,53a	30,90a	0,198	29,32a	29,53a	28,33a	32,47b	<b>0,003</b>
αα	35,63a	36,42a	36,59a	0,076	35,46a	35,56a	36,00a	37,83b	<b>0,000</b>
C	1,88a	1,75a	1,67a	0,206	1,84a	1,78a	1,88a	1,56a	0,111
TA	3,73a	3,85a	3,92a	0,217	3,76a	3,82a	3,73a	4,03a	0,070
Ep	3,57a	3,56a	3,60a	0,465	3,40a	3,48a	3,42a	3,99b	<b>0,000</b>
FiaC	10,55a	10,69ab	10,81b	<b>0,007</b>	10,43a	10,68b	10,57ab	11,07c	<b>0,000</b>
TP	55,59a	55,26a	55,56a	0,982	56,55a	54,95a	54,73a	55,64a	0,843
COP (relativo)	0,21a	0,19a	0,18a	0,103	0,21b	0,20b	0,21b	0,17a	<b>0,007</b>
AL (relativo)	0,38a	0,39ab	0,40b	<b>0,009</b>	0,39a	0,39a	0,38a	0,39a	0,529
PP (relativo)	0,42a	0,43a	0,43a	0,889	0,42a	0,42a	0,41a	0,45b	<b>0,002</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)

Entre los índices analizados, sólo el **índice de ionización** presenta diferencias significativas en los vinos. Este índice indica el porcentaje de antocianos que contribuyen al color del vino. Su valor desciende ligeramente durante el envejecimiento de los vinos (tablas 44 y 45). La presencia de oxígeno hace que los vinos puedan estar un poco más oxidados y que presenten una tasa de etanal ligeramente superior (Blouin, J. et al., 2000). Está demostrado que el valor del índice de ionización disminuye (gráficas 116 a y b) por acción del etanal ya que éste rompe las asociaciones entre antocianos (Somers, T. C. et al., 1979; Canals, R. et al., 2005). Además se observa que es para el tostado ligero cuando la pérdida de antocianos que contribuyen al color del vino es menor (índice de ionización), principalmente esta diferencia ha alcanzado una significación importante durante el período de envejecimiento en botella (6-28 meses). Gallego, L. (2013) ha descrito que el grado de tostado de la madera tiene una influencia significativa sobre el porcentaje de antocianos que contribuyen al color rojo del vino, durante el período de contacto vino-madera. Así vinos en contacto con maderas de tostados fuertes, alcanzaban los valores más altos tras un envejecimiento de 2 años, de los cuales 170 días fueron vinos envejecidos con astillas o tablonés+MOX.

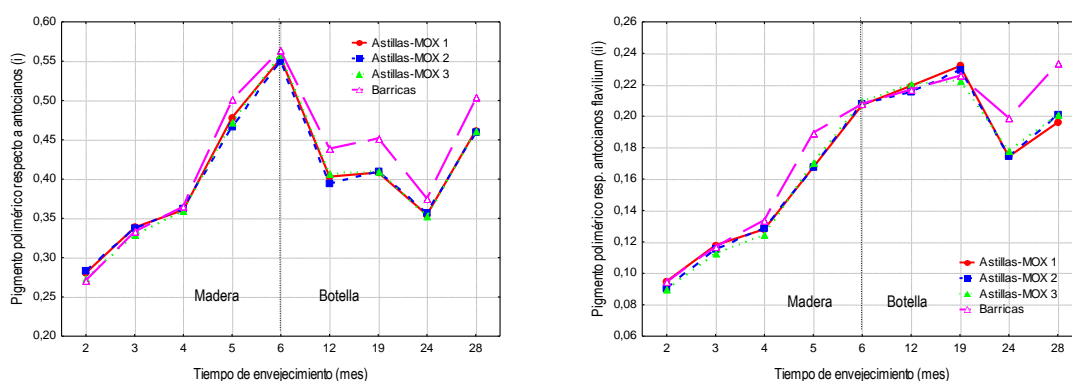


**Gráfica 116:** Evolución del índice de ionización del vino durante la crianza en madera y botella de un vino de diferentes tostados (a) y distintos sistemas (b) de envejecimiento

Además el índice de ionización en los vinos ha alcanzado la mayor diferencia significativa (100,00 %) en la fase de envejecimiento en botella, siendo su valor más elevado en los vinos que han permanecido inicialmente en contacto con barricas es decir, durante el período reductor el vino ha conservado una mayor concentración de antocianos que contribuyen al color del vino, frente a los vinos que han permanecido en contacto con astillas+MOX y por tanto, mantendrán mejor su color rojo base. Aunque no presenta un resultado significativo, es interesante destacar el comportamiento de los vinos al inicio del envejecimiento (2-4 meses) en barricas, donde se observa un bajo índice de ionización y es al final del período de envejecimiento cuando alcanza un valor más elevado, debido a la mayor interacción que se produce en estos vinos de los compuestos fenólicos responsables de los procesos estabilizadores. Inicialmente, se pensó que la copigmentación estaba presente solamente en vinos jóvenes (Somers, C. et al., 1988; Liao, H. et al., 1992), pero durante el envejecimiento del vino se produce la adsorción tanto de antocianos libres como de cofactores en la superficie de las barricas (Ribéreau-Gayón, P. et al., 1998) y la alteración del equilibrio que se produce durante las reacciones de polimerización, podría ser la causa de la reducción de la copigmentación a favor de los procesos de polimerización. Sin embargo, las formas copigmentables cedidas por la madera como ácido caféico y ácido p-cumárico, han ayudado a la precursión de la copigmentación intermolecular. En este aspecto, la copigmentación sería el paso preliminar hacia la formación de verdaderos enlaces covalentes entre antocianos y copigmentos. Estos resultados sugieren nuevas vías para lograr vinos con una mayor proporción de pigmentos estables, como el fomento de la hidrólisis de sus precursores durante las primeras fases de envejecimiento de los vinos tintos.

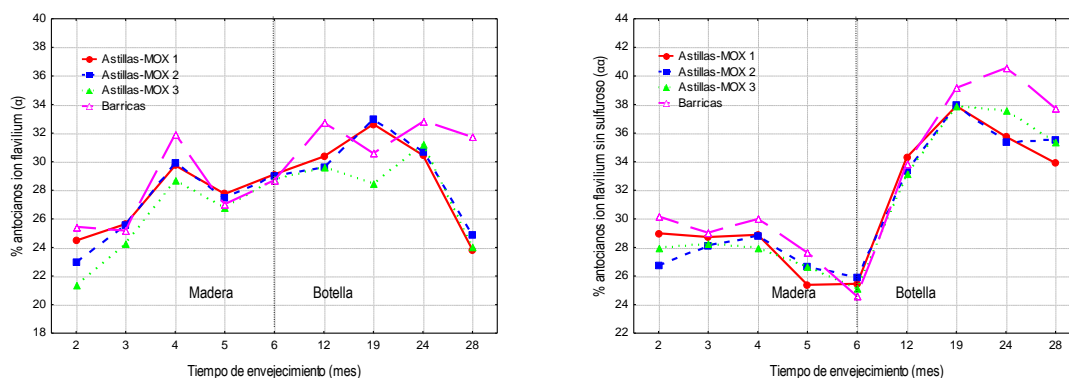
Los **parámetros de edad química** dan una idea de las reacciones que sufren los antocianos del vino implicándose en la formación de pigmentos. Tanto los parámetros pigmentos poliméricos con respecto a los antocianos totales del vino (i), pigmentos poliméricos con respecto a los antocianos del vino en forma de ion flavilium (ii) como los parámetros porcentaje de antocianos que se encuentran como ion flavilium ( $\alpha$ ), porcentaje de antocianos que se encuentran como ion flavilium después de suprimir el efecto decolorante del  $\text{SO}_2$  ( $\alpha\alpha$ ) muestran un comportamiento análogo en el vino a lo largo del envejecimiento, por lo tanto aportan información semejante debido a que se refieren al mismo tipo de compuestos, ya que los primeros están relacionados con los compuestos poliméricos formados a partir de los antocianos

durante el envejecimiento y los segundos con los antocianos que se encuentran en forma flavilium. Los resultados sugieren que los vinos envejecidos en barricas, durante su fase de envejecimiento en botella, mantuvieron el carácter joven durante más tiempo que los vinos en contacto con astillas microoxigenadas (gráficas 117 a y b). Concretamente, los vinos envejecidos en barricas presentan un mayor nivel del pigmento polimérico respecto a los antocianos del vino (i) que los vinos envejecidos en contacto con astillas-MOX. Este resultado ha coincidido con lo encontrado en el parámetro ii (relación pigmentos poliméricos respecto a los antocianos en forma flavilium). Indicando ambos parámetros i e ii que la formación de pigmentos poliméricos ha sido mayor en los vinos envejecidos en barricas, como ya se indicara con el resultado obtenido para el índice de ionización. Destaca la menor distancia entre los vinos de las barricas y los tratados con astillas-MOX cuando se relaciona el pigmento polimérico con los antocianos en forma flavilium (ii) que cuando se relaciona con los antocianos totales del vino (i). Sin embargo durante el envejecimiento en contacto con madera y oxígeno apenas se aprecian tales diferencias (tabla 44).



**Gráfica 117:** Evolución del pigmento polimérico respecto a los antocianos totales (i) (a) y respecto al ión flavilium (ii) (b) del vino durante la crianza en madera y botella de un vino en diversos sistemas de envejecimiento

Se ha descrito anteriormente que los vinos envejecidos en barricas presentan mayor carácter joven porque, a pesar de ser vinos con mayor proporción de pigmento polimérico (i e ii), también son vinos con mayor porcentaje de antocianos que se encuentran como ion flavilium ( $\alpha$ ) tanto antes como después de suprimir el efecto decolorante del  $\text{SO}_2$  ( $\alpha\alpha$ ); es decir como antocianos que permanecen a lo largo del envejecimiento en su forma libre o bien que podrían producirse procesos reversibles en los que los antocianos polimerizados vuelven a sus formas libres o estos sí contribuyen a mantener el color de los vinos, puesto que no han precipitado. Además, se aprecia que las mayores diferencias en estos parámetros se observan en los vinos en su fase de envejecimiento en botella, alcanzando diferencias significativas de más del 99,99 % para ambas variables (tabla 45).



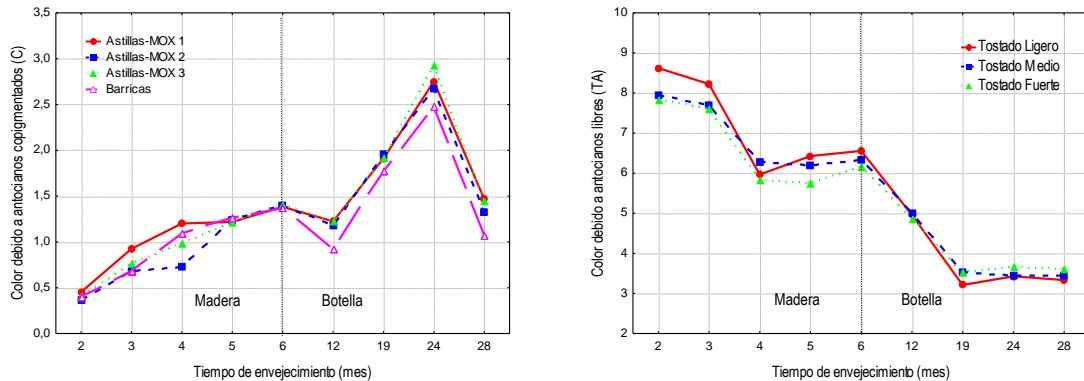
**Gráfica 118** : Evolución del % de antocianos como ión flavilium ( $\alpha$ ) (a) y tras suprimir el efecto del sulfuroso ( $\alpha\alpha$ ) (b) del vino durante la crianza en madera y botella de un vino en diversos sistemas de envejecimiento

Estos resultados en el vino durante su envejecimiento en barricas y comparados con vinos envejecidos en contacto con astillas contradicen lo obtenido en el capítulo 1, donde los primeros presentaban los valores más bajos de pigmentos poliméricos (i e ii) y los valores más bajos de color debido a los antocianos ( $\alpha$  y  $\alpha\alpha$ ), excepto para los vinos que envejecían barricas de roble húngaro, en cuyo caso los resultados eran similares a los descritos en este capítulo. Las variables que se han visto modificadas entre ambos capítulos son el origen del vino, que ha pasado de ser Tinto del País a envejecer vino de la variedad Tinta de Toro, y la aportación de oxígeno a los vinos durante el envejecimiento con madera. Estos resultados mostrarían nuevamente, y como ya se indicara en el capítulo 2, el efecto que tiene la presencia de oxígeno sobre los procesos de polimerización y sobre la mayor presencia de color debida a los antocianos libres. También se observa un mayor parecido entre los vinos cuando están en contacto con oxígeno en todos los sistemas estudiados (barricas-astillas-MOX) y posteriormente en botella.

Para entender mejor la formación de pigmentos poliméricos debido previamente a procesos de copigmentación, se ha analizado los parámetros de copigmentación, donde la modificación de la mayoría de los **parámetros de copigmentación** de los vinos han estado influenciados, de forma estadísticamente significativa, por el sistema de envejecimiento en el que han permanecido los vinos, con un nivel de significación superior al 99,9 % (tablas 44 y 45) especialmente a lo largo de la permanencia de los vinos en botella.

Se ha encontrado que el parámetro C (**color del vino debido a los antocianos copigmentados**), de los vinos que han estado en barricas han mantenido menor color debido a los antocianos copigmentados que al haber estado el vino en contacto con astillas-MOX durante el envejecimiento en botella (tabla 45, gráfica 119a), aunque dicho resultado no resulta ser significativo. Se ha observado de manera general, un ligero aumento del color debido a los antocianos copigmentados (C) en todos los vinos a lo largo del proceso de envejecimiento. Este resultado, como ocurriera con la edad química, es contrario a lo encontrado en el capítulo 1, donde los vinos envejecidos en barrica entre los meses 21 a 26 presentaban valores más elevados que los vinos en contacto con astillas y tablonos. Demuestra por tanto, que el color de los vinos sigue aumentando durante envejecimientos prolongados por procesos de copigmentación.

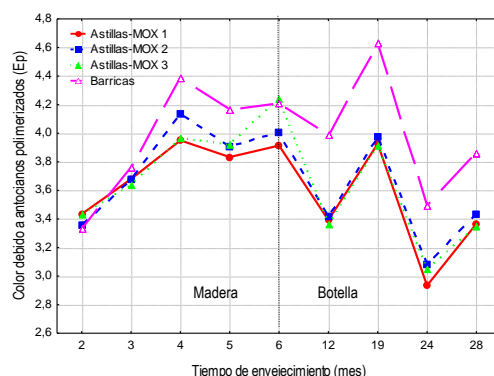
Además, se confirma nuevamente, que la presencia de oxígeno favorece los procesos de copigmentación en los vinos.



**Gráfica 119:** Evolución del color debido a los antocianos copigmentados (C) (a) y a los antocianos libres (TA) (b) del vino durante la crianza en madera y botella de un vino en diversos sistemas (a) y distintos tostados (b)

El **color debido a los antocianos libres (TA)** es mayor en los vinos envejecidos en barricas durante su permanencia en botella, aunque el dato no es significativo. Cuando sí se aprecian diferencias estadísticamente significativas en los vinos ha sido durante el envejecimiento con diferentes tostados. La aportación al vino de madera de tostado medio mantiene valores más elevados de antocianos libres que contribuyen al color (gráfica 119b), aunque esta diferencia pierde significación cuando el tiempo de envejecimiento aumenta, de manera que tal diferenciación en la fase de envejecimiento en botella desaparece.

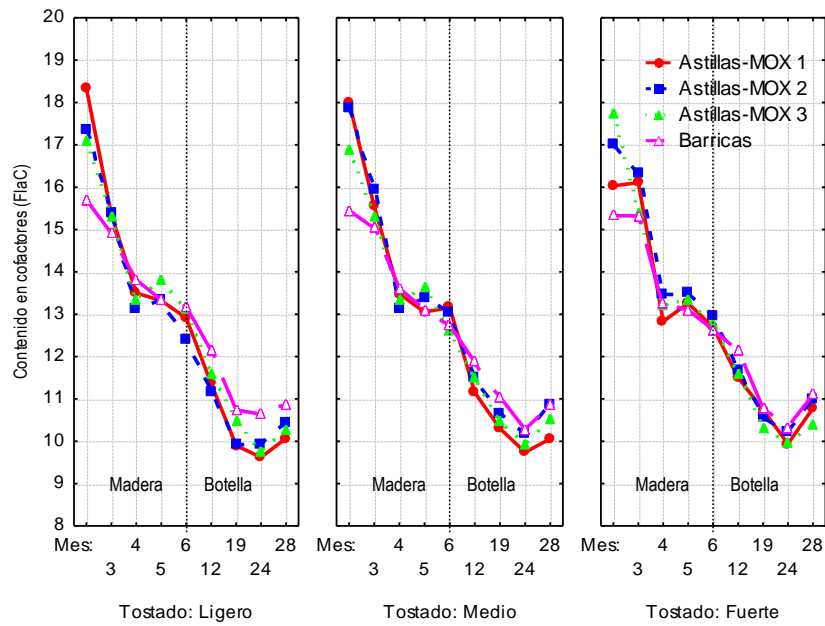
El **color debido a los antocianos polimerizados (EP)** es una medida del realce de la intensidad del color del vino. Si se observa la evolución del vino con el tiempo (gráfica 120) se comprueba que efectivamente para los vinos en barricas el color debido a los antocianos polimerizados es más elevada y que además, los vinos aumentan su color polimerizado de manera importante en los 4 primeros meses de envejecimiento. A partir del cuarto mes, los vinos comienzan a perder color polimerizado, aunque parte de este tipo de compuestos podrían participar como precursores de otros pigmentos estables, los piranoantocianos (Casassa, F. et al., 2006b), o precipitar y perderse. Este resultado vuelve a mostrar que la presencia de oxígeno minimiza la presencia de color por procesos de polimerización, dado que el resultado obtenido en este capítulo muestra al vino de las barricas con más color polimerizado, mientras que en el capítulo 1 obtenían los valores más bajos, una de las diferencias destacables de este cambio en el resultado se debe a la aportación de oxígeno al vino cuando se envejece en recipientes con astillas.



**Gráfica 120:** Evolución del color debido a los antocianos polimerizados (Ep) del vino durante la crianza en madera y botella de un vino en distintos sistemas de envejecimiento

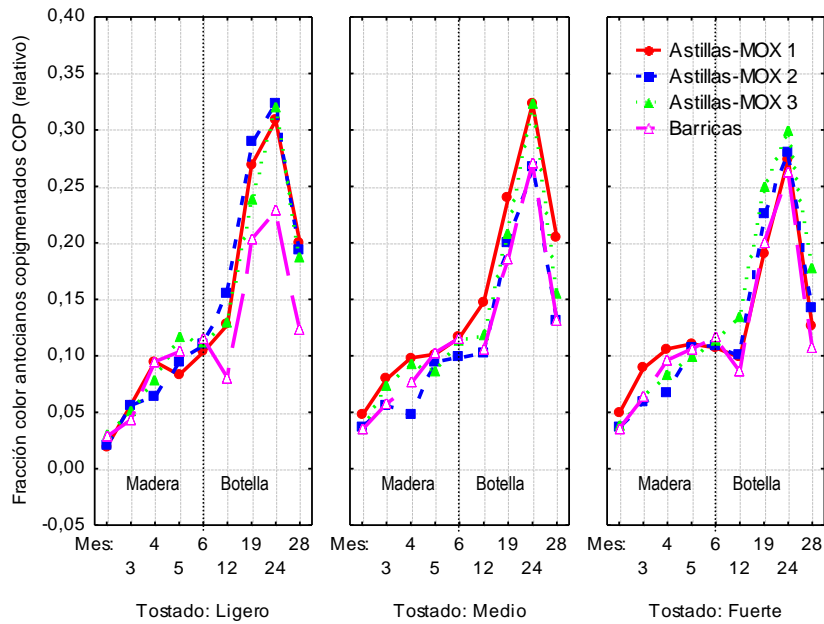
El **contenido en cofactores** (FlaC) en los vinos ha disminuido a lo largo del envejecimiento, debido a que son compuestos que participan en las reacciones de copigmentación con los antocianos del vino. En relación al grado de tostado de la madera, se ha observado que los vinos de tostado ligero presentan mayor concentración en cofactores que los vinos con maderas de mayor tostado, aunque el dato no ha resultado ser estadísticamente diferenciador. Gallego, L. (2013) ha observado que el descenso del contenido de cofactores en los vinos ha sido más evidente cuando la madera *Quercus pyrenaica* (Wild) sufría un tostado fuerte, siendo los vinos envejecidos con madera de tostado ligero los que mayores cofactores mantenían durante los 2 años de envejecimiento, sin embargo en este trabajo en la fase de envejecimiento en botella los vinos alcanzan valores significativamente más elevados de contenido en cofactores cuando los vinos han permanecido en contacto con maderas de tostado fuerte. Si se tiene en cuenta que durante el envejecimiento del vino se aportan compuestos fenólicos, tales como ácido gálico, protocatéquico, ácidos caféico y escopoletina, sensibles a la degradación térmica, provocando una disminución significativa en su contenido con el tostado de la madera (Jordão, A.M. et al., 2012) parece razonable encontrar menores concentraciones en el contenido de cofactores en tostados de mayor intensidad. Por otra parte, una mayor aportación de compuestos de la madera y el proceso de microoxigenación favorecería la producción de acetaldehído (Atanasova, V. et al., 2002) y por tanto las reacciones en las cuales interviene (Atanasova, V. et al., 2002; Flanzy, C. 2000; Laudy, M.C. 2006). Parece razonable pensar que una aportación de oxígeno y un menor tostado de la madera, en la que la presencia de elagitaninos es mayor, actuarían facilitando la hidroperoxidación del etanol (acetaldehído), y por consiguiente una mayor polimerización frente a los procesos de copigmentación. Lo que explicaría que el contenido en cofactores sea mayor en los vinos de las barricas que en aquellos que han sido envejecidos en astillas-MOX, dado que la barrica presenta menor copigmentación y mayor polimerización a lo largo del tiempo, causado por una menor aportación de elagitaninos y oxígeno, a lo largo del tiempo de contacto con el vino.





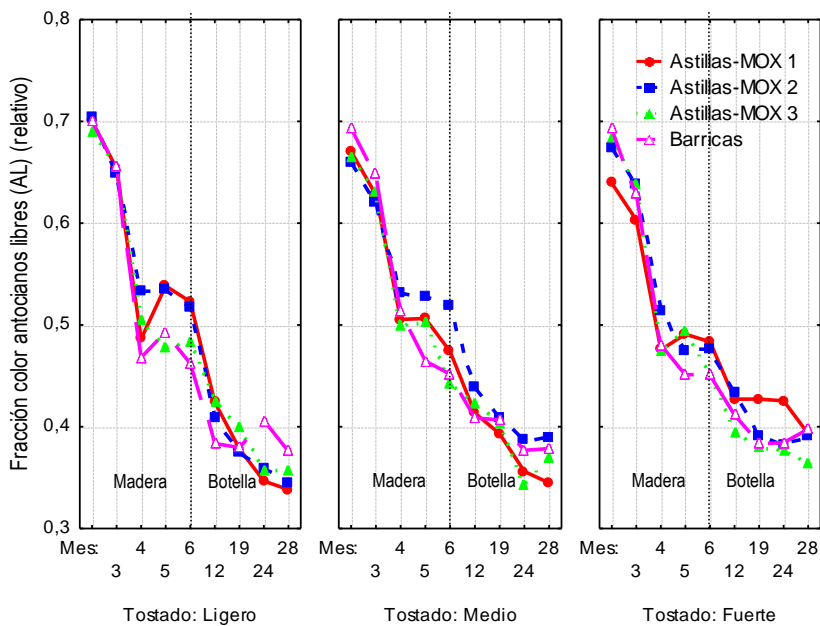
**Gráfica 121:** Evolución del contenido en cofactores (FlaC) del vino durante la crianza en madera y botella de un vino de diferentes tostados y sistemas de envejecimiento

Lógicamente, la **medida de la fracción de color debida a los antocianos copigmentados (COP)** es menor en vinos que han permanecido en barricas frente a los vinos que han estado en contacto con astillas+MOX durante el envejecimiento en botella, sin embargo son vinos más jóvenes y con mayor intensidad en color. Este resultado sobre el color guarda relación con el efecto batocrómico e hipercrómico que se produce en los vinos y que contribuyen a intensificar el color de los mismos (Fei, H., 2015). Este aumento en la fracción de color debida a los antocianos copigmentados no parece producir un elevado realce del color rojo de los vinos para las muestras analizadas, como indicara Hermosín, I. et al. (2004), dado que como se ha visto en este trabajo, la componente roja (%A520) y la importancia del color rojo (%dA) es mayor en vinos envejecidos en barricas, que se trata de vinos menos copigmentados, si parece ser más influyente en la componente azul (%A620), que gracias al proceso de copigmentación los valores de esta variable se mantienen a lo largo del proceso de envejecimiento en madera un poco más elevados en los vinos envejecidos en contacto con astillas-MOX.



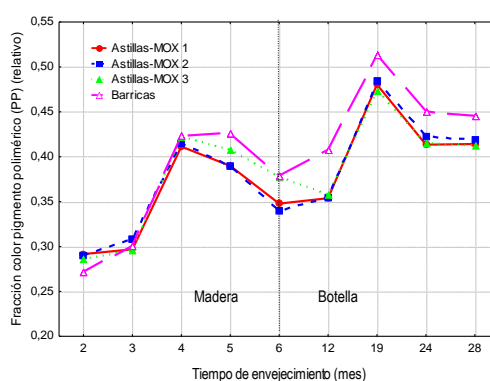
**Gráfica 122:** Evolución de la fracción de color debida a los antocianos copigmentados (COP) del vino durante la crianza en madera y botella de un vino de diferentes tostados y sistemas de envejecimiento

La **fracción de color debida a los antocianos libres (AL)**, como ya se viera anteriormente, desciende en los vinos con el paso del tiempo, siendo mayor la pérdida en los primeros meses de envejecimiento. Se observa (gráfica 123) un mayor porcentaje de color debida a antocianos libres en vinos que permanecieron en contacto con astillas-MOX de tipo 1 y 2, pero se pierde tales diferencias en botella. También se observa mayor fracción de color debida a antocianos libres en los vinos a los que se ha incorporado madera de tostado ligero en la fase de envejecimiento en madera, sin embargo acaba siendo mayor en tostado medio y fuerte en su fase de envejecimiento en botella.



**Gráfica 123:** Evolución de la fracción de color debida a los antocianos libres (AL) del vino durante la crianza en madera y botella de un vino de diferentes tostados y sistemas de envejecimiento

Durante el envejecimiento el aumento del grado de polimerización está relacionado con la pérdida paralela de antocianos monoméricos del vino, modificando así el color de los vinos. Se ha observado un importante aumento de la **fracción de color debida al pigmento polimérico (PP)** de los vinos. La gráfica 124 muestra que los vinos con mayores niveles de pigmentos poliméricos son los envejecidos en barricas frente a los envejecidos en astillas-MOX como ya se indicara anteriormente. Por lo tanto, la fracción del color del vino debida al pigmento polimérico es más importante en los vinos de barricas, siendo significativamente mayor durante la fase de envejecimiento en botella de los vinos. Sin embargo, algunos autores han puesto en duda que este tipo de pigmentos flavanoles contribuyan al color de los vinos envejecidos (Escribano, M.T. et al., 2001, Santos, C., 2001), ya que las condensaciones flavanol-antociano directas o mediadas por acetaldehído, dan lugar a grandes oligómeros y con tendencia a continuar polimerizándose para finalmente precipitar con el tiempo (Escribano, M.T. et al., 2001; Es Safi, N. 1999; Würdig, G. et al., 1989).



**Gráfica 124:** Evolución de la fracción de color debida al pigmento polimérico (PP) del vino durante la crianza en madera y botella de un vino en diversos sistemas de envejecimiento

Los datos obtenidos de los parámetros de copigmentación analizados por el método Boulton, R. (2001) muestran que, el color debido a los antocianos copigmentados (COP) en los vinos envejecidos en barricas han sido menores, pero han presentado mayor color debido a los antocianos polimerizados (Ep) principalmente en la fase de envejecimiento en botella, ayudando a una mayor estabilización del color a lo largo del tiempo de envejecimiento estudiado (28 meses).

### V.3.6. Compuestos fenólicos de bajo peso molecular en el vino.

Los compuestos fenólicos presentes en los vinos, tanto provenientes de la uva como del contacto con la madera de roble, tienen un papel esencial en el envejecimiento de los vinos porque tienen importantes efectos antioxidantes y participan en reacciones de estabilización que ayudan a alargar la vida útil de los vinos, los ácidos fenólicos, los flavanoles y los elagitaninos entre otros, presentan poder antioxidante.

Durante el envejecimiento, diversos componentes solubles del roble se difunden en el vino para mejorar su intensidad y complejidad (Prida, A et al., 2006). Los principales ácidos fenólicos identificados en roble seco y tostado son los hidroxibenzoicos y hidroxicinámicos (De Simón, B.F. et al., 2003). Además, es

importante identificar los aldehídos benzoicos ya que juegan un papel muy importante en la contribución a las características sensoriales de los vinos (Ibern, M. et al., 2002).

Se han encontrado diferencias significativas entre el contenido que presentan los vinos analizados de la mayoría de los ácidos hidroxibenzoicos analizados (entre los que destacan el ácido gálico, ácido siríngico, ácido protocatéquico y ácido vanilínico, además de la catequina y el aldehído protocatéquico), debido a los distintos grados de **tostado de la madera (ligero, medio y fuerte)** para la mayoría.

Entre los vinos envejecidos en diferentes **sistemas (astillas-MOX y barricas)**, los compuestos fenólicos que les diferencian son el ácido gálico, vanillina, epicatequina, y los ácidos protocatéquico, vanilínico, gentísico y el único ácido hidroxicinámico significativamente diferenciador, el ácido sinápico.

Respecto al efecto del momento de adición de las **astillas (astillas-MOX 1, astillas-MOX 2, astillas-MOX 3)** parecen crear cierta diferenciación entre los vinos los compuestos fenólicos ácido gálico, epicatequina, ácido vanilínico y ácido gentísico.

**Tabla 46:** Valores medios de compuestos fenólicos de bajo peso molecular de los vinos envejecidos durante 6 meses en maderas de distinto tostados (ligero, medio y fuerte) y sistemas (astillas-MOX 1, astillas-MOX 2, astillas-MOX 3 y barricas). Resultados de la ANOVA

	Tostado				Sistema				
	Ligero	Medio	Fuerte	p level	Astillas-MOX 1	Astillas-MOX 2	Astillas-MOX 3	Barrica	p level
Ác. gálico <sup>2</sup>	53,74a	52,80a	52,24a	0,274	53,71bc	52,13ab	54,78c	51,08a	<b>0,005</b>
Ald. protocatéquico <sup>2</sup>	1,95b	1,74a	1,72a	<b>0,048</b>	1,79a	1,78a	1,86a	1,77a	0,860
Ald. p-Hydroxybenzoico <sup>2</sup>	1,04a	1,01a	0,97a	0,725	1,00a	0,93a	1,06a	1,03a	0,633
Catequina <sup>2</sup>	51,65a	53,70a	47,28a	0,085	52,87a	53,35a	49,05a	48,26a	0,313
Ác. siríngico <sup>2</sup>	3,13a	3,15a	3,12a	0,963	3,15a	3,10a	3,19a	3,09a	0,865
Vanillina <sup>2</sup>	0,79a	0,82a	0,77a	0,602	0,80a	0,79a	0,73a	0,85a	0,225
Epicatequina <sup>2</sup>	22,96a	22,53a	22,80a	0,970	20,34a	21,89a	24,06a	24,76a	0,127
Ác. p-cumárico <sup>2</sup>	1,67a	1,57a	1,55a	0,638	1,75a	1,55a	1,67a	1,41a	0,134
Ác. protocatéquico <sup>2</sup>	2,84a	2,86a	2,81a	0,918	2,83a	2,69a	3,06a	2,77a	0,088
Ác. vainilínico <sup>2</sup>	3,46a	3,31a	3,40a	0,774	3,58a	3,20a	3,38a	3,40a	0,478
Ác. gentísico <sup>2</sup>	10,49a	10,49a	10,23a	0,377	10,66a	10,28a	10,42a	10,26a	0,348
Ác. cafeico <sup>2</sup>	1,51a	1,50a	1,44a	0,182	1,51a	1,48a	1,46a	1,48a	0,689
Ác. ferúlico <sup>2</sup>	0,97a	0,96a	0,93a	0,152	1,00a	0,93a	0,94a	0,94a	0,083
Ác. sinápico <sup>2</sup>	2,72a	2,81a	2,71a	0,911	2,88a	2,67a	2,77a	2,67a	0,881

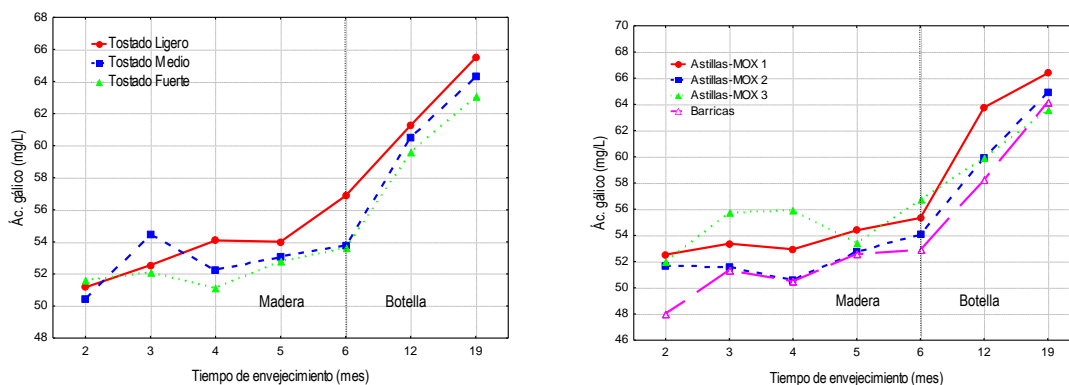
Para cada factor, letras distintas en filas indican diferencias estadísticamente significativas. En negrita se muestra el p level con significación > 95 % (p<0,05) <sup>1</sup> expresado en g/L, <sup>2</sup> expresado en mg/L, <sup>3</sup> expresado en % (v/v)

**Tabla 47:** Valores medios de compuestos fenólicos de bajo peso molecular de los vinos envejecidos en botella (12-19 meses) en distintos tostados (ligero, medio y fuerte) y sistemas (astillas-MOX 1, astillas-MOX 2, astillas-MOX 3 y barricas). Resultados de la ANOVA

	Tostado				Sistema				
	Ligero	Medio	Fuerte	p level	Astillas-MOX 1	Astillas-MOX 2	Astillas-MOX 3	Barrica	p level
Ác. gálico <sup>2</sup>	63,38b	62,42ab	61,35a	<b>0,027</b>	65,08b	62,45a	60,78a	61,21a	<b>0,000</b>
Ald. protocatéquico <sup>2</sup>	4,29a	4,68a	4,37a	0,713	4,38a	4,42a	4,12a	4,87a	0,628
Ald. p-Hydroxybenzoico <sup>2</sup>	0,34a	0,34a	0,32a	0,872	0,32a	0,33a	0,34a	0,34a	0,989
Catequina <sup>2</sup>	43,10a	59,48b	53,80ab	<b>0,040</b>	56,01a	54,19a	44,96a	53,34a	0,426
Ác. siríngiro <sup>2</sup>	10,25a	12,34b	10,10a	<b>0,020</b>	10,79a	11,74a	10,51a	10,55a	0,546
Vanillina <sup>2</sup>	2,06a	1,74a	1,84a	0,296	1,60a	1,40a	1,98a	2,54b	<b>0,000</b>
Epicatequina <sup>2</sup>	17,78a	17,62a	18,44a	0,696	20,46b	18,13b	15,20a	18,01b	<b>0,002</b>
Ác. p-cumárico <sup>2</sup>	3,66a	3,20a	3,34a	0,104	3,38a	3,08a	3,77a	3,38a	0,066
Ác. protocatéquico <sup>2</sup>	3,41c	3,30b	3,06a	<b>0,000</b>	3,31b	3,29b	3,37b	3,06a	<b>0,000</b>
Ác. vainillínico <sup>2</sup>	3,40c	3,33b	3,22a	<b>0,000</b>	3,62c	3,56b	3,03a	3,06a	<b>0,000</b>
Ác. gentísico <sup>2</sup>	8,84a	8,89a	9,03a	0,299	9,02b	8,97b	8,53a	9,15b	<b>0,002</b>
Ác. cafeico <sup>2</sup>	1,80a	1,94a	1,86a	0,061	1,82a	1,83a	1,85a	1,97a	0,091
Ác. ferúlico <sup>2</sup>	3,71a	3,73a	3,59a	0,869	3,78a	3,77a	3,58a	3,58a	0,867
Ác. sinápico <sup>2</sup>	2,09a	1,71a	1,46a	0,056	1,44a	1,39a	1,64a	2,53b	<b>0,002</b>

Para cada factor, letras distintas en filas indican diferencias estadísticamente significativas. En negrita se muestra el p level con significación > 95 % ( $p < 0,05$ ) <sup>1</sup> expresado en g/L, <sup>2</sup> expresado en mg/L, <sup>3</sup> expresado en % (v/v)

Entre los taninos hidrolizables, importantes en el envejecimiento de los vinos porque confieren estabilización de los pigmentos (Fujieda, M. et al. 2008), se encuentran los galotaninos y elagitaninos, que son polímeros de ésteres de glucosa de ácido gálico y ácido hexahidroxidifénico respectivamente (Liu, P. 2012). Fernández, B. et al. (1994) analizaron cuatro muestras de madera de roble de origen español concluyendo que el ácido elágico es el componente principal de la madera verde, seguido del ácido gálico, lo que indicaría que a medida que la madera se tuesta, la concentración de ácido elágico y gálico disminuye. Puede observarse en la gráfica 125a que la cesión de **ácido gálico** al vino que está en contacto con madera de tostado fuerte es menor, confirmando que este compuesto se degrada con el quemado de la madera. Por tanto, la concentración de ácido gálico ha disminuido con la intensidad de tostado, mostrando los vinos tratados con madera de tostado ligero mayor contenido que al emplear maderas de tostado medio y fuerte, coincidiendo con lo observado por otros autores (Matějček, D. et al., 2005; Gallego, L. 2013).

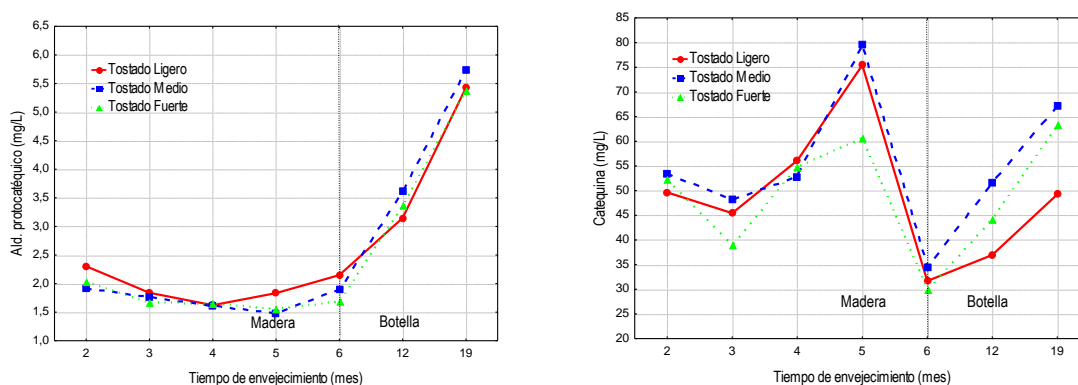


**Gráfica 125:** Evolución del ácido gálico (mg/L) del vino durante la crianza en madera y botella de un vino de diferentes tostados (a) y distintos sistemas (b) de envejecimiento

La evolución del ácido gálico en los vinos comparando el sistema en el que ha envejecido (astillas-MOX y barricas), se presenta en la gráfica 125b. Se puede apreciar un aumento en los cuatro sistemas de envejecimiento, debido a la cesión de dicho compuesto por parte de la madera (Masson, G. et al., 1996; Fernández, B. et al., 1996; Fernández, J. L. et al., 1999, Merino, S. 2003), no siendo un ascenso muy acusado entre 2-6 meses del período de envejecimiento en madera. Este aumento progresivo y relativamente lento en esos primeros meses podría ser debido a que parte del ácido gálico se dimeriza para formar ácido elágico (Musingo, N. et al., 2001), base de los taninos hidrolizables. Destaca la barrica como sistema que menos ácido gálico consigue mantener en el vino, debida a la formación del compuesto antociano-elagitanino contribuyendo así a la formación de los compuestos polimerizados en mayor concentración en los vinos de las barricas, provocando mayor color del vino, como ya se viera en los resultados descritos para la edad química y copigmentación de los vinos. Además, los galotaninos aportados por el roble actúan como buenos factores de copigmentación, no siendo así en el caso de los taninos elágicos. Autores como Chassaing, S. et al. (2010), describen que los elagitaninos son compuestos fenólicos que afectan directamente al color de los vinos, y las reacciones que pueden tener lugar entre los antocianos y los elagitaninos provocarían un cambio del color de rojo púrpura hacia anaranjado,

La mayor concentración de ácido gálico alcanzado en los vinos se corresponde con el envejecimiento en contacto con astillas+MOX, siendo sólo diferenciador este tipo de envejecimiento en astillas+MOX 1 durante el período de botella en los últimos meses de envejecimiento (gráfica 125b), por alcanzar los valores más elevados, es decir aquellos vinos que mayor dosis de madera recibieron desde el momento de incorporar el vino al depósito, con un aporte de 4 g/L. La concentración de ácido gálico mayor en los vinos con astillas+MOX contradice la pérdida de este compuesto en los vinos por participar en procesos de copigmentación dado que se da con mayor intensidad en vinos envejecidos en astillas+MOX. Por tanto la hipótesis que alcanza mayor peso es que los vinos tratados con astillas+MOX la interacción vino-madera es más rápida y se produce por ello una mayor cesión de ácido gálico de la madera al vino, que la cesión que otorga la barrica. También destacar el poder antioxidante que aporta a los vinos la mayor presencia de ácido gálico (Teissedre, P.L., 2012) en los vinos de astillas+MOX.

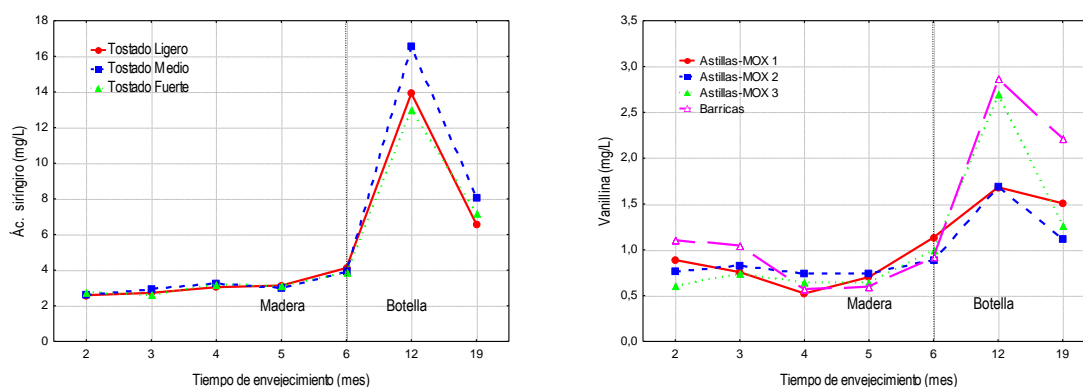
Se observa en las tablas 46 y 47 un aumento en los vinos a lo largo del envejecimiento tanto del **ácido protocatéquico** como su aldehído, indicando que a pesar de formarse uno a partir del otro, se están dando las condiciones para seguir generando estos compuestos constantemente. Los aldehídos pueden 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, A. et al., 2007). De manera general, se cumple que el tostado medio de la madera hace aumentar la concentración de aldehídos fenólicos en los vinos, y por tanto son los vinos tratados con madera de estos tostados los que mayor concentración alcanzan en el contenido de aldehídos (Chatonnet, P., 2007). Se observa en la gráfica 126a para el vino envejecido botella una mayor aportación de aldehído protocatéquico en los vinos que inicialmente permanecieron en contacto con madera de tostado medio.



**Gráfica 126:** Evolución del aldehído protocatéquico (mg/L) (a) y la catequina (mg/L) (b) del vino durante la crianza en madera y botella de un vino envejecido en distintos tostados de madera

La presencia de vescalagina en el vino, no analizada en este trabajo, se debe a su contacto con madera, este compuesto reacciona con los antocianos o con los flavanoles (catequina y epicatequina) en forma de aducto, produciendo un efecto batocrómico en el medio. Estas combinaciones dan lugar a estructuras más estables (Chatonnet, P., 1995) con gran poder antioxidante (Teissedre, P. L., 2012); la vescalagina+epicatequina o catequina C1-C6 o C8; haciendo disminuir la concentración de catequinas en el vino. Otra causa de la disminución del contenido de catequinas en el vino, es la polimerización de éstas para formar taninos condensados. Existen también varios mecanismos de polimerización; mediante formación de semiquinonas o de un carbocatión o por participación del etanal. Se conoce la participación de etanal como medio para la combinación de catequinas con otros compuestos o para su propia polimerización de forma que ambas reacciones compiten entre sí durante el envejecimiento, siendo la proporción antociano-flavanol la que define quién predomina sobre la otra. Un tostado medio de la madera empleada en el envejecimiento hace que la presencia de **catequina y ácido siríngico** en los vinos sean más elevadas, frente a los tostados ligeros y fuertes (gráficas 126b y 127a). Autores como Gallego, L. (2013) han encontrado que el aumento de la temperatura de tostado de la madera hace disminuir la concentración de (+)-catequina, encontrando valores más elevados en los vinos envejecidos con astillas y tablonas+MOX de tostado ligero. También se observa (gráfica 126b) que la ausencia de oxígeno (botella) ha ayudado a recuperar la concentración de catequina.

La evolución de la concentración del **ácido siríngico** en los vinos ha sido con un ligero aumento en los 6 meses de envejecimiento en contacto con madera y un gran aumento hasta los 19 meses de envejecimiento en botella. Observando en este segundo período, una diferencia significativa entre los vinos por el grado de tostado de la madera empleada en el primer período. Así, el vino en contacto con madera de tostado medio presenta valores más elevados que para tostado ligero y fuerte. Este aumento tan elevado de concentración hace pensar en un análisis erróneo, lo que sigue una tendencia lógica es el aumento en la concentración de ácido siríngico de los vinos durante todo el periodo de estudio, que 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 (Cadañía, E. et al., 2008). Aunque diversos autores como Matejíček, D. et al., (2005) y Gallego, L. (2013) afirmaron que el grado de tostado de la madera no influye estadísticamente en la concentración de ácido siríngico en los vinos. Ortega, M. et al. (2007) observaron que la disminución en botella del aldehído siríngico era causada por su transformación en ácido siríngico, lo que explicaría su aumento entre los 12 y 19 meses de envejecimiento. Fernández, B. et al. (2006) también apreciaron una disminución de la concentración de siringaldehído durante el segundo año en botella tras 21 meses en bodega. Parece que la ausencia de oxígeno ayudaría también a recuperar la concentración de ácido siríngico en los vinos.



**Gráfica 127:** Evolución del ácido siríngico (mg/L) (a) y la vanillina (mg/L) (b) del vino durante la crianza en madera y botella de un vino en distintos tostados (a) y diversos sistemas (b) de envejecimiento

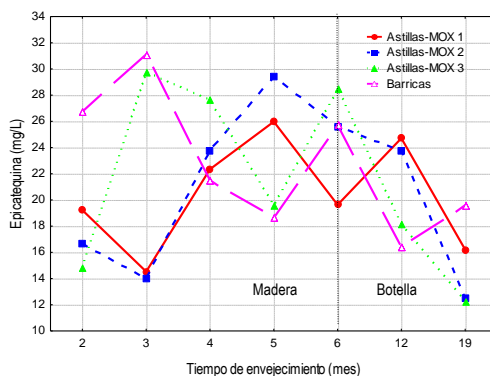
El resultado obtenido para la **vanillina** en su fase de envejecimiento en madera, indica en la gráfica 127b que la extracción de la madera se realiza de manera más elevada en los vinos envejecidos en barricas, siendo este resultado significativamente superior, sin embargo en la fase de botella este resultado contradice la evolución de este aldehído benzoico obtenida por otros autores Pérez, L. J. et al. (2003c y 2006); Fernández, B. et al. (2006); Ortega, M. et al. (2007); (Ojeda, S., 2012), ya que dada su procedencia de la madera de roble, parece razonable que en botella disminuya su concentración, pues no se produce aporte, y además experimenta diversas reacciones químicas que dan lugar a su transformación en otros compuestos (Ojeda, S., 2012). Posiblemente se haya producido un error en el análisis obtenido para el mes 12 de envejecimiento en botella, aún así la línea de tendencia parece ascender, podría por tanto producirse algún proceso de liberación de vanillina.

La **(-)-epicatequina** es mejor copigmento que su estereoisómero la **(+) catequina** (Brouillard, R. et al., 1991; Escribano, M.T. et al., 1999) y lo mismo ocurre con sus procianidinas dimeras, la B2 (epi 4-8 epi) y



B3 (cat 4-8 cat). Por otra parte, la B2 es mejor copigmento que la (+) catequina (Cacho, J., 2003). Berke, B. et al. (2005) observaron que la fuerza de asociación es menor en procianidinas dimeras con enlace interflavonoide C4-C8, excepto en la procianidina B1, que posee enlace C4-C6, probablemente porque los dímeros C4-C6 poseen una estructura conformacional más flexible y abierta que los respectivos dímeros C4-C8. Respecto a los flavonoles y los ácidos fenólicos, éstos son los que tienen una constante de asociación más fuerte con los cationes flavilium (Flanzy, C., 2000).

Estos dos monómeros flavan-3-ols, (+)-catequina y (-)-epicatequina, presentan concentraciones muy distintas. Si observamos la tabla 46 se comprueba que la catequina alcanza valores en período de contacto con madera de 47,28 a 53,70 mg/L y de 43,10 a 59,48 mg/L durante su período de botella, frente a los 20,34 a 24,76 mg/L en madera y los 15,20 a 20,46 mg/L en botella del monómero epicatequina para este vino de la variedad Tinta de Toro. Durante el envejecimiento, la concentración de ambos compuestos normalmente decrece, siendo más acusada en los primeros meses de envejecimiento. Sin embargo, se ha observado que ambos monómeros sufren un aumento de concentración tras 6 meses de contacto con madera. Concretamente se ha encontrado que el contenido en epicatequina al final del proceso de envejecimiento en madera es superior al encontrado inicialmente en el vino, excepto para los vinos envejecidos en barricas (gráfica 128). Estos resultados corroboran lo descrito por Hermosín, I. et al. (2004) quienes ya indicaran que la diversidad en la evolución de la concentración de monómeros flavan-3-oles puede ser atribuible a diferentes causas: por un lado, la concentración de monómeros flavan-3-oles tiende a una disminución porque están involucrados en reacciones de oxidación, así como en reacciones de polimerización tanino-tanino y antociano-tanino (o tanino-antociano). Por otro lado, se podría esperar un incremento en la concentración de monómeros flavan-3-oles ya que pueden ser liberados de sus precursores galotaninos (Singleton, V. L. et al., 1983).

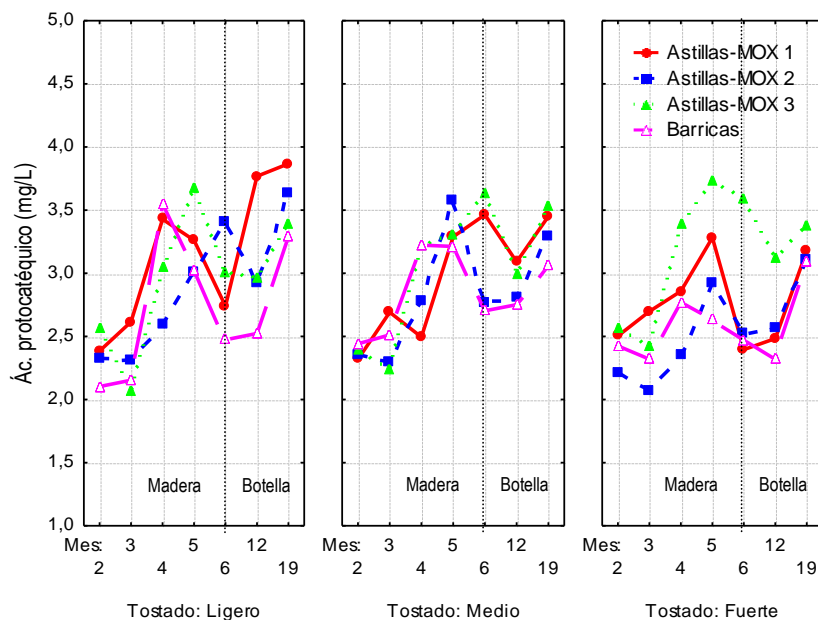


**Gráfica 128:** Evolución de la epicatequina (mg/L) del vino durante la crianza en madera y botella de un vino en diversos sistemas de envejecimiento

Durante el envejecimiento, la hidrólisis de los ácidos caftarico y coutárico continuó, generando ácidos caféico y p-cumárico, respectivamente, como se puede observar cuando se compara el período de madera con el período de botella (tablas 46 y 47). Este proceso de hidrólisis ya ha sido descrito como un proceso lento que se produce durante el envejecimiento (Karagiannis, S. et al., 2000; Somers, T. C. et al., 1987). Sin embargo, Hermosín, I. et al. (2004) han encontrado que la hidrólisis de los ácidos hidroxycinamiltartáricos se completa después de 3 meses de envejecimiento, encontrando sólo una

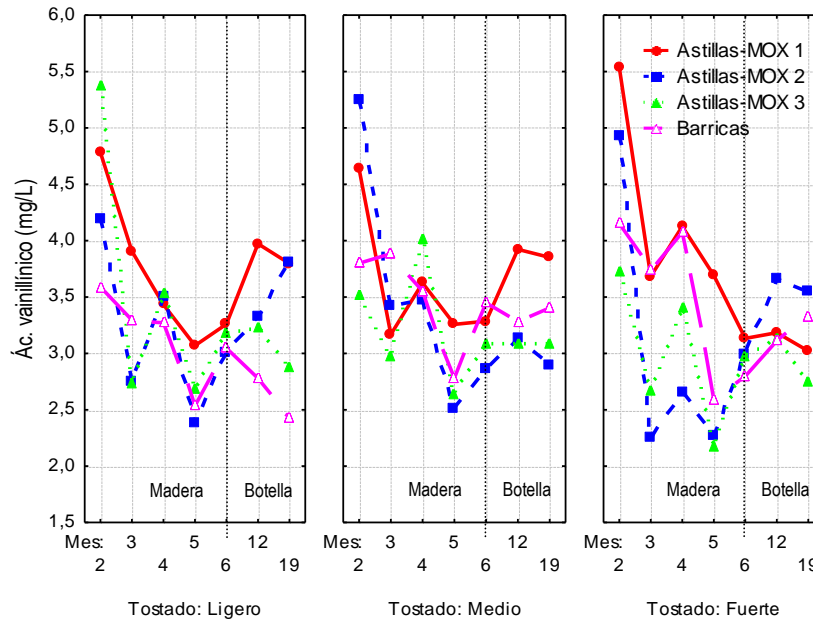
pequeña cantidad de ácido transcaftárico después de 9 meses de envejecimiento en vinos de la variedad Cabernet Sauvignon. La posible pérdida tan acelerada de estos compuestos seguida por este grupo de investigación la atribuyen a una elevada temperatura de envejecimiento (16-18 °C) que aceleraría el proceso de hidrólisis. Como consecuencia de esta hidrólisis, sólo encontraron ácido caféico en los vinos envejecidos, aunque para los vinos Syrah, solamente parecía sufrir una pérdida significativa el ácido p-cumárico en los vinos. Por tanto estos compuestos se ven influenciados por la variedad de uva de la que se obtienen los vinos, siendo decisiva en el aumento o pérdida de estos compuestos y de los procesos hidrolíticos que se den en los mismos.

Como ya se apreciara en el capítulo 2, el oxígeno participa en el proceso de formación del **ácido protocatéquico** que deriva en un aumento de concentración durante la fase de envejecimiento de los vinos en madera (barricas y astillas-MOX), con la consiguiente pérdida de concentración en los vinos en su período de permanencia en botella. Este aumento en la concentración del ácido protocatéquico en los vinos es debido a su formación a partir del aldehído protocatéquico, por los procesos de oxidación. El aumento del contenido de ácido protocatéquico también se atribuye a la extracción de este compuesto de la madera durante el proceso de envejecimiento, debido a su formación a partir de las reacciones de degradación de la lignina y los elagitaninos (Cadaña, E. et al., 2008). Este proceso de formación por degradación de los compuestos de la madera, explicaría la mayor extracción en los vinos envejecidos en madera a la que se le ha aplicado un tostado ligero, seguido de los vinos con madera de tostado medio y finalmente tostado fuerte. Siendo significativo el tostado de la madera en el contenido de este compuesto a lo largo del período de envejecimiento en botella (gráfica 129). También durante el período de botella, es significativamente menor la concentración de ácido protocatéquico en los vinos que inicialmente permanecieron en barricas.



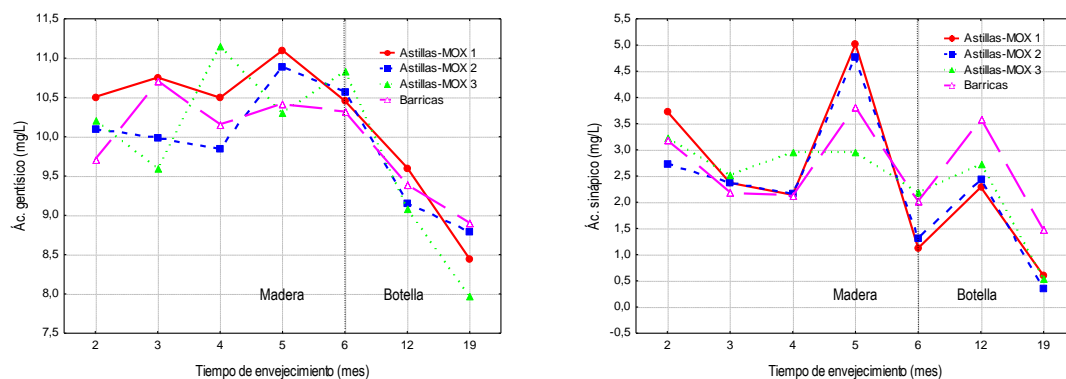
**Gráfica 129:** Evolución del ácido protocatéquico (mg/L) del vino durante la crianza en madera y botella de un vino de diferentes tostados y sistemas de envejecimiento

Durante el proceso de envejecimiento en madera, se ha observado un descenso en el contenido del **ácido vanilínico** por procesos de oxidación, sin embargo en un ambiente reductor, como es la botella recupera ligeramente su concentración. Los resultados sugieren que la aportación por la madera de ácido vanilínico alcanza valores más altos en vinos en contacto con maderas sin tostar o con un tostado ligero. Además también se observa en la tabla 47 que las astillas aportadas en concentraciones de 4 g/L (astillas-MOX 1) contribuyen a una mayor concentración de ácido vanilínico en el vino final.



**Gráfica 130:** Evolución del ácido vanilínico (mg/L) del vino durante la crianza en madera y botella de un vino de diferentes tostados y sistemas de envejecimiento

Sin embargo, el **ácido gentísico** parece presentar una evolución contraria a la descrita para el ácido vanilínico. De tal manera que, durante la fase de aportación de oxígeno y madera, su concentración aumenta en los vinos y por el contrario, disminuye dicha concentración durante la fase de envejecimiento en ausencia de oxígeno (botella). Además, parece que el tostado de la madera no presenta una influencia significativa sobre el ácido gentísico en los vinos. No así el sistema, donde la pérdida de este compuesto en botella es más acelerada en los vinos que permanecieron inicialmente en 4 g/L de madera adicionada en dos tiempos (al inicio del envejecimiento y a los 45 días: Astillas-MOX 3). En el capítulo 1 ya se ha indicado que la pérdida de ácido gentísico se producía durante el proceso de envejecimiento, aunque entonces se ha observado mayor concentración en los vinos envejecidos en barricas, debido a la presencia de oxígeno en este recipiente. En el capítulo 2 se apreció mayor concentración en los vinos en contacto con astillas+MOX, pero el resultado no fue significativamente diferenciador.



**Gráfica 131** : Evolución del ácido gentísico (mg/L) (a) y el ácido sináptico (mg/L) (b) del vino durante la crianza en madera y botella de un vino en diversos sistemas de envejecimiento

Observando la evolución de los **ácidos hidroxicinámicos** analizados en el vino, se comprueba que sólo el **ácido sináptico** parece tener una influencia significativa sobre el sistema de envejecimiento en el que permaneció el vino durante su período de envejecimiento en botella, donde la barrica mantiene los valores más elevados en el vino. La pérdida de concentración de este compuesto observada en los vinos en contacto con astillas-MOX, se explicaría por su participación en la copigmentación de los antocianos, disminuyendo así su concentración. Esto podría indicar que en astillas microoxigenadas el vino sufre en mayor medida, el proceso de copigmentación antociano-cofactor, como ya se ha descrito anteriormente con otros cofactores, como el ácido gálico.

Si se observan las tablas 46 y 47 se comprueba que el resto de los ácidos hidroxicinámicos (ácido p-cumárico, ácido caféico y ácido ferúlico) aumentan de concentración durante el proceso de envejecimiento para todos los sistemas y tostados analizados, no existiendo diferencias significativas entre los mismos. Autores como De Simón, F. et al., (2014) ya indicaron que los vinos envejecidos en madera hacen aumentar los ácidos hidroxicinámicos.

### V.3.7. Antocianos monómeros y acilados en el vino.

Como era de esperar, se ha observado una disminución progresiva de los antocianos individuales a lo largo del tiempo de permanencia de los vinos en los distintos sistemas de envejecimiento (tabla 48). La pérdida total de antocianos viene definida por el descenso del **malvidín-3 glucósido** (Mv-3-Gl), antociano que se encuentra en mayor proporción en los vinos de variedad Tinta de Toro con un valor medio tras los 12 meses de envejecimiento entre 89,15 mg/L en astillas-MOX 3 a 95,46 mg/L en astillas-MOX 1, seguido de los antocianos delfinidín-3-glucósido (Df-3-Gl), petunidín-3-glucósido (Pt-3-Gl) y peonidín-3-glucósido (Pn-3-Gl). Siendo el cianidín-3-glucósido (Cn-3-Gl) el antociano monómero minoritario con valores de entre 3,00 mg/L en astillas-MOX 3 a 3,24 mg/L en vinos envejecidos en barricas. Esta diferencia en la concentración entre los antocianos monómeros también ha sido observado en el vino de la variedad Tempranillo, tras ser envejecido con astillas y tablones sin microoxigenación (Del Álamo, A. et al., 2004b). Así, Monagas, M. et al. (2003) observaron que vinos de variedad Merlot y Graciano presentaban mayor

concentración de peonidin-3-glucósido y una menor proporción de malvidin-3-glucósido que los vinos Cabernet Sauvignon y Tempranillo.

**Tabla 48:** Valores medios de antocianos monómeros y acilados de los vinos envejecidos durante 6 meses en maderas de distinto tostados (ligero, medio y fuerte) y sistemas (astillas-MOX 1, astillas-MOX 2, astillas-MOX 3 y barricas) y 6 meses de botella (2-12 meses). Resultados de la ANOVA

	Tostado				Sistema				
	Ligero	Medio	Fuerte	p level	Astillas-MOX 1	Astillas-MOX 2	Astillas-MOX 3	Barrica	p level
Df-3-Gl <sup>2</sup>	60,68a	61,34a	59,82a	0,766	61,90a	60,40a	57,78a	62,37a	0,226
Cn-3-Gl <sup>2</sup>	3,11a	3,08a	3,13a	0,901	3,07a	3,12a	3,00a	3,24a	0,307
Pt-3-Gl <sup>2</sup>	47,07a	48,01a	46,88a	0,781	48,94a	46,59a	46,26a	47,49a	0,537
Pn-3-Gl <sup>2</sup>	10,05a	10,15a	10,00a	0,932	10,24a	9,96a	9,82a	10,26a	0,747
Mv-3-Gl <sup>2</sup>	92,37a	93,46a	91,18a	0,755	95,46a	91,42a	89,15a	93,32a	0,322
Vit A <sup>2</sup>	2,94a	3,06a	3,02a	0,507	3,03a	3,04a	2,82a	3,13a	0,101
Df-3-Gl-Ac <sup>2</sup>	1,79a	1,85a	1,74a	0,492	1,97b	1,73ab	1,65a	1,82ab	<b>0,026</b>
Cn-3-Gl-Ac <sup>2</sup>	0,60a	0,59a	0,58a	0,866	0,63b	0,59ab	0,52a	0,62b	<b>0,026</b>
Pt-3-Gl-Ac <sup>2</sup>	2,39a	2,40a	2,47a	0,842	2,26a	2,26a	2,51a	2,64a	0,053
Pn-3-Gl-Ac <sup>2</sup>	1,58a	1,52a	1,52a	0,330	1,59a	1,59a	1,46a	1,52a	0,074
Df-3-Gl-Cm <sup>2</sup>	4,28a	4,38a	4,38a	0,899	4,53a	4,43a	4,45a	3,97a	0,194
Mv-3-Gl-Ac <sup>2</sup>	4,59a	4,55a	4,37a	0,389	4,75b	4,40ab	4,20a	4,66ab	<b>0,022</b>
Mv-3-Gl-Cf <sup>2</sup>	0,26a	0,25a	0,24a	0,740	0,27a	0,25a	0,24a	0,25a	0,644
Cn-3-Gl-Cm <sup>2</sup>	0,44a	0,44a	0,42a	0,588	0,44bc	0,42ab	0,39a	0,48c	<b>0,000</b>
Pt-3-Gl-Cm <sup>2</sup>	1,10a	1,05a	1,10a	0,643	1,15a	1,04a	1,07a	1,07a	0,519
Pn-3-Gl-Cm <sup>2</sup>	2,62a	2,65a	2,60a	0,908	2,63a	2,63a	2,61a	2,63a	0,997
Mv cond <sup>2</sup>	0,40a	0,39a	0,38a	0,247	0,40a	0,38a	0,37a	0,41a	0,168
Mv-3-Gl-Cm <sup>2</sup>	12,87a	12,82a	11,93a	0,096	13,49b	12,73ab	11,55a	12,39ab	<b>0,008</b>
Ant-3-Gl-Ac <sup>2</sup>	11,12a	10,99a	10,83a	0,692	11,33a	10,74a	10,42a	11,42a	0,050
Ant-3-Gl-Cm <sup>2</sup>	21,36a	21,44a	20,74a	0,577	22,30a	21,26a	20,40a	20,75a	0,129
Suma antocianos <sup>2</sup>	248,44a	252,29a	246,69a	0,783	257,26a	245,62a	241,03a	252,65a	0,327

Para cada factor, letras distintas en filas indican diferencias estadísticamente significativas. En negrita se muestra el p level con significación > 95 % (p<0,05) <sup>1</sup> expresado en g/L, <sup>2</sup> expresado en mg/L, <sup>3</sup> expresado en % (v/v)

Se ha encontrado que los **antocianos monómeros** no son estadísticamente diferentes en los vinos de barricas frente a los tratados con astillas+MOX, tampoco el grado de tostado de la madera parece ser un factor capaz de diferenciar a los vinos estudiados, aunque los contenidos promedios indican que los vinos envejecidos en barricas presentan valores un poco más altos de antocianos monómeros, excepto el malvidín-3-glucósido (MV-3-Gl) (tabla 48). Este progresivo descenso a lo largo del envejecimiento (tanto en el período de contacto del vino con la madera y posterior botella), es debido a las numerosas reacciones químicas que hacen disminuir su concentración y a la formación tanto de copigmentos, como de pigmentos poliméricos y oligoméricos más estables (Monagas, M. et al., 2006a).

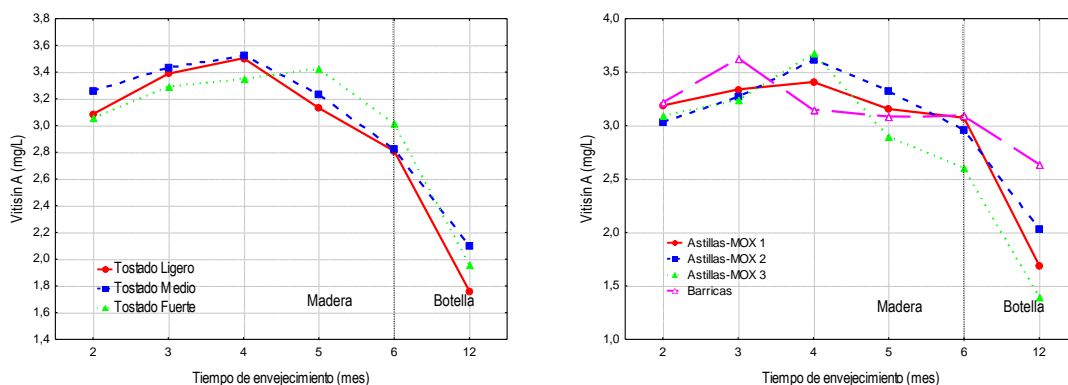
Además de los procesos descritos anteriormente también es posible una autoasociación de antocianos. Se trata de un caso particular de copigmentación ya que los antocianos, tanto en forma flavilium como en

forma quinoidal coloreada, pueden formar apilamientos verticales con hélice de giro a izquierdas que se mantienen juntas mediante efectos hidrostáticos e hidrofóbicos (Hoshino, T. et al., 1981).

Otro de los fenómenos entre los antocianos y la presencia de ácido pirúvico en el vino es la formación de piranoantocianos. La aparición de fenoles volátiles en el proceso de tostado de la madera como 4-vinilfenol y 4-vinilguayacol podrían formar aductos con los antocianos en sus posiciones C4 y C5 y luego someterse a un proceso de oxidación. Tal unión de compuestos podrían modificar el color de los antocianos hacia tonalidades naranja y proteger así estos antocianos de la hidratación con la consiguiente estabilización del pigmento antociánico (Schwarz, M. et al., 2003a). A diferencias de los antocianos libres o copigmentados se caracterizan por no ser decolorables por el bisulfito y son estables ante variaciones de pH, ya que también tienen bloqueada la posición C-4 del anillo de pirano-flavonoideo. Además se diferencian de los pigmentos poliméricos porque son moléculas de un tamaño fijo y similar a la de los antocianos monómeros de los que derivan y como se mantienen disueltos en el vino, tienen poca tendencia a perderse en los precipitados de materia colorante que se forman en los vinos tintos envejecidos. (Hermosín, I., 2007). Por otro lado, su importancia en el color de los vinos se debe a que los piranoantocianos poseen un cromóforo distinto al de los antocianos monómeros, son de color rojo-anaranjado (máximos de absorción sobre 498 - 512 nm en medio acuoso a  $\text{pH} < 2$ ), la misma tonalidad de color que suelen mostrar los vinos tintos envejecidos.

El piranoantociano **vitisin A** analizado, se forma por cicloadición de una molécula de ácido pirúvico sobre una molécula de malvidín-3-glucósido, siendo uno de los primeros pigmentos de tipo oligomérico identificado en vino (Bakker, J., 1985, Bakker, J. et al., 1997a, Wittkowski, R., et al. 2002, Jones, G. et al. 2003, Del Álamo, M. et al., 2004b). Se caracteriza por formarse más rápidamente que otros piranoantocianos y presenta una muy baja tasa de degradación (Bakker, J. et al., 1998, Mateus, N., et al., 2001), y una alta estabilidad (Romero, C., y col. 2000a), permaneciendo presente en vinos de hasta 15 años (Schwarz, M. et al., 2003a). Esto se explica en parte por la alta estabilidad de la molécula frente al ataque nucleofílico y por el hecho de que es uno de los pocos pigmentos que puede generarse constantemente a lo largo de toda la vida del vino, siempre que existan en el medio antocianos monoméricos y ácido pirúvico disponibles (Morata, A. et al., 2007). Su concentración en los vinos con madera de tostado ligero (gráfica 132a) ha sido ligeramente inferior que al emplear madera con tostado medio y fuerte, como ya observara Gallego, L. (2013). En este trabajo se ha encontrado en el vino tinto guardado en barricas los niveles más elevados, que en los vinos tratados con astillas-MOX, para todo el tiempo estudiado aunque no de manera significativa (tabla 48). La cantidad de oxígeno molecular libre activo es el factor más limitante en la síntesis de vitisin A (Jones, G. et al., 2003). Así, Peña, A. et al. (2004) demostró que vinos microoxigenados a dosis de 12,5 ml/L.mes no mostraban diferencias con el vino testigo, pero cuando la dosis aportada era de 25 ml/L.mes, la concentración de vitisin A era significativamente superior en el vino. Este resultado coincide con lo obtenido en trabajos anteriores del grupo UVaMOX (Del Álamo, M., et al., 2006b) donde la concentración de vitisin A alcanzaba los mayores valores en vinos de barricas que en los tratados en depósitos con astillas y tablonos sin MOX. También se demuestra que en los primeros meses de envejecimiento es cuando se produce un rápido aumento en la concentración de vitisin A (Nevares, I. et al., 2008). Estos resultados indican que la dosificación de oxígeno en los vinos tratados con astillas debe gestionarse y modificarse en función de las características

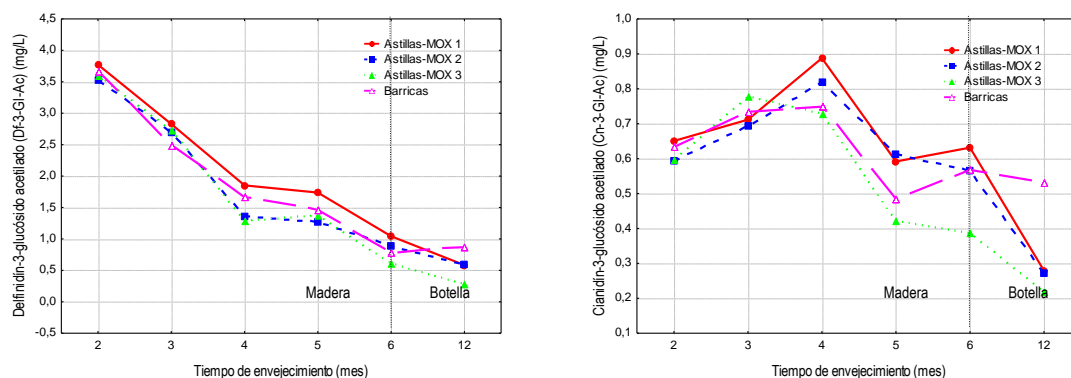
del vino y de su evolución en contacto con la madera (Del Álamo, M. et al., 2010), aspecto que se ha tenido en cuenta en este experimento con el vino tinto variedad Tinta de Toro y que explicaría la ausencia de diferencias significativas para el compuesto piranoantociano, vitisin A en los vinos.



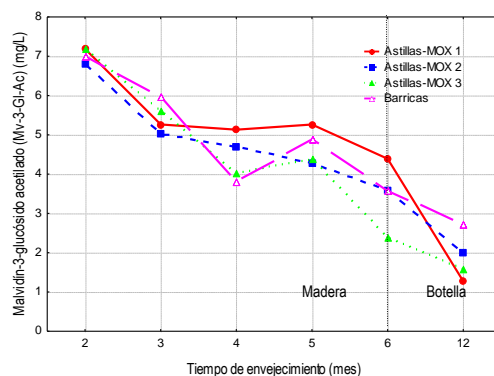
**Gráfica 132:** Evolución del vitisin A (mg/L) del vino durante la crianza en madera y botella de un vino de diferentes tostados (a) y distintos sistemas (b) de envejecimiento

Respecto a los **antocianos acetilados y cumarilados** analizados, se ha observado un descenso en su concentración en todos los vinos a lo largo de los 12 meses de envejecimiento (gráficas 133 a y b y 134). Este descenso es significativamente mayor en los vinos tratados con astillas aplicadas en dos tiempos (astillas-MOX 3). Se observa que los vinos más similares son los envejecidos en barrica y los vinos que han permanecido con las dosis más bajas de madera (astillas-MOX 2), alcanzándose los valores más elevados en los vinos envejecidos con astillas+MOX en las dosis más elevadas (astillas-MOX 1, tabla 48).

Estas pérdidas de los antocianos acetilados y cumarilados en los vinos se pueden explicar por fenómenos de hidrólisis y también por otras reacciones (condensación o reacciones de oxidación) que implican a los glucósidos del flavanol o sus agliconas correspondientes después de dicha hidrólisis, también causada por su combinación con taninos (Del Álamo, M. et al., 2004b). La principal reacción que implica a los antocianos monoméricos es la formación de pigmentos rojos poliméricos por condensación con flavan-3-ols, la reacción es mediada y acelerada por el acetaldehído, como ya se ha comentado en diversas ocasiones. Este mecanismo, fue descrito por Timberlake, C. et al. (1976) y finalmente demostrado por Fulcrand, H, et al. (1996a), proceso que se inicia con la condensación entre el acetaldehído y un flavanol que conduce a un carbocatión intermedio, que a su vez reacciona con otra molécula de flavanol o con la forma hidratada de un antociano.



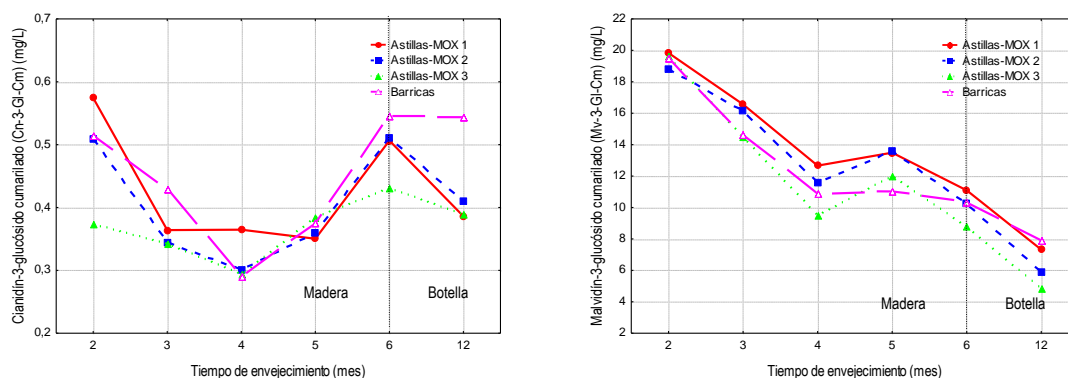
**Gráfica 133:** Evolución del delfinidín-3-glucósido acetilado (Df-3-Gl-Ac) (mg/L) (a) y el cianidín-3-glucósido acetilado (Cn-3-Gl-Ac) (mg/L) (b) del vino durante la crianza en madera y botella de un vino en diversos sistemas de envejecimiento



**Gráfica 134:** Evolución de malvinidín-3-glucósido acetilado (Mv-3-Gl-Ac) (mg/L) del vino durante la crianza en madera y botella de un vino en diversos sistemas de envejecimiento

En la gráfica 135a se puede observar que el contenido en **cianidín-3-glucósido cumarilado** (Cn-3-Gl-Cm) en los vinos envejecidos en barricas es ligeramente superior al encontrado en los vinos tratados con astillas-MOX. Este resultado explicaría el aumento del color de los vinos envejecidos en barricas donde los antocianos cumarilados (antocianos monoglucosilados + ácido p-cumárico) son en parte, los responsables de este aumento por su efecto hiperocrómico. Así, Zhang, B. et al. (2015a) realizaron una comparación de efecto de la copigmentación en el vino del cianidín-3-glucósido con su unión al ácido p-cumárico describiendo que su efecto hiperocrómico oscilaba entre valores del 11,6 al 27,7 % y su efecto batocrómico producía un  $\Delta\lambda$  max. entre 2,2 y 2,5 nm en función ambos del pH del vino. Además, el efecto de la copigmentación alcanza valores más elevados cuando el cianidín-3-glucósido se combinaba con el ácido caféico, ferúlico o sináptico.





**Gráfica 135:** Evolución del cianidín-3-glucósido cumarilado (Cn-3-Gl-Cm) (mg/L) (a) y el malvidín-3-glucósido cumarilado (Mv-3-Gl-Cm) (mg/L) (b) del vino durante la crianza en madera y botella de un vino en diversos sistemas de envejecimiento

### V.3.8. Análisis sensorial de los vinos

#### V.3.8.1. Estudio del efecto del envejecimiento del vino en distintos sistemas y tostados de madera

Durante el envejecimiento, las cantidades de oxígeno que se aportan al vino, tanto por la propia madera de roble como por la aportación extraordinaria del mismo, mejoran la calidad de los vinos tintos, especialmente en términos de color, aroma y sabor (Pissarra, J. et al 2005; Saucier, C. et al. 2006; Pérez, S. et al. 2007; Heras, M.O. et al. 2008; Sousa, A. et al. 2010). De este modo, durante el envejecimiento en madera de roble, los vinos adquieren un mejor color, aromas más delicados y más redondez, mejora su armonía en el perfil de sabor y disminuye la intensidad de verdor y su personalidad varietal. Estas percepciones descritas anteriormente generalmente se atribuyen a los vinos envejecidos en barricas de roble francés, por lo que el motivo de este análisis sensorial es comprobar si se pueden aplicar tales descripciones positivas a los vinos envejecidos con astillas de roble francés con diversos tostados y aportaciones de oxígeno, siendo comparados con el mismo vino de partida envejecido en barricas.

Se realizaron 5 sesiones de cata durante el período en el que el vino ha permanecido en contacto con madera (2, 3, 4, 5 y 6 meses de envejecimiento en contacto con astillas-MOX y barricas) y una última sesión tras 6 meses de estancia en botella (12 meses de envejecimiento). Como ya se indicara en el capítulo de materiales y métodos, los catadores valoraron cada descriptor puntuando a los vinos de 0 a 5, permitiendo valores medios de 0,5 en el resultado.

Con el fin de analizar los datos obtenidos, se procedió de manera semejante al resto de evaluaciones realizando un ANOVA con los parámetros de análisis sensorial (tabla 49). Los resultados han demostrado que, a pesar de las diversas interacciones que tienen lugar entre los compuestos fenólicos en los vinos, los catadores aunque han valorado alguna diferencia entre los vinos, éstas no han sido estadísticamente significativas en los **parámetros de color** de los diferentes vinos estudiados. Tampoco se apreciaron diferencias en la fase visual en la valoración de los vinos con 12 meses de envejecimiento (6 meses

madera y 6 meses en botella), tras haber sido tratados con madera de diferente tostado o haber envejecido en contacto con astillas+MOX y barricas.

Respecto a la **fase olfativa** de la cata, los catadores sí encontraron diferencias estadísticamente significativas tanto entre los vinos envejecidos con madera de diversos tostados (ligero, medio y fuerte) como entre los envejecidos en astillas-MOX o con barricas. El tostado ha influido significativamente en la evaluación en los vinos de parámetros considerados positivos, ya que los catadores han indicado que los vinos envejecidos con maderas de mayor intensidad de tostado (tostado fuerte) han obtenido las puntuaciones más elevadas en intensidad aromática, afrutados, balsámico, cuero, clavo, canela, vainilla, coco, frutos secos, yodo, caramelo, ahumado, quemado y torrefacto. Los descriptores con características menos positivas, a excepción del descriptor fruta roja, se otorgaron a los vinos tratados con madera de tostado ligero alcanzando los valores más elevados en descriptores como vegetal y reducción. El parámetro con valoración más alta en los vinos, ha sido para el ácido acético de los tratados con tostado medio. Además, la evaluación de parámetros como la relación gustativa vino-madera, maderizado y tostado ha indicado que los catadores han distinguido a los vinos según el grado de tostado de la madera, puntuando estos atributos con niveles más bajos en los vinos tratados con tostado ligero, seguidos de tostado medio y valores más elevados para los vinos que han sido envejecidos con madera de tostado fuerte. El sistema de envejecimiento de los vinos afecta de forma significativa a los atributos evaluados en la fase olfativa, especialmente sobre descriptores como vinos más afrutados, balsámicos, alcohol, etanal, ácido acético, regaliz, relación aromática vino-madera, tostado y caramelo (tabla 49).

**Tabla 49:** Valores medios del análisis sensorial de los vinos envejecidos durante 6 meses en maderas de distinto tostados (ligero, medio y fuerte) y sistemas (astillas-MOX 1, astillas-MOX 2, astillas-MOX 3 y barricas) y 6 meses de botella (2-12 meses). Resultados de la ANOVA

	Tostado				Sistema				
	Ligero	Medio	Fuerte	p level	Astillas-MOX 1	Astillas-MOX 2	Astillas-MOX 3	Barrica	p level
Intensidad color	3,32a	3,30a	3,29a	0,945	3,30a	3,28a	3,31a	3,32a	0,989
Limpidez	2,74a	2,72a	2,69a	0,878	2,72a	2,69a	2,74a	2,72a	0,969
Rojos	2,92a	2,96a	2,99a	0,130	2,93a	2,97a	2,94a	3,00a	0,335
Violáceos	2,46a	2,36a	2,36a	0,848	2,49a	2,43a	2,29a	2,37a	0,815
Tejas	0,23a	0,21a	0,19a	0,535	0,22a	0,20a	0,20a	0,21a	0,936
Intensidad aromática	2,59a	2,50a	2,83b	<b>0,001</b>	2,62a	2,61a	2,61a	2,71a	0,689
Afrutados	1,86b	1,72ab	1,62a	<b>0,005</b>	1,85b	1,76ab	1,72ab	1,59a	<b>0,022</b>
Fruta roja	1,74b	1,44a	1,50a	<b>0,001</b>	1,62a	1,59a	1,53a	1,51a	0,623
Fruta sobremadura	0,82a	0,86a	0,90a	0,628	0,95a	0,78a	0,83a	0,88a	0,383
Vegetal	1,05b	1,02b	0,81a	<b>0,030</b>	0,93a	1,01a	0,98a	0,92a	0,866
Balsámico	0,87a	0,97a	1,12b	<b>0,002</b>	1,15b	0,97ab	0,86a	0,97ab	<b>0,005</b>
Alcohol	1,48a	1,42a	1,45a	0,440	1,37a	1,58b	1,54b	1,31a	<b>0,000</b>
Etanal	0,07a	0,12a	0,08a	0,108	0,10ab	0,04a	0,08ab	0,14b	<b>0,039</b>
Lácticos	1,02a	1,01a	1,03a	0,980	1,04a	1,10a	1,01a	0,92a	0,396
Reducción	0,48b	0,42b	0,24a	<b>0,000</b>	0,34a	0,42a	0,41a	0,35a	0,388
Acetato de etilo	0,02a	0,02a	0,01a	0,523	0,02a	0,01a	0,02a	0,00a	0,338
Ácido acético	0,01a	0,02b	0,01a	<b>0,010</b>	0,00ab	0,02b	0,02b	0,00a	<b>0,008</b>
Cuero	0,28a	0,38a	0,55b	<b>0,000</b>	0,41a	0,38a	0,37a	0,45a	0,533
Clavo	0,21a	0,33b	0,44b	<b>0,001</b>	0,32a	0,34a	0,31a	0,34a	0,975
Sudor	0,08ab	0,12b	0,05a	<b>0,021</b>	0,06a	0,07a	0,12a	0,08a	0,111

Capítulo 3

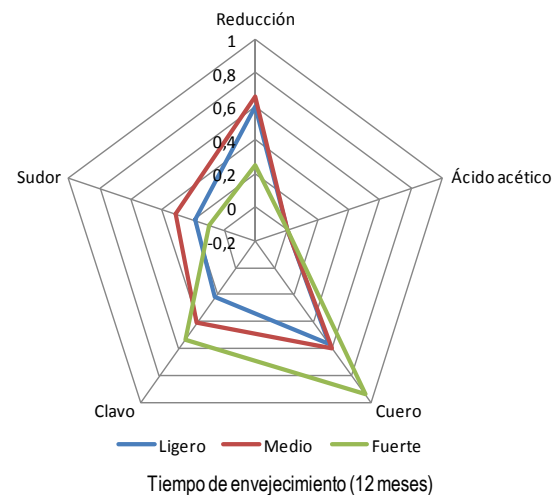
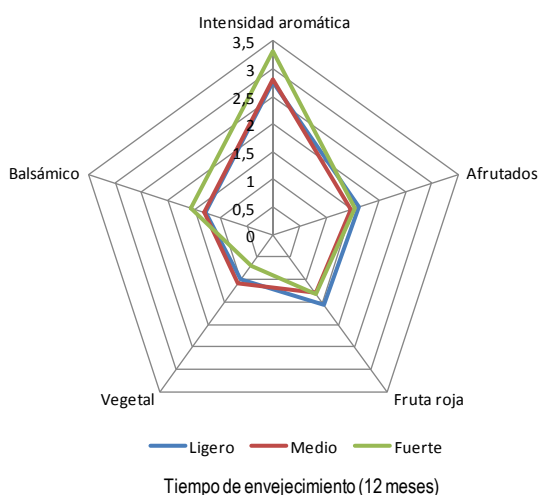
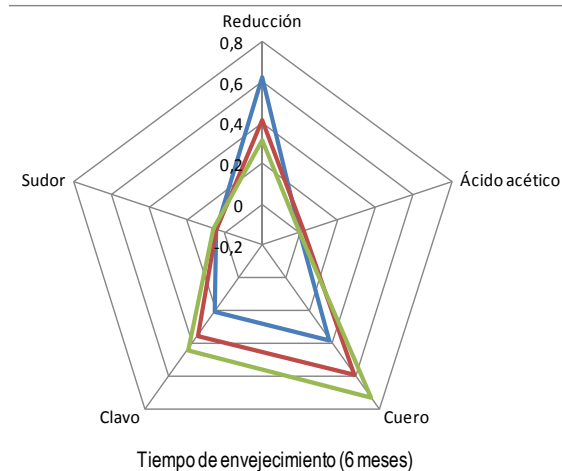
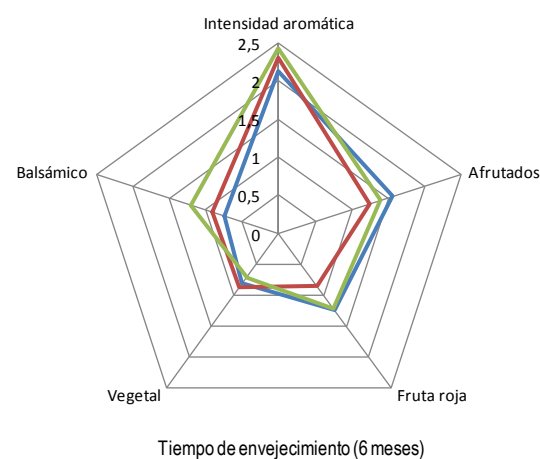
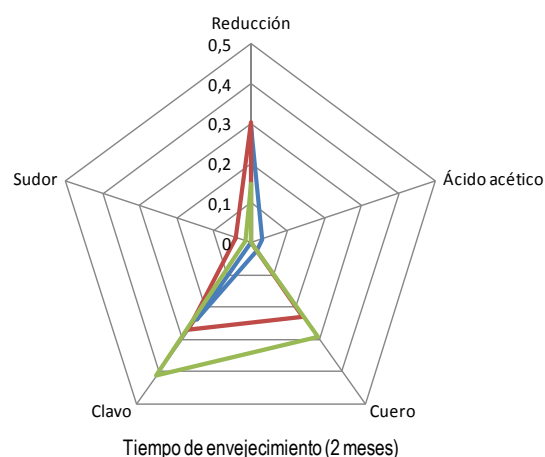
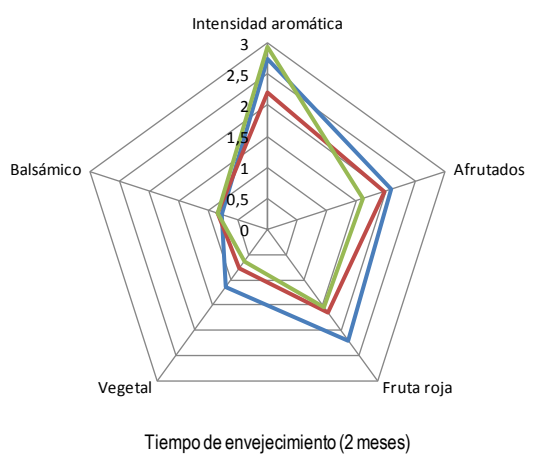
Regaliz	0,96a	1,01a	1,08a	0,267	1,18b	1,00ab	0,88a	0,98ab	<b>0,009</b>
Canela	0,64a	0,76ab	0,89b	<b>0,048</b>	0,64a	0,74a	0,76a	0,90a	0,154
Pimienta	0,78a	0,89a	0,91a	0,057	0,80a	0,87a	0,94a	0,83a	0,176
Vainilla	0,87a	1,07b	1,16b	<b>0,003</b>	1,02a	1,02a	0,96a	1,13a	0,340
Coco	0,13a	0,14a	0,31b	<b>0,000</b>	0,24a	0,22a	0,14a	0,17a	0,123
Frutos secos	0,22a	0,27a	0,42b	<b>0,000</b>	0,31a	0,35a	0,27a	0,29a	0,521
Yodo	0,05a	0,09b	0,08b	<b>0,003</b>	0,08a	0,06a	0,08a	0,06a	0,276
Asfalto	0,13a	0,15a	0,12a	0,293	0,12a	0,14a	0,13a	0,16a	0,268
Vino-madera FO	1,78a	2,03b	2,36c	<b>0,000</b>	2,05b	2,16b	1,92a	2,10b	<b>0,001</b>
Maderizado	1,45a	1,68b	1,95c	<b>0,000</b>	1,65a	1,70a	1,67a	1,75a	0,446
Tostado	1,19a	1,49b	1,83c	<b>0,000</b>	1,56b	1,53b	1,34a	1,58b	<b>0,014</b>
Pan	0,63a	0,71a	0,55a	0,129	0,69a	0,56a	0,57a	0,70a	0,275
Madera	0,99a	0,88a	1,09a	0,065	0,91a	1,15a	0,91a	0,98a	0,069
Café con leche	0,53a	0,69a	0,65a	0,104	0,54a	0,64a	0,61a	0,71a	0,290
Caramelo	0,41a	0,66b	0,54ab	<b>0,002</b>	0,50ab	0,54ab	0,45a	0,66b	<b>0,039</b>
Ahumado	0,24a	0,35a	0,81b	<b>0,000</b>	0,49a	0,34a	0,49a	0,54a	0,069
Quemado	0,12a	0,17a	0,57b	<b>0,000</b>	0,25a	0,26a	0,31a	0,32a	0,836
Torrefacto	0,16a	0,28a	0,66b	<b>0,000</b>	0,31a	0,39a	0,38a	0,38a	0,739
Grasa	2,05a	2,08a	2,22a	0,066	2,12a	2,10a	2,04a	2,21a	0,230
Causticidad	2,01a	1,97a	1,86a	0,134	1,97a	1,99a	1,93a	1,88a	0,611
Acidez	2,16a	2,07a	2,06a	0,051	2,13a	2,08a	2,12a	2,06a	0,427
Vino-madera FG	1,95a	2,23b	2,46c	<b>0,000</b>	2,13a	2,28b	2,12a	2,33b	<b>0,000</b>
Intensidad tánica	2,66a	2,64a	2,64a	0,960	2,67ab	2,76b	2,49a	2,67ab	<b>0,014</b>
Dulces	0,93a	1,00a	1,15b	<b>0,000</b>	0,88a	0,92a	1,01a	1,29b	<b>0,000</b>
Secos	1,42a	1,45a	1,59a	0,150	1,62b	1,60b	1,36a	1,36a	<b>0,012</b>
Redondos	0,63a	0,62a	0,79b	<b>0,014</b>	0,65a	0,60a	0,69a	0,76a	0,160
Vegetales	1,67a	1,51a	1,44a	0,264	1,60a	1,60a	1,54a	1,41a	0,634
Armonía	2,17a	2,23a	2,34a	0,255	2,19a	2,22a	2,20a	2,38a	0,294
Plano	1,49a	1,48a	1,49a	0,983	1,53a	1,48a	1,49a	1,46a	0,783
Persistencia	2,33a	2,41ab	2,58b	<b>0,027</b>	2,39a	2,48a	2,36a	2,53a	0,397
Postgusto	2,24a	2,40a	2,48a	0,060	2,36a	2,31a	2,32a	2,50a	0,349
Valoración final	2,36a	2,36a	2,54a	0,164	2,41a	2,36a	2,38a	2,53a	0,481

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

En la evaluación de la **fase gustativa** de los vinos, los catadores han identificado a los vinos por el grado de tostado de la madera con la que se han tratado, asignando valores crecientes en función del tostado para descriptores como relación gustativa vino-madera y persistencia. Siendo los valores más bajos para los vinos tratados con maderas de tostado ligero, seguido del tostado medio y los más elevados para los vinos envejecidos con maderas de tostado fuerte. Los catadores encontraron más taninos dulces y redondos en los vinos tratados con madera de tostado fuerte, este resultado podría explicarse porque la intensidad del tostado de la madera mitiga las sensaciones que producen los taninos secos o verdes, propios de maderas sin tostar o de las uvas. De ahí que las sensaciones de los taninos en el tostado fuerte sean más redondeadas. Los resultados también indican diferencias estadísticamente significativas entre la relación gustativa vino-madera, intensidad tánica, taninos dulces y taninos secos de los vinos envejecidos en barricas y los tratados con astillas+MOX (tabla 49).

A continuación las gráficas de radar muestran los niveles valorados en los vinos de los atributos que han mostrado diferencias estadísticamente significativas en tres momentos, 2, 6 y 12 meses de envejecimiento, teniendo en cuenta el tostado de la madera y el sistema de envejecimiento.

En la gráfica 136 (2 meses) se observa la valoración de los vinos en relación a los descriptores de la fase olfativa: intensidad aromática, afrutados, fruta roja, vegetal y balsámico que presentan diferencias significativas entre los vinos envejecidos en maderas de distintos tostados. Se aprecia que a los 2 meses de envejecimiento la intensidad aromática es ligeramente superior en los vinos envejecidos en madera de tostado fuerte, seguida de los tratados con madera de tostado ligero. Siendo los vinos tratados con madera de tostado medio los que menor nivel en aromas han apreciado los catadores. A medida que el tiempo de envejecimiento aumenta (6 meses) la intensidad aromática en los vinos guardados con madera de tostado medio aumenta, equilibrándose con los vinos de tostado ligero a los 12 meses de envejecimiento, siendo en este período donde los vinos presentan las mayores puntuaciones en intensidad aromática, manteniendo los vinos en contacto con madera de tostado fuerte los valores más elevados.



**Gráfica 136:** Análisis sensorial a los 2, 6 y 12 meses de envejecimiento en madera de distintos tostados (fase olfativa 1)

**Gráfica 137:** Análisis sensorial a los 2, 6 y 12 meses de envejecimiento en madera de distintos tostados (fase olfativa 2)

Se ha observado que el grado de tostado de la madera tiene una importante en el nivel de aromas presentes en el vino.

Los descriptores afrutado y fruta roja encontrados en los vinos (gráfica 136, 6 meses), como era de esperar disminuyen con el tiempo de envejecimiento, tanto en madera y en botella. Se observa que el tostado de la madera afecta de forma estadísticamente significativa al nivel de estos descriptores en los

vinos, valorados más altos en todos los momentos del envejecimiento en los vinos tratados con madera de tostado ligero. Los aromas afrutados y las frutas rojas, relacionados con los aromas propios de la variedad, disminuyen tanto con el tiempo de envejecimiento como con la intensidad del tostado de la madera, siendo el tostado fuerte el causante de la pérdida de intensidad de estos aromas varietales. Prida, A. et al. (2010, 2011) observaron que las muestras más afrutadas se caracterizan por una más baja concentración en compuestos típicos de la madera, como son el furfural, 5- hidroximetilfurfural y alcohol furfúrico. Díaz, M. C. et al. (2008) afirmaron que los compuestos que aportan aromas a fruta, fresco, verde y floral son detectados en mayor proporción en madera de roble ruso y húngaro no tostada. Atanasova, B. et al. (2005) e Ishi, A. et al. (2008) encontraron una interesante relación entre los compuestos que aportan notas a madera (guayacol y cis  $\beta$ -metil  $\gamma$ -octolactona) y la percepción frutal, que disminuye al aumentar la concentración de dichos compuestos.

Los catadores valoraron el descriptor vegetal diferenciándolo con mayor intensidad en vinos que han estado en contacto con madera de tostado ligero. Este atributo, que puede reflejar tanto un grado bajo de madurez de la uva como una madera de roble sin tratar por su grado resinoso, disminuye por el efecto del tostado, perdiendo por tanto intensidad con el tiempo envejecimiento. Este resultado demuestra el efecto positivo del envejecimiento en contacto con madera y oxígeno sobre el vino inicial.

El descriptor balsámico en los vinos es propio de la madera de roble aunque parece que un mayor nivel de tostado de la madera aumenta la aportación de estos aromas en los vinos (compuesto relacionado con la presencia de acetaldehído), siendo su apreciación mayor en vinos con madera de roble de tostado fuerte (gráfica 136 (6 y 12 meses)) como ya describiera Gallego, L. (2013) en un vino tinto envejecido con astillas de *Q pyrenaica* (Wild) sometidas a tostado fuerte.

El descriptor reducción en un vino es propio de vinos al abrigo del aire. El aporte de oxígeno y contacto con la madera ayudaría a disminuir la presencia de sustancias reducidas. Se aprecia en la gráfica 137, un aumento de puntuación en el tiempo de envejecimiento para este descriptor, además parece que el tostado más intenso de la madera ayudaría a evitar la reducción de los vinos dado que los vinos en contacto con madera de tostado fuerte siempre son valorados con bajos niveles de este descriptor. Incluso tras 6 meses de envejecimiento en botella (gráfica 137 (12 meses)) su valor es menor que en períodos anteriores de envejecimiento, lo que podría explicar que la complejidad aromática de los vinos envejecidos con madera de tostado fuerte ayudaría a mitigar los aromas a reducción de los vinos, que aunque existan los catadores no apreciarían con tanta intensidad.

El descriptor ácido acético sólo es valorado de forma estadísticamente diferente en los vinos en el primer período de envejecimiento, donde los catadores han dado mayor puntuación al vino que ha permanecido en contacto con madera de tostado ligero, sin embargo con el paso del tiempo los catadores han dejado de apreciar tal diferencia en las muestras analizadas (gráfica 137 (2 meses)).

Los fenoles volátiles 4-etilfenol y 4-etilguayacol se forman en grandes cantidades después de los primeros 90 días de envejecimiento de los vinos en roble (Pérez, L. J. et al., 2003c). En este ensayo el descriptor a cuero, directamente relacionado con el fenol volátil 4-etilfenol, que en elevadas

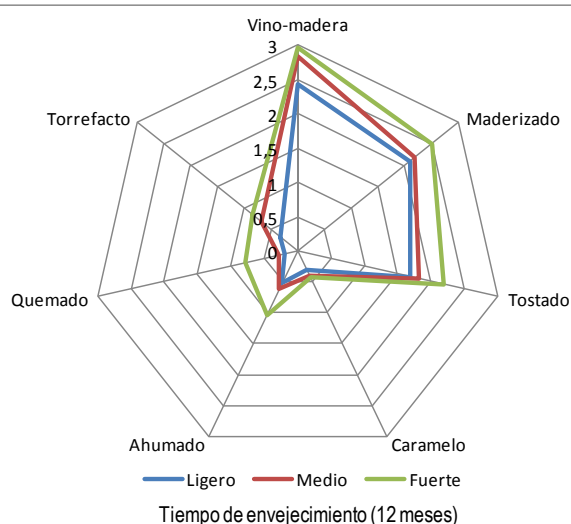
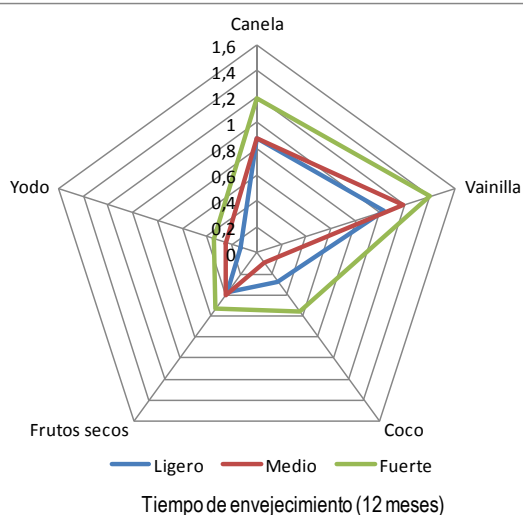
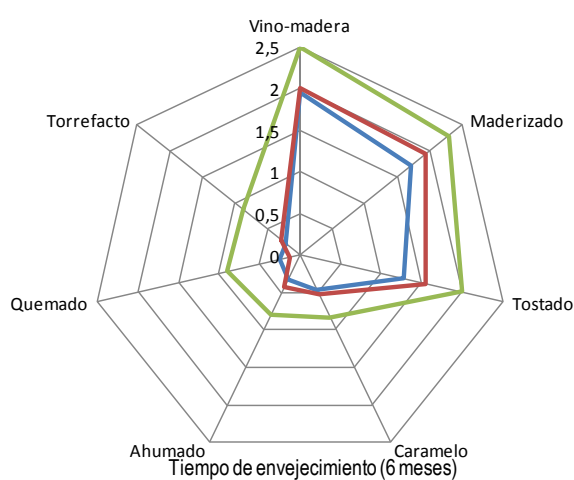
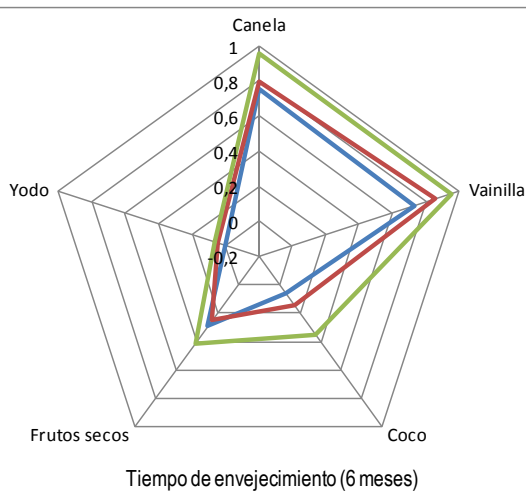
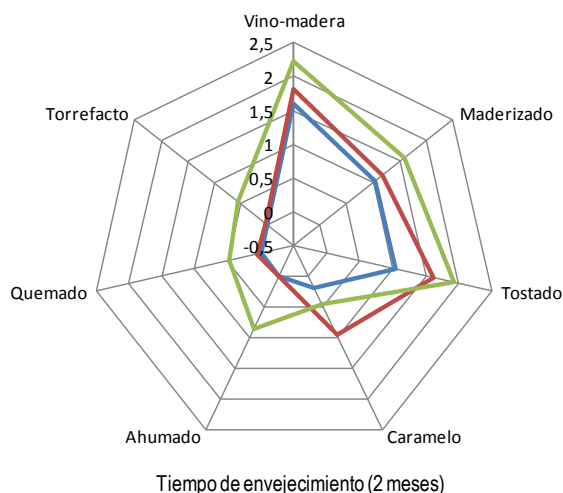
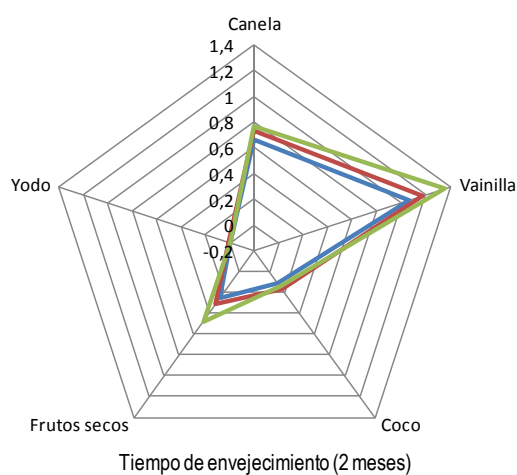
concentraciones en los vinos puede derivar en aromas a animal y sudor de caballo, aparece en todos los vinos evaluados. Parece que el tostado de la madera tiene una importante influencia en la apreciación de este atributo por los catadores, los valores más elevados se alcanzan en los vinos tratados con madera de tostado más intenso (gráfica 137) y su percepción por los catadores aumenta a medida que aumenta el tiempo de envejecimiento en los vinos.

La nota especiada en los vinos, mostrada con aroma a clavo, proviene de la presencia de fenoles volátiles como el eugenol y 4 etil guayacol, que proceden de la madera sin tostar y también son generados por el tostado de la misma (Chatonnet, P. et al., 1989b). Este autor (Chatonnet, P. et al., 2010) no ha encontrado asociación entre la nota especias y la concentración de eugenol para ser detectado según el umbral de percepción de estos compuestos en los vinos, aunque diversos autores (Dubois, P., 1989; Fernández, B. et al. 2003a y Martínez, J., 2004 y 2006a), han determinado que ciertos compuestos en concentraciones por debajo del umbral de detección son apreciables por un efecto sinérgico, causado por encontrarse en presencia de otros compuestos que intensificarían su capacidad odorante.

El descriptor sudor ha obtenido una puntuación más elevada en vinos con 12 meses de envejecimiento, siendo en este período más elevado en vinos con madera de tostado medio (gráfica 137 (12 meses)).

El descriptor canela encontrado en los vinos también está relacionado con la presencia de eugenol y 4-metil guayacol, mencionados anteriormente por su aroma a clavo. Al igual que para el descriptor clavo, el descriptor canela es valorado con máxima puntuación para los vinos que han permanecido en contacto con madera de tostado fuerte, parece que estos dos descriptores guardan relación con el tostado de la madera aumentando su apreciación por los catadores de forma similar en el vino. Pérez, L. J. et al. (2003a) han envejecido vinos en barricas de diferentes capacidades (220, 500 y 1000 L) y han encontrado que el guayacol y el 4-metil guayacol se extraen rápidamente hacia el vino durante los primeros días de contacto con roble.

Según las valoraciones de los vinos, los catadores indicaron que el aroma vainilla ha mantenido valores más elevados en los vinos tratados con madera de tostado fuerte durante los 12 meses de envejecimiento (que se ha relacionado con el compuesto vanillina proveniente de madera de roble). Los catadores han valorado este descriptor dando una puntuación de 1,4 al vino con madera de tostado fuerte, 1,2 al vino con madera de tostado medio y 1 al vino de tostado ligero. Díaz, E. M. et al. (2004) concluyeron que el aroma de vainilla no se debe a la concentración de vanillina de los vinos, ya que ésta estaba por debajo del umbral de percepción, sino más bien a la *cis*  $\beta$ -metil  $\gamma$ -octolactona. Dato que podría explicar nuestros resultados, ya que la vanillina se destruye a temperaturas elevadas, por lo que no parece lógico que sean los vinos tratados con madera de mayor tostado, los que presenten mayor nivel de vanillina.



**Gráfica 138:** Análisis sensorial a los 2, 6 y 12 meses de envejecimiento en madera de distintos tostados (fase olfativa 3)

**Gráfica 139:** Análisis sensorial a los 2, 6 y 12 meses de envejecimiento en madera de distintos tostados (fase olfativa 4)

En este ensayo se ha encontrado que tanto vainilla como canela son dos atributos encontrados en los vinos en los primeros meses de envejecimiento. Este resultado corrobora lo descrito por Spillman, P. J. et al. (1998) indicando que la tasa de extracción vanilina es muy rápida durante las dos primeras semanas de contacto de un medio hidroalcohólico con madera de roble.



Atendiendo a los trabajos de Prida, A. et al. (2010) y Prida, A. (2011) se debe tener en cuenta que la *cis*  $\beta$ -metil  $\gamma$ -octolactona es el compuesto que más contribuye en el atributo vainilla, y no el 4-metilguayacol, el furfural o el 5-hidroximetilfurfural, encontrados en menor concentración en muestras con mayor intensidad en la nota vainilla. Previamente autores como Boidron, J. N. et al., 1988 y Fernández, B. et al., (2008) han relacionado la presencia de vanillina con aromas como café, chocolate negro y ahumados. Por lo tanto, cabe pensar que los vinos con mayor valoración de vainilla serán los que mayores niveles de vanillina y *cis*  $\beta$ -metil  $\gamma$ -octolactona presentan a nivel analítico.

La nota aromática coco se atribuye a la presencia del isómero *cis* de la  $\beta$ -metil  $\gamma$ -octolactona, considerado un marcador del envejecimiento de vinos con madera de roble, dado que en vinos en ausencia de la misma, su concentración es prácticamente inapreciable. En este ensayo se ha encontrado que en los vinos con aporte de madera de diversos tostados, es el vino tratado con tostado fuerte el que presenta mayores aromas a coco, de acuerdo a la valoración realizada por los catadores. Además, de la clara aportación a aroma a coco, la *cis*  $\beta$ -metil  $\gamma$ -octolactona junto con los aldehídos furánicos comunican a los vinos aromas a tostado y madera.

Otro descriptor evaluado es frutos secos, relacionado con almendras tostadas que se atribuye a los aldehídos furánicos (furfural, 5-metilfurfural y 5-hidroximetilfurfural), formados durante el proceso de tostado de la madera de roble por degradación térmica de los polisacáridos de la misma. Varios autores han descrito que estos compuestos se van cediendo al vino durante el tiempo de contacto vino-madera (Boidron, J. N. et al., 1988; Chatonnet, P. et al., 1989a; Aleixandre, J. L., 1991; Artajona, J., 1991; Absalon, C. et al., 2000 y 2003; Garde, T. et al., 2002 y 2006; Pérez, L. J. et al., 2003e; Cadahía, E. et al., 2004; Cacho, J., 2006 y Ojeda, S., 2012). Efectivamente también en este ensayo se comprueba que los catadores han sido capaces de diferenciar los vinos envejecidos en madera de tostado fuerte a través de una valoración más elevada del descriptor frutos secos para los vinos en contacto con esta madera. Este resultado demostraría que aunque la cuantificación individualizada de estos aldehídos furánicos en el vino indique valores inferiores al umbral de percepción, en conjunto los catadores sí aprecian diferencias estadísticamente significativas en cata de los vinos que permanecen en contacto con maderas de tostado fuerte (gráfica 138).

La presencia de cresol o cloro-cresol provoca en los vinos la detección del descriptor yodo, compuestos provenientes de reacciones bioquímicas causadas por microorganismos presentes en los vinos, mostrando este defecto en los mismos. Los catadores encontraron diferencias estadísticamente significativas en los vinos que permanecieron en contacto con tostado fuerte a los 12 meses de envejecimiento, no pareciendo existir una relación clara con el tostado de la madera, pero podría atribuirse a un aroma empireumático de quemado o tostado intenso, que ha podido confundirse con este descriptor.

Los descriptores aroma vino-madera, tostado y maderizado parecen tener una relación con la intensidad del tostado y por tanto con la presencia de fenoles volátiles (guayacol y *cis*  $\beta$ -metil  $\gamma$ -octolactona). En la gráfica 139 se aprecia claramente que los catadores han otorgado una puntuación superior para estos

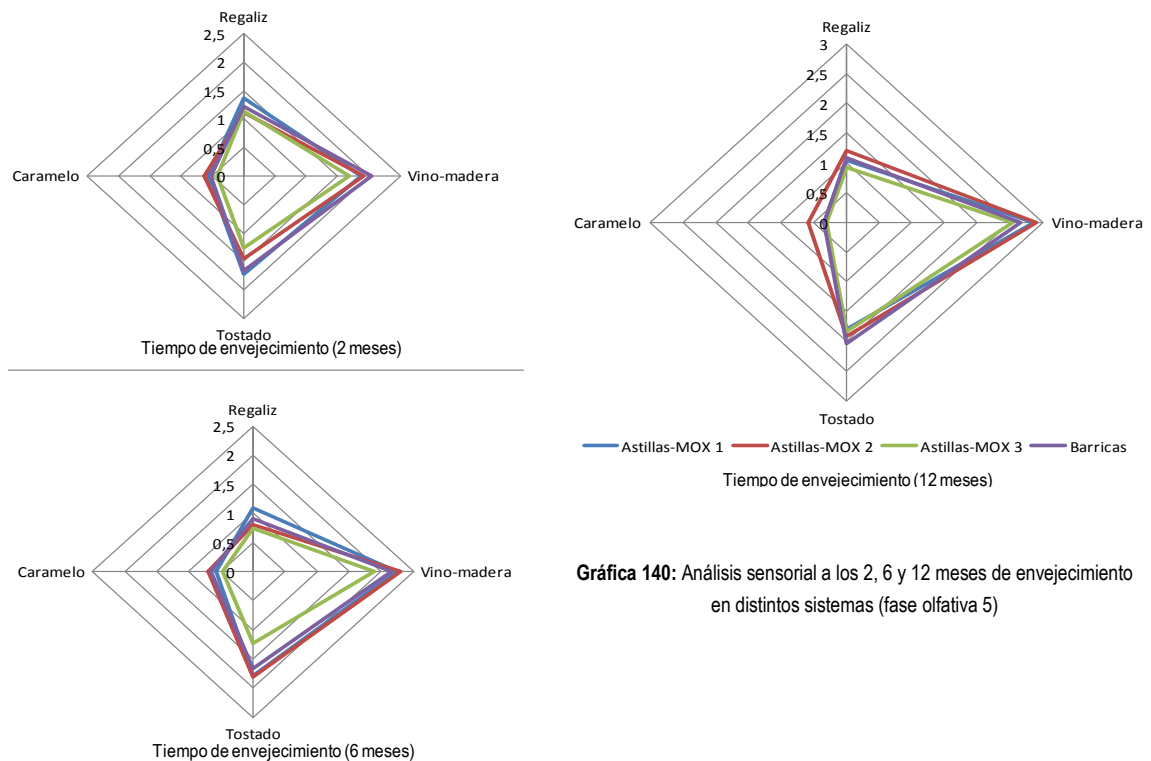
descriptores, cuando el vino había permanecido en contacto con madera de tostado fuerte, seguido posteriormente por vinos que habían permanecido en contacto con tostado medio y los menos valorados han sido los vinos tratados con madera de tostado ligero. Se confirma que el tostado de la madera fomenta la formación y extracción de estos compuestos volátiles que serán cedidos al vino aumentando la presencia de estos descriptores en los vinos tras un tiempo de contacto con madera y su posterior estancia en botella.

El aroma a caramelo es proporcionado por la presencia en el vino de maltol, compuesto formado durante el tostado de la madera y que posteriormente se difunde hacia el vino mientras envejece. Se observa en la gráfica 139 (2 meses) que los catadores han apreciado el aroma a caramelo con mayor intensidad en los vinos envejecidos en madera de tostado fuerte, aunque también muestran una menor percepción a medida que el tiempo de envejecimiento aumenta, de manera que a los 12 meses de envejecimiento (tras 6 meses en botella) las puntuaciones bajan a la mitad (valores de 0,5) en todos los vinos, con independencia del tipo de tostado aplicado a la madera.

Los descriptores ahumado, quemado y torrefacto están relacionados con la presencia en el vino del fenol volátil guayacol, además de los aldehídos furánicos descritos con anterioridad, que son definidos por muchos autores como un índice de tostado de la madera ya que la madera sin tostar apenas los contiene. Sin embargo, después del tostado estos compuestos aumentan su concentración en la madera, y cuando la intensidad del tostado es muy fuerte empiezan a descender (Chatonnet, P. et al., 1989a; Aleixandre, J. L., 1991; Artajona, J., 1991 y Spillman, P. J. et al., 2004). Es lógico encontrar que los vinos que han permanecido en contacto con madera de tostado fuerte alcancen los valores más elevados, pero también se aprecia como ya indicara Gallego, L. (2013) una disminución de guayacol y derivados furánicos, a medida que aumenta el tiempo de envejecimiento de los vinos, posiblemente debido a reacciones químicas que tienen lugar en el vino permitiendo su formación y degradación (Fernández, B. et al., 2006).

Cuando se analizan los datos teniendo en cuenta el **sistema de envejecimiento** en el que ha permanecido el vino, se ha encontrado que los catadores no aprecian tantas diferencias significativas como en la evaluación del efecto de la intensidad del tostado de la madera. Aunque sí se observa que los catadores han encontrado algunas diferencias significativas en algunos descriptores de la fase olfativa y de la fase gustativa de los vinos.

En la fase olfativa se ha encontrado que los vinos, envejecidos en distintos sistemas, los catadores han encontrado diferencias en descriptores como afrutados, balsámico, alcohol, etanal, ácido acético, regaliz, relación aroma vino-madera, tostado y caramelo. Así, el descriptor afrutado ha sido detectado por los catadores a los 6 meses de envejecimiento en contacto con astillas-MOX 1, siendo el dato más bajo valorado en los vinos que permanecieron en barricas. El descriptor balsámico también fue valorado como el más alto en los vinos envejecidos en astilla-MOX 1 a los 6 meses de envejecimiento. Los catadores han valorado la presencia de alcohol y ácido acético más bajo en los vinos envejecidos en barricas y astillas-MOX 1, sin embargo el descriptor etanal ha sido el más puntuado en vinos envejecidos en la barrica (gráfica 141).

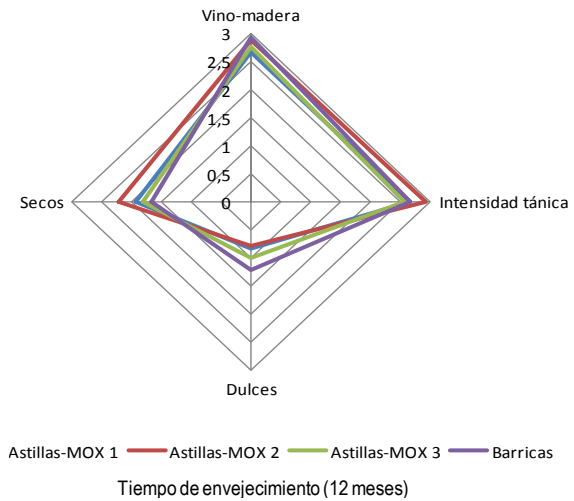
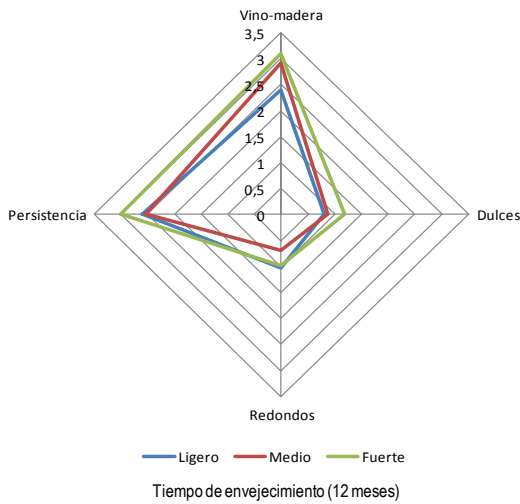
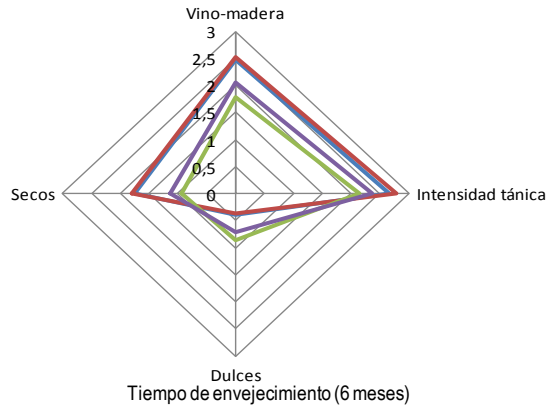
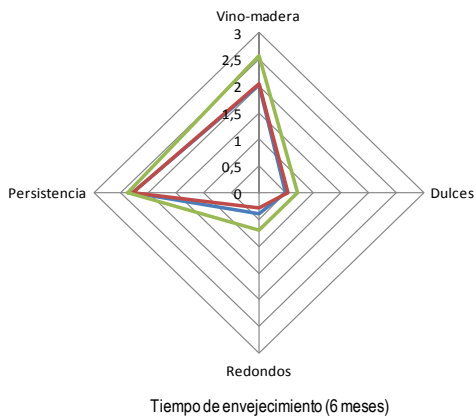
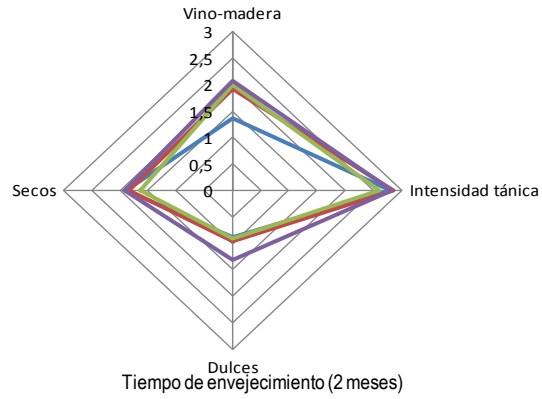
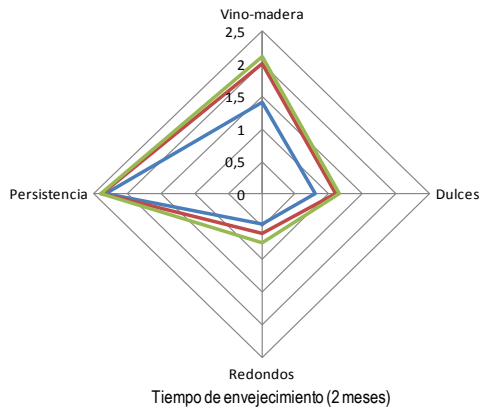


**Gráfica 140:** Análisis sensorial a los 2, 6 y 12 meses de envejecimiento en distintos sistemas (fase olfativa 5)

El descriptor regaliz ha sido significativamente más elevado en vinos envejecidos en astillas-MOX, y la relación aromática vino-madera en fase olfativa ha sido la más baja en los vinos envejecidos en contacto con astillas-MOX 3, es decir, son vinos poco maderizados, conservando aromas del vino. Este resultado se explica porque a su vez los vinos envejecidos en astillas-MOX 3 presentan los valores más bajos del descriptor tostado y del descriptor caramelo respetando por tanto más las características del vino inicial.

Se observa en la gráfica 141, que los catadores son capaces de apreciar la pérdida de tanicidad a nivel gustativo en los vinos, como ocurre a nivel analítico, y causado por un aumento en el contenido de compuestos fenólicos copigmentados y polimerizados, que actuarán disminuyendo el número de formas libres y por tanto las sensaciones de astringencia y amargor (Boulton, R., 2001).

El tostado de la madera parece aumentar la relación gustativa vino-madera a favor de una mayor apreciación de gusto a madera, aumentando los taninos dulces y redondos muy positivos en los vinos, y ganando amargor, que se traduce en una mayor persistencia en los vinos. El vino envejecido con madera de tostado fuerte es el que mayor puntuación han dado los catadores para los descriptores sabor vino-madera, taninos dulces y redondos y persistencia del gusto en boca, siendo este parámetro significativamente distinto en los vinos estudiados con el paso del tiempo (gráfica 141).



**Gráfica 141:** Análisis sensorial a los 2, 6 y 12 meses de envejecimiento en madera de distintos tostados (fase gustativa)

**Gráfica 142:** Análisis sensorial a los 2, 6 y 12 meses de envejecimiento en distintos sistemas (fase gustativa 2)

En la fase gustativa de los vinos, se ha encontrado que los catadores han apreciado diferencias significativas en descriptores como relación gustativa vino-madera, intensidad tánica, taninos dulces y taninos secos (gráfica 142).

Los vinos más maderizados por su mayor relación gustativa vino-madera han sido identificados como los envejecidos en barricas y astillas-MOX 2. Además, han considerado vinos con mayor intensidad tánica los envejecidos en astillas-MOX 2.

Los taninos dulces parecen encontrarse más claramente en los vinos envejecidos en barricas y los taninos secos en los vinos en contacto con astillas-MOX 1 y 2, según la valoración de los catadores.

### **V.3.8.2. Análisis multivariante de los vinos tratados con astillas de diferentes tostados y añadidas en diferentes momentos**

Con las variables seleccionadas en el ANOVA más significativas que diferencian a los vinos por el sistema de envejecimiento (Astillas-MOX1, Astillas-MOX2, Astillas-MOX3, barricas) , se ha realizado un análisis discriminante lineal y un análisis de componentes principales con los descriptores del análisis olfativo aromas afrutados, balsámico, alcohol, etanal, acetato de etilo, regaliz, aroma vino-madera, tostado, caramelo y del análisis gustativo relación vino-madera, intensidad tánica, taninos dulces y secos. No ha podido incluirse el descriptor ácido acético dado que no presentaba valor de varianza.

Se ha trabajado con datos por duplicado obtenidos de los resultados medios dados por los catadores en las sesiones realizadas a los 2-6 meses de envejecimiento del vino D.O. Toro en madera y tras 6 meses de envejecimiento en botella. A lo largo del envejecimiento en madera se han efectuado sesiones de cata cada 30 días. Además se han analizado los vinos en relación a la gestión de las astillas empleadas, diferenciando el tostado de la madera empleado en cada caso. Con los resultados obtenidos se pretende seleccionar las variables que presenten diferencias significativas a lo largo del tiempo de envejecimiento de los vinos, sin diferenciación entre el período de envejecimiento en madera o botella.

En la tabla 50 se presentan los resultados del análisis discriminante con los atributos que muestran diferencias estadísticamente significativas (tabla 49), aplicándose a los datos de los vinos tratados con madera de **roble de tostado ligero**. Se observa que las variables más diferenciadoras son balsámico, alcohol y acetato de etilo, tostados, aroma vino-madera, dulces y secos. El resto de las variables, sin ser significativas, también dan información, aunque el peso de dicha información viene definido por el p-Level.

Tabla 50: Resumen del análisis de funciones discriminantes

	Wilks y apos; Parcial F-remove p-level Toler. 1-Toler.					
<b>Afrutados</b>	0,0993	0,8761	1,5083	0,2311	0,2614	0,7386
<b>Balsámico</b>	0,1166	0,7462	3,6288	<b>0,0232</b>	0,4357	0,5643
<b>Alcohol</b>	0,1286	0,6766	5,0996	<b>0,0054</b>	0,3858	0,6142
<b>Etanal</b>	0,0953	0,9133	1,0128	0,3998	0,5286	0,4714
<b>Acetato de etilo</b>	0,1208	0,7200	4,1489	<b>0,0136</b>	0,5643	0,4357
<b>Regaliz</b>	0,0912	0,9541	0,5130	0,6763	0,2767	0,7233
<b>Aroma vino-madera</b>	0,1088	0,7999	2,6691	0,0642	0,1435	0,8565
<b>Tostado</b>	0,1210	0,7188	4,1735	<b>0,0133</b>	0,1684	0,8316
<b>Caramelo</b>	0,0896	0,9709	0,3202	0,8107	0,4012	0,5988
<b>Vino-madera FG</b>	0,1131	0,7690	3,2034	<b>0,0362</b>	0,4587	0,5413
<b>Intensidad tánica</b>	0,1002	0,8681	1,6202	0,2041	0,2885	0,7115
<b>Dulces</b>	0,1670	0,5210	9,8053	<b>0,0001</b>	0,4014	0,5986
<b>Secos</b>	0,1121	0,7759	3,0802	<b>0,0413</b>	0,2441	0,7559

Nº. de vars en model: 13; Grupos: Tipo (4 grps) Wilks' Lambda: ,08700 approx. F (39,95)=3,1369 p< ,0000

En la tabla 51 se muestran el número de muestras correctamente clasificadas, tanto en clasificación directa como en validación cruzada. Se observa que el 79,16 % de los casos se encuentran clasificados correctamente. El modelo obtenido podrá considerarse totalmente válido para diferenciar adecuadamente entre vinos envejecidos en distintos sistemas, excepto para los vinos envejecidos en astillas-MOX 1, cuyo valor es del 66,66 %, inferior al límite establecido del 75,00 %.

Tabla 51: Matriz de clasificación de los vinos envejecidos en distintos sistemas con roble de tostado ligero

	Porcentaje de casos clasificados correctamente				
	Astillas-MOX 1	Astillas-MOX 2	Astillas-MOX 3	Barricas	
<b>Astillas-MOX 1</b>	66,66	8	3	1	0
<b>Astillas-MOX 2</b>	83,33	0	10	2	0
<b>Astillas-MOX 3</b>	91,66	0	1	11	0
<b>Barricas</b>	75,00	0	0	3	9
<b>Total</b>	79,16	8	14	17	9

Filas: casos observados; Columnas: casos predichos

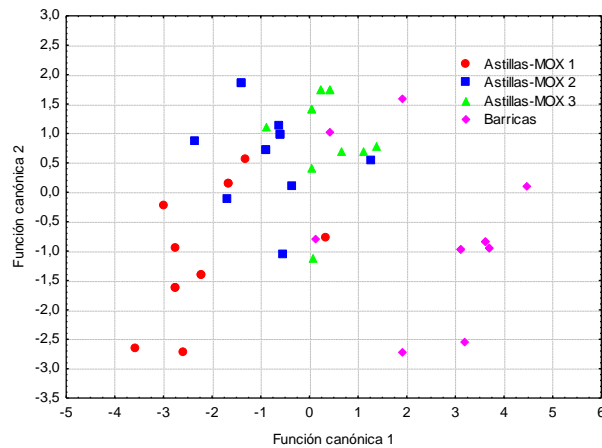
Se observa en la tabla 52, los coeficientes estandarizados de las funciones canónicas discriminantes, que contienen los grupos correlacionados de cada variable predictiva con valores propios de función canónica (función 1, 2 y 3), el total de la varianza explicada y las variables altamente correlacionadas con función 1, 2 y 3, que aparecen destacadas en negrita. En ella se observa que la función 1 explica el 74,36 % de la varianza, con un valor propio de 3,5461 que se relaciona en el eje positivo con aromas tostados, taninos dulces y secos y en el eje negativo con las variables aromas a alcohol, acetato de etilo, balsámico y la

relación gustativa vino-madera. Las funciones canónicas 2 y 3 no son capaces de alcanzar un valor propio superior a 1.

**Tabla 52:** Coeficientes estandarizados de las variables canónicas discriminantes de los vinos envejecidos en distintos sistemas con roble de tostado ligero

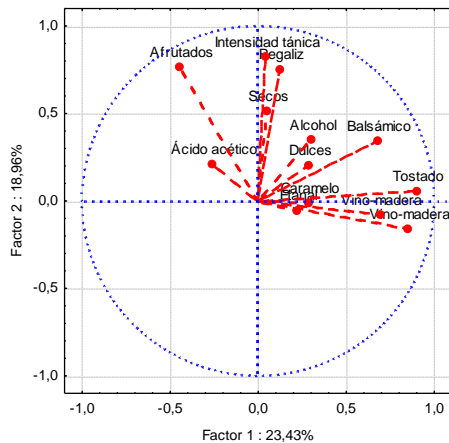
	<b>Función 1</b>	<b>Función 2</b>	<b>Función 3</b>
<b>Afrutados</b>	-0,5808	-0,1994	0,8602
<b>Balsámico</b>	<b>-0,5800</b>	-0,8277	-0,0666
<b>Alcohol</b>	<b>-0,6672</b>	1,0268	0,0235
<b>Etanal</b>	-0,1006	-0,0077	0,7753
<b>Acetato de etilo</b>	<b>-0,6483</b>	-0,5865	0,1785
<b>Regaliz</b>	0,0685	0,0329	-0,7889
<b>Vino-madera FO</b>	<b>-1,2482</b>	-0,3122	0,7188
<b>Tostado</b>	<b>1,4511</b>	-0,2075	0,1696
<b>Caramelo</b>	0,0234	-0,0687	-0,5192
<b>Vino-madera FG</b>	0,7237	0,4370	0,1532
<b>Intensidad tánica</b>	-0,5446	-0,2102	0,8886
<b>Dulces</b>	<b>1,2199</b>	-0,2401	-0,1478
<b>Secos</b>	<b>0,9711</b>	-0,1814	-0,8023
<b>Valor propio (Eigenv.)</b>	<b>3,5461</b>	0,8716	0,3509
<b>% varianza explicada</b>	<b>74,36</b>	92,64	100,00

La gráfica 143 muestra la disposición de los vinos en el plano formado por las dos primeras funciones canónicas. Se observa a los vinos envejecidos en barricas perfectamente diferenciados de los vinos en contacto con astillas-MOX 1, no siendo tan evidente si se comparan con la posición ocupada por los vinos en contacto con astillas-MOX 2 y 3. Los vinos envejecidos en las barricas de tostado ligero se sitúan en el eje positivo de la primera función discriminante, quedando definidos por los aromas tostados, los taninos dulces y secos, resultados que indican que aunque se trata de la misma madera francesa sometida a las mismas temperaturas el sistema de tostado es distinto y determina las diferencias. Así, en el proceso de tostado de las barricas se generan compuestos que cuando se transfieren a los vinos resultan ser diferentes a los encontrados en los vinos tratados con astillas de tostado ligero. En el eje negativo se sitúan más alejados los vinos envejecidos en contacto con astillas-MOX 1 definidos por alcohol, acetato de etilo y aromas balsámicos, principalmente una elevada relación aromática vino-madera en la fase olfativa, es decir, los catadores han evaluados a estos vinos con aromas a madera demasiado marcados, superando los propios del vino, además de aromas propios de un proceso oxidativo elevado, que ha podido estar relacionado con la aportación de mayor cantidad de grupos acetilados provenientes de la madera de las astillas con tostado ligero. Los vinos de los tratamientos astillas-MOX 1 y astillas-MOX 2 se encuentran en una situación intermedia.

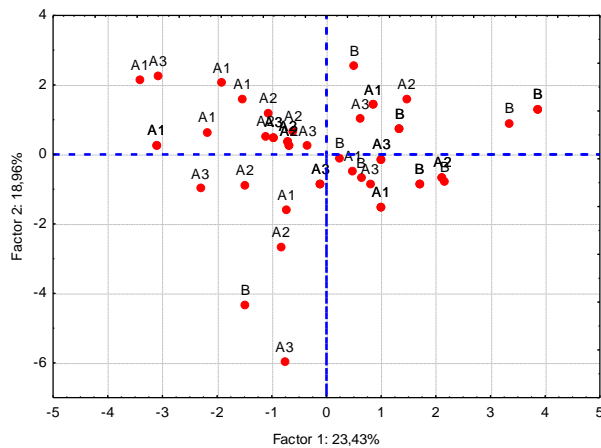


**Gráfica 143:** Análisis discriminante canónico del análisis sensorial de los vinos envejecidos en distintos sistemas con roble de tostado ligero.

Un desarrollo PCA de las 13 variables más diferenciadoras entre los distintos sistemas de envejecimiento con madera de tostado ligero sitúa a los vinos envejecidos en barricas en el eje positivo, pero no es claramente diferenciados de los vinos envejecidos con astillas y microoxigenación, aunque en general estos vinos parecen situarse en el eje negativo, destacando en ellos aromas afrutados y a acetato de etilo. Parece que la aportación de astillas con incorporación de oxígeno, asemeja a los vinos con un envejecimiento del vino en barrica lo suficiente para no ser capaces de diferenciar a los vinos por su sistema de envejecimiento, salvo algún descriptor del análisis sensorial diferenciador, cuando se comparan los vinos a lo largo de todo el período de envejecimiento.



**Gráfica 144:** Distribución de las variables de los vinos envejecidos con roble de tostado ligero en el plano definido por los dos primeros factores principales



**Gráfica 145:** Distribución de los vinos envejecidos con roble de tostado ligero en el plano definido por los dos primeros factores principales.

En la tabla 53 se presentan los resultados del análisis discriminante con los atributos que muestran diferencias estadísticamente significativas (tabla 49), aplicándose a los datos de los vinos tratados con madera de **roble de tostado medio** son aromas afrutados, balsámico y alcohol.



**Tabla 53:** Resumen del análisis de funciones discriminantes

	Wilks y apos; Parcial F-remove p-level Toler. 1-Toler.				
<b>Afrutados</b>	0,2202	0,6215	6,4970	<b>0,0015</b>	0,2904 0,7096
<b>Balsámico</b>	0,2299	0,5955	7,2462	<b>0,0008</b>	0,3448 0,6552
<b>Alcohol</b>	0,1976	0,6928	4,7309	<b>0,0077</b>	0,3544 0,6456
<b>Etanal</b>	0,1664	0,8225	2,3020	0,0959	0,4666 0,5334
<b>Acetato de etilo</b>	0,1665	0,8218	2,3123	0,0948	0,5657 0,4343
<b>Regaliz</b>	0,1516	0,9030	1,1455	0,3457	0,2615 0,7385
<b>Vino-madera FO</b>	0,1495	0,9156	0,9834	0,4129	0,2303 0,7697
<b>Tostado</b>	0,1542	0,8878	1,3477	0,2764	0,3802 0,6198
<b>Caramelo</b>	0,1552	0,8819	1,4285	0,2526	0,4106 0,5894
<b>Vino-madera FG</b>	0,1522	0,8992	1,1955	0,3271	0,1665 0,8335
<b>Intensidad tánica</b>	0,1473	0,9289	0,8161	0,4945	0,3426 0,6574
<b>Dulces</b>	0,1478	0,9261	0,8509	0,4764	0,4134 0,5866
<b>Secos</b>	0,1394	0,9818	0,1976	0,8972	0,3285 0,6715

Nº. de vars en model: 13; Grupos: Tipo (4 grps) Wilks' Lambda: ,13687 approx. F (39,95)=2,3444 p< ,0004

En la tabla 54 se muestran el número de casos correctamente clasificados, tanto en clasificación directa como en validación cruzada. Se observa que 72,91 % de los casos se encuentran clasificados correctamente, pero este resultado es inferior al límite establecido del 75 %, por tanto, el modelo obtenido no podrá considerarse totalmente válido para diferenciar adecuadamente entre vinos. Sin embargo, si nos fijamos en lo que ocurre entre los grupos de datos, cabe destacar que este dato tan bajo es debido al porcentaje de casos clasificados para las astillas-MOX 2 que representan sólo el 58,33 %.

**Tabla 54:** Matriz de clasificación de los vinos envejecidos en distintos sistemas con roble de tostado medio

	Porcentaje de casos clasificados correctamente			
	Astillas-MOX 1	Astillas-MOX 2	Astillas-MOX 3	Barricas
<b>Astillas-MOX 1</b>	75,00	9	1	1
<b>Astillas-MOX 2</b>	58,33	0	7	4
<b>Astillas-MOX 3</b>	83,33	0	2	10
<b>Barricas</b>	75,00	1	2	0
<b>Total</b>	72,91	10	12	15

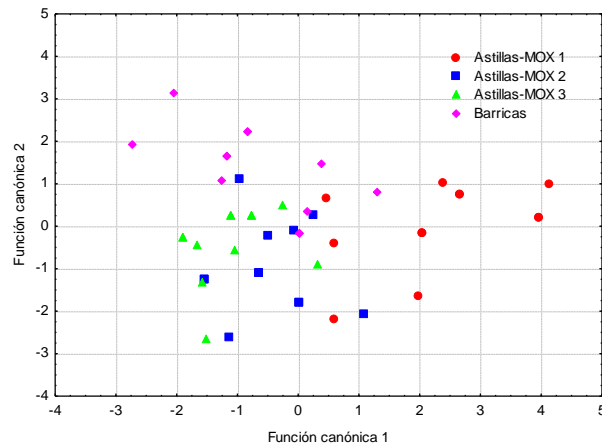
Filas: casos observados; Columnas: casos predichos

Se observa en la tabla 55 que la función 1 explica el 62,48 % de la varianza, con un valor propio de 1,9567. Seleccionando las variables de esta función canónica con los coeficientes más altos, se observa que en el eje positivo se sitúan los vinos definidos por aromas afrutados y balsámicos y en el eje negativo se localizan los que muestran más notas a alcohol.

**Tabla 55:** Coeficientes estandarizados de las variables canónicas discriminantes de los vinos envejecidos en distintos sistemas con roble de tostado medio

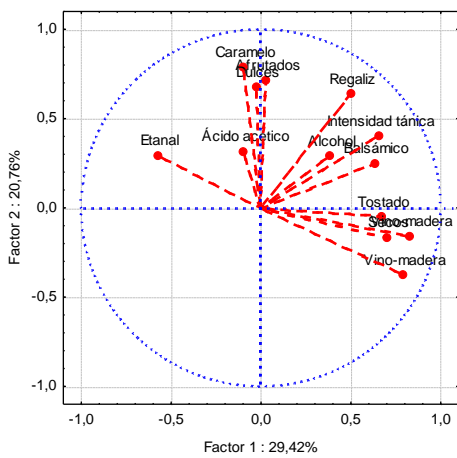
	<b>Función 1</b>	<b>Función 2</b>	<b>Función 3</b>
<b>Afrutados</b>	<b>1,3357</b>	-0,4733	0,2908
<b>Balsámico</b>	<b>1,3138</b>	0,2621	0,0304
<b>Alcohol</b>	<b>-0,8896</b>	-0,8755	0,0457
<b>Etanal</b>	0,7023	0,2528	0,3082
<b>Acetato de etilo</b>	0,2391	-0,7866	0,0423
<b>Regaliz</b>	-0,4978	-0,6253	-0,3458
<b>Vino-madera FO</b>	-0,3913	-0,6085	-0,6097
<b>Tostado</b>	0,5635	-0,0315	0,5613
<b>Caramelo</b>	-0,4774	0,4041	-0,4878
<b>Vino-madera FG</b>	0,6401	0,8638	0,0386
<b>Intensidad tánica</b>	-0,1734	-0,0488	-0,8341
<b>Dulces</b>	-0,1014	0,5169	0,4424
<b>Secos</b>	0,0038	-0,1342	0,4201
<b>Valor propio (Eigenv.)</b>	<b>1,9567</b>	0,8086	0,3663
<b>% varianza explicada</b>	<b>62,48</b>	88,30	100,00

La gráfica 146 presenta la distribución de los vinos en las dos primeras funciones canónicas, situándose los vinos elaborados con astillas-MOX 1 con madera de tostado medio en el eje positivo caracterizados por una mayor valoración en aromas afrutados y balsámicos y menos alcohólicos. En el eje negativo quedarían los vinos del resto de los sistemas empleados en el envejecimiento, incluida la barrica. Estos resultados indican la incapacidad de diferenciar a los vinos por el sistema en el que han envejecido para el tostado medio a excepción de los vinos envejecidos en astillas-MOX 1.

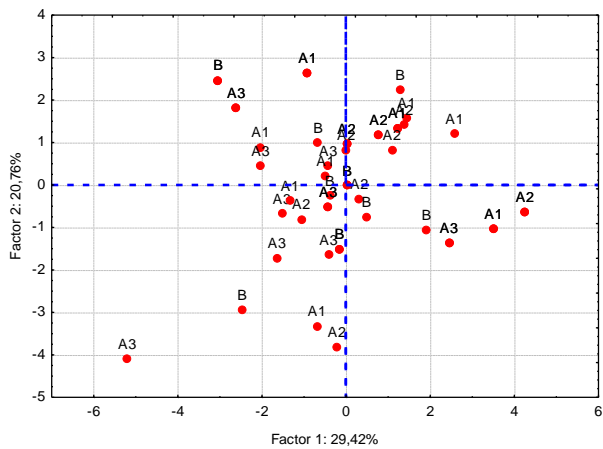


**Gráfica 146:** Análisis discriminante canónico del análisis sensorial de los vinos envejecidos en distintos sistemas con roble de tostado medio.

Un desarrollo PCA de las 13 variables más diferenciadoras entre los distintos sistemas de envejecimiento no han permitido obtener resultados concluyente en función del sistema de envejecimiento para los vinos en contacto con madera de tostado medio. Lo que confirma de nuevo que los vinos tratados con astillas y dosis adecuadas de oxígeno pueden confundir a los catadores al considerarlos como envejecidos en barricas.



**Gráfica 147:** Distribución de las variables de los vinos envejecidos con roble de tostado medio en el plano definido por los dos primeros factores principales



**Gráfica 148:** Distribución de los vinos envejecidos con roble de tostado medio en el plano definido por los dos primeros factores principales.

Cuando se comparan los vinos envejecidos en sistemas con madera de **roble de tostado fuerte** se obtienen los resultados representados en la tabla 56. Donde se observa un  $p\text{-Level} < 0,05$  en descriptores como regaliz, intensidad tánica y taninos dulces, siendo por tanto los atributos significativamente distintos en los vinos tratados con astillas-MOX frente a barricas.

Tabla 56: Resumen del análisis de funciones discriminantes

	Wilks y apos; Parcial F-remove p-level Toler. 1-Toler.					
<b>Afrutados</b>	0,2690	0,8058	2,5709	0,0714	0,4681	0,5319
<b>Balsámico</b>	0,2303	0,9411	0,6673	0,5783	0,4044	0,5956
<b>Alcohol</b>	0,2418	0,8964	1,2334	0,3137	0,4147	0,5853
<b>Etanal</b>	0,2258	0,9599	0,4458	0,7219	0,5753	0,4247
<b>Acetato de etilo</b>	0,2759	0,7856	2,9106	0,0495	0,4946	0,5054
<b>Regaliz</b>	0,2838	0,7639	3,2976	<b>0,0328</b>	0,2158	0,7842
<b>Vino-madera FO</b>	0,2732	0,7933	2,7798	0,0570	0,1065	0,8935
<b>Tostado</b>	0,2617	0,8282	2,2128	0,1057	0,2178	0,7822
<b>Caramelo</b>	0,2518	0,8608	1,7244	0,1817	0,5593	0,4407
<b>Vino-madera FG</b>	0,2695	0,8041	2,5982	0,0693	0,3077	0,6923
<b>Intensidad tánica</b>	0,2994	0,7241	4,0652	<b>0,0148</b>	0,1646	0,8354
<b>Dulces</b>	0,3137	0,6910	4,7698	<b>0,0074</b>	0,4577	0,5423
<b>Secos</b>	0,2398	0,9039	1,1340	0,3501	0,2350	0,7650

No. De vars en model: 13; Grupos: Tipo (4 grps) Wilks' Lambda: ,21675 approx. F (39,95)=1,6552 p< ,0246

En la tabla 57 se muestran el número de muestras correctamente clasificadas. Se observa que 79,16 % de los casos se encuentran clasificados correctamente. Sin embargo, los vinos envejecidos en astillas-MOX 3 para el tostado fuerte no alcanzan valores mínimos de clasificación correcta, siendo tan sólo del 66,66 % de los casos correctamente clasificados.

Tabla 57: Matriz de clasificación de los vinos envejecidos en distintos sistemas con roble de tostado fuerte

	Porcentaje de casos clasificados correctamente				
	Astillas-MOX 1	Astillas-MOX 2	Astillas-MOX 3	Barricas	
<b>Astillas-MOX 1</b>	83,33	10	2	0	0
<b>Astillas-MOX 2</b>	83,33	0	10	2	0
<b>Astillas-MOX 3</b>	66,66	1	0	8	3
<b>Barricas</b>	83,33	0	2	0	10
<b>Total</b>	79,16	11	14	10	13

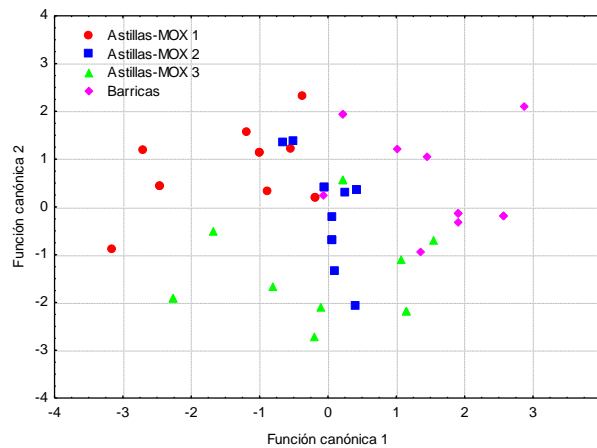
Filas: casos observados; Columnas: casos predichos.

En la tabla 58, se muestran los coeficientes estandarizados de las funciones canónicas discriminantes 1, 2 y 3. La función 1 explica el 52,66 % de la varianza, con un valor propio de 1,1057 y muy relacionada de forma positiva con los descriptores intensidad tánica y taninos dulces y de forma negativa con las notas aportadas por el aroma a regaliz. Las funciones canónicas 2 y 3 no son capaces de alcanzar un valor propio superior a 1, por lo que no aportan información relevante.

**Tabla 58:** Coeficientes estandarizados de las variables canónicas discriminantes de los vinos envejecidos en distintos sistemas con roble de tostado fuerte

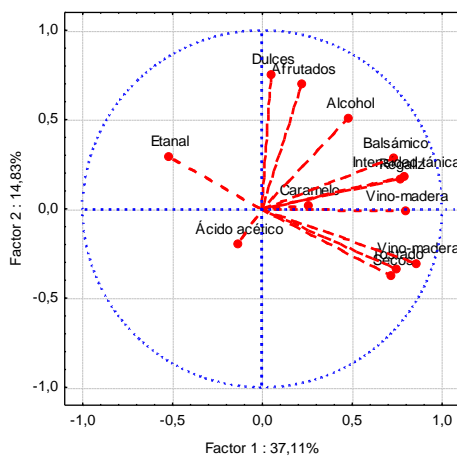
	<b>Función 1</b>	<b>Función 2</b>	<b>Función 3</b>
<b>Afrutados</b>	-0,5562	-0,6352	0,6236
<b>Balsámico</b>	-0,0581	-0,4897	-0,4495
<b>Alcohol</b>	-0,3867	-0,1146	-0,8794
<b>Etanal</b>	0,1358	0,0975	0,5112
<b>Acetato de etilo</b>	0,5487	-0,7612	-0,3896
<b>Regaliz</b>	<b>-1,2993</b>	0,3832	0,8257
<b>Vino-madera FO</b>	1,6366	-1,0506	0,5828
<b>Tostado</b>	-0,5896	1,0525	-0,8147
<b>Caramelo</b>	0,5326	-0,1053	-0,6662
<b>Vino-madera FG</b>	-0,9822	0,2932	0,6616
<b>Intensidad tánica</b>	<b>1,7548</b>	0,3567	-0,1658
<b>Dulces</b>	<b>1,1195</b>	0,1994	0,0417
<b>Secos</b>	-0,8648	-0,0552	-0,2641
<b>Valor propio (Eigenv.)</b>	<b>1,1057</b>	0,7209	0,2732
<b>% varianza explicada</b>	<b>52,66</b>	86,99	100,00

En la representación gráfica 149 de los vinos en el plano formado por la función canónica 1 y 2, se observa a los vinos envejecidos en barricas de tostado en el eje positivo, presentando estos vinos la mayor intensidad tánica y mayor presencia de taninos dulces, de acuerdo a las puntuaciones aportadas por los catadores. En el eje negativo de la función 1 se sitúan los vinos envejecidos en astillas-MOX 1, descritos como vinos con mayor aroma a regaliz. Los vinos envejecidos en astillas-MOX 2 y astillas-MOX 2 han quedado posicionados en el centro del eje de la F1 entre ambos grupos, por tanto son vinos con características intermedias entre los vinos MOX1 y los envejecidos en barricas cuando se emplean maderas de tostado fuerte.

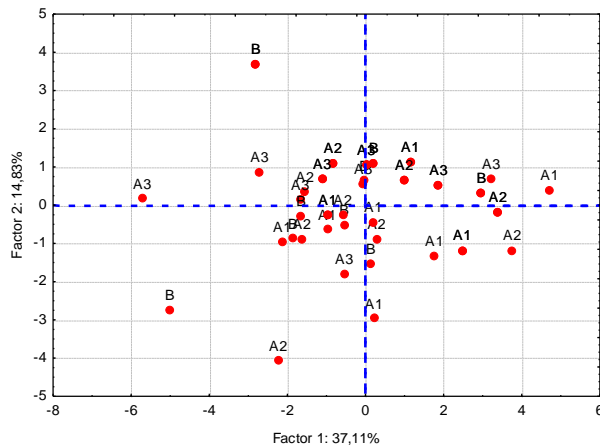


**Gráfica 149:** Análisis discriminante canónico del análisis sensorial de los vinos envejecidos en distintos sistemas con roble de tostado fuerte.

El desarrollo del análisis de componentes principales (PCA) de las 13 variables más diferenciadoras entre los distintos sistemas de envejecimiento no han permitido obtener resultados concluyentes en función del sistema de envejecimiento para los vinos en contacto con madera de tostado fuerte como se aprecia en las gráficas 150 y 151.



**Gráfica 150:** Distribución de las variables de los vinos envejecidos con roble de tostado fuerte en el plano definido por los dos primeros factores principales



**Gráfica 151:** Distribución de los vinos envejecidos con roble de tostado fuerte en el plano definido por los dos primeros factores principales.

De los resultados obtenidos en el análisis discriminante y de componentes principales se deduce la gran variabilidad que produce en los vinos la aportación de oxígeno y astillas a distintas dosis y tiempos sobre el vino en el proceso de envejecimiento, haciendo más difícil la diferenciación, por parte de los catadores, a los vinos que han estado en contacto con barricas de los vinos que han permanecido en sistemas alternativos (astillas-MOX).

Estos resultados indican la dificultad de diferenciar a los vinos por el sistema en el que han envejecimiento salvo excepciones en los descriptores relacionados con el tostado de la madera, que permiten obtener alguna diferencia significativa entre la barrica y los vinos en contacto con astillas-MOX

concreto, causados por la elevada interacción e influencia de los compuestos fenólicos presentes en los vinos y cedidos por las maderas de distintos tamaños y tostado.

Se puede por tanto concluir que los resultados obtenidos han permitido acercarse de manera importante los vinos envejecidos en astillas-MOX a los efectos logrados en el envejecimiento en barricas, dado que los catadores no parecen diferenciar de manera significativa a los vinos envejecidos por el método tradicional y los sistemas alternativos.

### V.3.9. Conclusiones del capítulo 3

Tras analizar los resultados obtenidos en el capítulo 3, es posible enumerar las conclusiones que parecen más relevantes en relación a las diferencias encontradas en la evolución de los parámetros analizados en el vino Tinto D.O. Toro, tras permanecer 6 meses en barricas y depósitos a los que se les ha añadido astillas con distintos tostados y en distintos momentos (Astillas-MOX 2: un sólo tipo de madera con tostado ligero, medio y fuerte, Astillas-MOX 1: dos tipos de madera distintas generando así los tres tipos de tostados; ligero (mezcla de madera fresca y madera de tostado medio), medio (mezcla de madera fresca y madera de tostado fuerte), y fuerte (madera fresca y madera con un alto grado de tostado) y Astillas-MOX 3: con mezcla de madera para generar los tres tostados, pero adicionado a dos tiempos distintos ( $\frac{1}{2}$  dosis al inicio del envejecimiento y  $\frac{1}{2}$  dosis a los 45 días)) y 22 meses en botella.

Se ha intentado encontrar el sistema de envejecimiento alternativo estudiado (Astillas-MOX) que más se asemeje a la barrica, con el fin de obtener un vino que alcance las características propias de un envejecimiento en barrica en un tiempo menor y con menos costes.

No se han encontrado diferencias significativas en los parámetros fenólicos analizados, tales como polifenoles totales (PT Folin), polifenoles poco polimerizados (PPP), polifenoles muy polimerizados (PMP), catequinas (CAT) y taninos (TAN), en los vinos envejecidos en barricas de los vinos en contacto con astillas-MOX. Tampoco se han diferenciado los vinos por el grado de tostado de la madera o el momento de adición de las astillas, ni por las mezclas de las mismas, encontrándose datos similares para estos parámetros en los vinos a lo largo del proceso de envejecimiento llevado a cabo.

Si se analiza lo ocurrido en el vino tras su contacto con astillas-MOX de **distintos tostados (ligero, medio y fuerte)**, de manera general se han encontrado diferencias en los siguientes parámetros:

- En los vinos tratados con astillas de **tostado ligero** el extracto seco ha sido superior, perdiendo tal significación en el período de botella. Presentaron mayor pérdida de componente roja (%A520), de fracción de color debida a antocianos libres (AL), y menor contenido en ácido protocatéuico formado en la degradación de la lignina y los elagitaninos. Mayor concentración en ácido vanilínico, y menor tonalidad amarilla, índice de ionización y Vitisín A durante el envejecimiento en botella. Los descriptores del análisis sensorial de los vinos indicaron en general mayor puntuación en las características menos positivas, vegetal, reducción y ácido acético, excepto para fruta roja que ha sido el más puntuado.

- El **tostado medio** de las astillas hace aumentar en los vinos la concentración de aldehídos fenólicos (aldehído protocatéquico), catequina y ácido siríngico y el descriptor ácido acético.
- El **tostado fuerte** de las astillas ha provocado que en los vinos se haya observado mayor tono rojo (%dA) y niveles más elevados de croma o color (C\*), contribuyendo a ser vinos más jóvenes a lo largo del envejecimiento y más luminosos. Estos resultados establecen una relación entre la presencia de compuestos cedidos por la madera hacia el vino, que podría estar relacionada con las interacciones de los antocianos con los taninos de la madera que contribuyen a una mayor estabilidad del color de los vinos, repercutiendo en la formación de nuevos pigmentos (etil pigmentos), cuya absorbancia a 620 nm es mayor que la de los antocianos en forma libre, produciendo un ligero aumento del color azul. Entre los aromas, se detectaron en estos vinos mayor intensidad aromática, afrutados, balsámico, cuero, clavo, canela, vainilla, coco, frutos secos, yodo, caramelo, ahumado, quemado, torrefacto, balsámico, aroma vino-madera, maderizado y tostado. En la fase gustativa destacaron por la mayor valoración en la relación sabor vino-madera y persistencia.

Analizando el vino envejecido en **diferentes sistemas con microoxigenación (astillas-MOX 1, astillas-MOX 2, astillas-MOX 3 y barricas)** se ha encontrado que los vinos envejecidos en **barricas**:

- Han presentado el menor contenido en ácido tartárico y valores significativamente más altos de glicerol, índice de polifenoles totales (IPT), grado alcohólico (% v/v), extracto seco (g/L), acidez total (g/L de á. tartárico), acidez volátil (g/L de á. acético) y azúcares (g/L), presentan una apariencia más envejecida ( $a^*$  más baja y mayor tonalidad amarilla ( $b^*$ )) en el período de contacto con madera) pero estos resultados han contribuido a estabilizar el color, de manera que en botella estos vinos pasan a presentar los valores más elevados de color rojo ( $a^*$ ) y mayor componente azul (19-28 meses), pasando a ser vinos con apariencia más joven.
- También han mostrado mayor índice de ionización en la fase de envejecimiento en botella, pérdida menor de intensidad colorante (IC), mayor aumento de la tonalidad (T), mayor concentración de componente roja (% A520) (19-28 meses), menor luminosidad (L), con colores menos evolucionados y mayor tono (H). Sin embargo, durante el período de botella el tono (H) desciende a mayor velocidad en estos vinos. Son vinos con mayor proporción de pigmento polimérico (i e ii) y porcentaje de antocianos que se encuentran como ion flavilium ( $\alpha$ ), tanto antes como después de suprimir el efecto decolorante del  $\text{SO}_2$  ( $\alpha\alpha$ ). Presentan los vinos menor color debido a los antocianos copigmentados (C y COP)) y mayor contenido en cofactores (FlaC) y color debido a los antocianos polimerizados (EP).
- Entre los compuestos ácidos y aldehídos fenólicos analizados, se produce una mayor extracción de vanillina y ácido sinápico y menor concentración de ácido protocatéquico.



- La pérdida total de antocianos viene definida por el descenso del malvidín-3 glucósido (Mv-3-Gl), antociano mayoritario de la variedad Tinta de Toro, seguido de los antocianos delphinidín-3-glucósido (Df-3-Gl), petunidín-3-glucósido (Pt-3-Gl) y peonidín-3-glucósido (Pn-3-Gl). Siendo el cianidín-3-glucósido (Cn-3-Gl) el antociano monómero minoritario. El contenido en cianidín-3-glucósido cumarilado (Cn-3-Gl-Cm) ha sido ligeramente superior, produciendo un mayor aumento del color por su efecto hiperocrómico en el vino.
- El descriptor etanal, en la fase olfativa, ha sido el más puntuado en estos vinos y ha recibido menor puntuación el descriptor regaliz, mayor relación aromática vino-madera y taninos dulces.

Por el **tipo de mezcla de las astillas y momento de adición** (astillas-MOX 1, astillas-MOX 2 y astillas-MOX 3), parece que el momento de incorporación de las astillas no presenta una gran influencia, aunque se ha determinado como diferenciador:

- La presencia de glicerol ha sido superior en astillas en dosis iniciales menores astillas-MOX 2 (3 g/L) y astillas-MOX 3 (2+2 g/L); frente a las astillas-MOX 1 (4 g/L), pero tales diferencias se pierden durante el envejecimiento en botella.
- Un aumento de la intensidad colorante en aquellos vinos a los que se aportó inicialmente mayor cantidad de astillas (astillas-MOX 1 (4 g/L), astillas-MOX 2 (3 g/L)).
- La componente azul (%A620) ha sido mayor en los vinos a los que se aportaron astillas en dos tiempos, al inicio de envejecimiento y a los 45 días de envejecimiento (Astillas-MOX 3), destacando una pérdida acelerada de tonalidades azules durante su envejecimiento en botella. Estos vinos comienzan siendo los menos luminosos, pero durante del proceso de envejecimiento en botella presentan la mayor luminosidad (L), componente b\* y mayor tono (H). También han obtenido menor porcentaje de color debido a antocianos libres (AL).
- La mayor concentración de ácido gálico se ha encontrado en los vinos de astillas+MOX 1 durante el período de botella y aquellos vinos que con un aporte de 4 g/L de madera alcanzaron mayor concentración de ácido vanilínico, aunque mostraron una pérdida de ácido gentísico en botella más rápida.
- Respecto a la evaluación sensorial de estos vinos, mencionar que los vinos en contacto con astillas-MOX 1 se valoraron con mayor nivel de afrutados y balsámicos a los 6 meses de envejecimiento, y con los menores valores de alcohol y ácido acético. Los vinos con astillas-MOX 2 fueron los valorados en la fase gustativa como los más maderizados por su mayor relación aromática vino-madera e intensidad tánica, mientras que con más taninos secos se valoraron a los vinos en contacto con astillas-MOX 1 y 2. Los vinos tratados con astillas-MOX 3, fueron valorados con la menor relación aromática vino-madera, maderizado, tostado y caramelo.

De los resultados obtenidos en el análisis discriminante y de componentes principales se deduce la gran variabilidad que produce en los vinos la aportación de oxígeno y astillas a distintas dosis y tiempos sobre el vino en el proceso de envejecimiento, haciendo más difícil la diferenciación, por parte de los catadores, a los vinos que han estado en contacto con barricas de los vinos que han permanecido en sistemas alternativos (astillas-MOX).

Los vinos envejecidos con astillas-MOX se aproximan más a los resultados encontrados en un vino envejecido en barrica (frente a lo obtenido en el capítulo 1, con ausencia de oxígeno) principalmente durante el período de aportación de madera y oxígeno, sin embargo la incorporación del vino en botella hace que las diferencias entre los vinos aumenten, manteniendo el vino, que inicialmente permaneció en barrica, compuestos fenólicos y colores más estables.

## **VI. CONCLUSIONES GLOBALES DE LA TESIS DOCTORAL**

## VI. CONCLUSIONES GLOBALES DE LA TESIS DOCTORAL

Las conclusiones más relevantes alcanzadas en los tres capítulos descritos se indican a continuación:

De los parámetros analizados en el vino Tinto D.O. Cigales, tras permanecer 12 meses en recipientes de distintos tamaños (225 y 300 L), con diferentes sistemas de envejecimiento (astillas, tablones y barricas) y con maderas de diferentes orígenes geográficos (americano, francés y húngaro) y 12 meses en botella, los sistemas de envejecimiento han producido las mayores diferencias en la evolución de los compuestos fenólicos de los vinos.

1. La relación volumétrica de 225 L ha fomentado una alta polimerización de los fenoles y formación del pigmento pirúvico Vitisín A, mientras que la relación volumétrica de 300 L ha atenuado la pérdida de extracto seco, ha mantenido mayor concentración de compuestos fenólicos y antocianos en los vinos.
2. Las diferencias entre los vinos de los distintos sistemas aumentan especialmente cuando el vino permanece en barrica, mientras que los vinos en contacto con astillas y tablones, se podrían definir como grupos homogéneos. En general se definen como vinos con mayor concentración en parámetros enológicos básicos, mayor color y componente roja, menor concentración en compuestos fenólicos totales y polimerizados, produciendo una estabilización de la materia colorante. Estos resultados sugieren una evolución más acelerada cuando se emplean alternativos, permitiendo esta técnica acortar los tiempos de envejecimiento.
3. Las concentraciones en los vinos de los antocianos han sido significativamente mayores en el primer periodo de contacto con madera que en botella y los valores más altos se mantuvieron en los vinos envejecidos en las barricas, seguido por los vinos tratados con astillas y, finalmente, los vinos en contacto con tablones.
4. Destaca una menor concentración de ácidos hidroxicinámicos en los vinos que permanecieron en contacto con barricas y una mayor concentración de ácidos hidroxibenzoicos y epicatequina en los vinos de las barricas, seguida de los vinos envejecidos en tablones. Parece que el tamaño de la madera tiene una importante influencia sobre la extracción de estos compuestos de la misma, posiblemente a la forma en la que el vino accede a la estructura de la madera.
5. El análisis sensorial sugiere que vinos envejecidos en contacto con tablones son los más afrutados. Entre los aromas propios de la madera se deduce una identificación más rápida en vinos en contacto con astillas al inicio del envejecimiento, debido a la facilidad de extracción de los compuestos volátiles, pero se pierden en envejecimientos prolongados. Los vinos envejecidos en contacto con barrica han sido los mejor valorados por los catadores además del análisis multivariante se deduce la capacidad de diferenciar a los vinos por su sistema de envejecimiento.

6. Entre las maderas utilizadas con diferentes orígenes geográficos, las mayores diferencias se han alcanzado en los vinos envejecidos en contacto con roble húngaro (*Quercus petraea*), presentando un mayor grado alcohólico, que afecta a los parámetros de color principalmente por su relación con la etanolisis de la madera. Siendo vinos con mayor tonalidad roja y menor luminosidad. Menor concentración en azúcares y mayor en antocianos acilados. Los vinos envejecidos en roble americano (*Quercus alba*) ha destacado por la rápida extracción de aromas lácticos y especiados y el roble francés (*Quercus petraea*) por menor acidez, tanicidad y untuosidad.

De la comparación entre las características de los vinos tintos (sometidos a un envejecimiento con astillas y con y sin microoxigenación) se ha obtenido que los vinos envejecidos con aportaciones de oxígeno han presentado los parámetros enológicos significativamente más altos.

1. Parece influir significativamente en una menor liberación de azúcares tanto por hidrólisis de los antocianos del vino, como de los taninos provenientes de la madera. Además se facilita la precipitación tartárica, ya que disminuye la existencia de ácido tartárico en los vinos, por inestabilidad.
1. Mayor pérdida de antocianos totales, que podría ser debida inicialmente a una degradación oxidativa producida por la adición de oxígeno. Aunque los resultados revelan que en períodos prolongados de envejecimiento (hasta 28 meses), los vinos que inicialmente fueron microoxigenados pierden antocianos totales, pero de manera menos acusada que los que no se microoxigenaron. Han presentado valores significativamente inferiores en polifenoles totales (PT Folin), polifenoles poco polimerizados (PPP), taninos (TAN), intensidad colorante (IC), componente roja (%A520), luminosidad (L), relación amarillo-azul ( $b^*$ ) y tono o matiz (H) y más elevados de tonalidad (T), componente amarilla (%A420), importancia del color rojo (%dA), relación rojo-verde ( $a^*$ ), croma ( $C^*$ ).
2. Se ha producido una pérdida de compuestos fenólicos y color por procesos de reacción con los compuestos existentes en el vino (condensación antociano-tanino o polimerización tanino-tanino). Menores polifenoles poco polimerizados (PPP), demostrando que el oxígeno favorece los procesos de polimerización o condensación entre los compuestos fenólicos presentes en el vino o aportados por la madera. Sin embargo, cuando el vino se introduce en un ambiente reductor parte de estos compuestos se recuperan, provenientes de procesos de hidrólisis, permitiendo a los vinos mantener niveles más elevados. Mayor pérdida de antocianos monómeros y menor pérdida de antocianos acilados y cumarilados, siendo significativamente mayores en Vitisín A (Mv-3-Gl-Py). Valores significativamente superiores para la relación pigmento polimérico respecto de los antocianos en forma flavilium (ii), para el porcentaje de antocianos que se encuentran como ión flavilium tras suprimir el efecto del sulfuroso ( $\alpha\alpha$ ). Estos resultados muestran claramente la influencia del tratamiento de microoxigenación en las reacciones de polimerización de los antocianos, siendo más importantes en estos vinos.

3. Menores niveles de los compuestos fenólicos ácido gálico, vanillina, ácido protocatéquico, ácido vanilínico, ácido caféico y ácido sinápico y aumento de catequina, ácido siríngico, epicatequina, y ácido ferúlico. El ácido gálico disminuye por la presencia de oxígeno y la vanillina ha tenido un aumento más limitado porque se han fomentado las reacciones de la vanillina con flavanoles y antocianos. Aumento del ácido protocatéquico debida a su formación a partir del aldehído protocatéquico, por los procesos de oxidación. Menor ácido vanilínico y ácido caféico (debido a la condensación con antocianos para dar compuestos acilados). Este resultado confirmaría que el oxígeno favorece las reacciones de copigmentación, atenuando en cierta medida la disminución del color formado por la formación de un piranoantociano.
4. En el análisis sensorial destaca el aumento de la limpidez y tonos tejas en los vinos microoxigenados. Aumentan los aromas especiados y frutos secos ligeramente. Además el análisis multivariante refleja la capacidad de los catadores de diferenciar a los vinos que han sido microoxigenados de los que no han tenido tal aportación.

Los parámetros analizados en el vino Tinto D.O. Toro, tras permanecer 6 meses en barricas y depósitos a los que se les ha añadido astillas con distintos tostados y en distintos momentos (Astillas-MOX 2: un sólo tipo de madera con tostado ligero, medio y fuerte, Astillas-MOX 1: dos tipos de madera distintas generando así los tres tipos de tostados; ligero (mezcla de madera fresca y madera de tostado medio), medio (mezcla de madera fresca y madera de tostado fuerte), y fuerte (madera fresca y madera con un alto grado de tostado) y Astillas-MOX 3: con mezcla de madera para generar los tres tostados, pero adicionado a dos tiempos distintos ( $\frac{1}{2}$  dosis al inicio del envejecimiento y  $\frac{1}{2}$  dosis a los 45 días)) y 22 meses en botella.

1. Con la combinación de madera y microoxigenación se ha intentado encontrar el sistema de envejecimiento alternativo estudiado (Astillas-MOX) que más se asemeje a la barrica, con el fin de obtener un vino que alcance las características propias de un envejecimiento en barrica en un tiempo menor y con menos costes.
2. No se han encontrado diferencias significativas en los parámetros fenólicos analizados en los vinos envejecidos en barricas de los vinos en contacto con astillas-MOX. Tampoco se han diferenciado los vinos por el grado de tostado de la madera o el momento de adición de las astillas, ni por las mezclas de las mismas, encontrándose datos similares para estos parámetros en los vinos a lo largo del proceso de envejecimiento llevado a cabo.
3. Entre los distintos grados de tostados de las astillas, la combinación que ha reproducido el tostado fuerte ha provocado en los vinos las mayores diferencias. Mayor tono rojo y niveles más elevados de color, contribuyendo a ser vinos más estables a lo largo del envejecimiento y más luminosos. Estos resultados establecen una relación entre la presencia de compuestos cedidos por la madera hacia el vino, que podría estar relacionada con las interacciones de los antocianos con los taninos de la madera, repercutiendo en la formación de nuevos pigmentos, produciendo

un ligero aumentando del color azul. Entre los aromas, se detectaron en estos vinos mayor intensidad aromática para la mayoría de los aromas propios de la madera y su tostado y se valoraron como vinos más maderizados y persistentes.

4. Los vinos envejecidos en barricas han presentado valores más elevados de parámetros básicos, y respecto a los parámetros de color destaca la evolución más rápida durante el envejecimiento en contacto con barricas, pero en el período de botella, los vinos que estuvieron en ella consiguen mantener mayor intensidad en color, con tonos más rojo-azulados y mayor índice de ionización. Son vinos con mayor proporción de pigmento polimérico y porcentaje de antocianos que se encuentran como ion flavilium. Presentan menor color debido a los antocianos copigmentados y polimerizados y mayor contenido en cofactores. Entre los compuestos ácidos y aldehídos fenólicos analizados, se ha mantenido una concentración de vanillina y ácido sinápico y menor concentración de ácido protocatéquico. La pérdida total de antocianos viene definida por el descenso del malvidín-3 glucósido (Mv-3-Gl), antociano mayoritario de la variedad Tinta de Toro. Además el contenido en cianidín-3-glucósido cumarilado (Cn-3-Gl-Cm) ha sido ligeramente superior, produciendo un mayor aumento del color por su efecto hiperocrómico en el vino. Han destacado en cata por ser más puntuados en etanal, más maderizados y con taninos dulces.
5. Algunos parámetros han permitido diferenciar a los vinos por las dosis y los momentos de aportación de las astillas acompañadas de la microoxigenación. Apreciándose un aumento de la intensidad colorante, mayor concentración de ácido gálico, ácido vanilínico y menor concentración de ácido gentísico en aquellos vinos a los que se aportó inicialmente mayor cantidad de astillas-MOX 1 (4 g/L) principalmente durante su envejecimiento en botella. Se valoraron como vinos más afrutados, balsámicos y de elevada tanicidad. Los vinos con astillas-MOX 2 se diferenciaron por ser los más maderizados.
6. De los resultados obtenidos en el análisis multivariante se deduce la gran variabilidad que produce en los vinos la aportación de oxígeno y astillas a distintas dosis y tiempos sobre el vino en el proceso de envejecimiento, haciendo más difícil la diferenciación, por parte de los catadores, a los vinos que han estado en contacto con barricas de los vinos que han permanecido en sistemas alternativos (astillas-MOX).

Se ha logrado que los vinos envejecidos con astillas microoxigenadas se aproximen más a los resultados encontrados en un vino envejecido en barrica, frente a lo obtenido en los vinos con aportación de madera sin oxígeno, principalmente durante el período de envejecimiento oxidativo, dado que cuanto mayor es el período de envejecimiento en botella, las diferencias entre los vinos aumentan.





## **VII. BIBLIOGRAFÍA**

## VII. BIBLIOGRAFIA

1. Abril, I., Casp, A. (1999). Los compuestos fenólicos del vino. Alimentación, equipos y tecnología: 97 103.
2. Absalon, C., Vivas, N., Benoist, F., Bourgeois, G. (2000). Mise au point d'un modèle de chauffe: Application à l'estimation du potentiel aromatique du bois. V<sup>o</sup> Colloque des Sciences et Techniques de la Tonnellerie, 27 29.
3. Absalon, C., Benoist, F., Bourgeois, G., Vivas, N. (2003). Mise au point d'un modèle de chauffe: Application à l'estimation du potentiel aromatique du bois. Revue française des oenologues, 109: 38-40.
4. Aiken, J.W., Noble, C. (1984). Composition and sensory properties of Cabernet Sauvignon wine aged French versus American oak barrels. *Vitis*, 23: 27 36.
5. Alañón, M.E., Castro, L., Díaz, M.C., Gordon, M.H., Pérez, M.S. (2011), A study of the antioxidant capacity of oak wood used in wine ageing and the correlation with polyphenol composition. *Food Chemistry*. 128: 997 1002.
6. Alberto, M.R., Farías, M.E. y Manca, M.C. (2001) Effect of gallic acid and catechin on *Lactobacillus hilgardii* growth and metabolism of organic compounds, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*., 49: 4359 4363.
7. Aleixandre, J.L., García, M.J. (1991). La madera de roble y su utilización en enología. *Vitivinicultura*, 9: 29 39.
8. 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.
9. Alonso, E., Estrella, M.I. y Revilla, E. (1986). HPLC separation of flavonol glycosides in wines. *Chromatographia*, 22(7-12):268 270.
10. Alonso, M. (1995). Análisis comparativo del contenido de ácidos fenólicos libres en hojas de horizonte A0 suelo de Eucaliptos. Serie Recursos Naturales. Comunicaciones INIA.
11. Amati, A., Arfelli, G., Castellari, M. y Simoni, M. (2000). Effetto dell'ossigenazione controllata sulla frazione fenolica dei vini rossi. *Industrie delle Bevande*, 29: 606 612.
12. Amira, H., Chira, K., Richard, T., Teguche, M., Furiga, A., Monti, J. P., et al. (2006). Hopeaphenol: The first resveratrol tetramer in wines from North Africa. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54: 9559 9564.
13. Amrani, K., Glories, Y., Mercier, M. (1994). Localisation des tanins dans la pellicule de baie de raisin. *Vitis* 33: 133 138.
14. Andary, C, Mondolot, L. (1997). Hitolocalization of plant polyphenols in tissues and cell walls. Some applications. En *Polyphenols in foods*, Aberdeen Escocia.
15. Andrades, M.S. y González, M.L. (1995). Influencia climática en la maduración de la uva: estudio de cultivares de la Rioja y de Madrid. *Monográficos Zubia*, ed. Instituto de Estudios Riojanos, 7: 79 102.
16. Anocibar, A. (2005). La microoxigenación en la elaboración de vinos. *Revista de la guía de oro de los vinos de España Bodegas y viñedos*; 2.
17. Apetrei, I.M., Rodríguez M.L., Apetrei, C. Nevarés, I. Del Álamo, M., De Saja, J.A. (2012). Monitoring of evolution during red wine aging in oak barrels and alternative method by means of an electronic panel test. *Food Research International* 45 (1): 244 249
18. Aratpisas, P., Antonopoulos, A., Stefanou, E. and Dourtoglou, V.G. (2004). Artificial aging of wines oak chips. *Food Chemistry*. 86(86): 563 570.
19. Arfelli, G., Sartini, E., Corzani, C., Fabiani, A. (2011). Chips, lees, and micro-oxygenation: influence on some flavors and sensory profile of a bottled red Sangiovese wine. *European Food Research Technology*, 233: 1 10.
20. Arozarena, I., Casp, A., Marin, R., Navarro, M. (2000). Differentiation of some Spanish wines according to variety and region base don their anthocyanin composition. *European Food Research and Technology*, 212: 108 112.

21. Arozarena, I., Ayestarán, B., Cantalejo, M. J., Navarro, M., Vera, M., Abril, I., Casp, A. (2002). Anthocyanin composition of Tempranillo, Garnacha and Cavernet Sauvignon grapes from high and low quality vineyards over two years. *European Food Research and Technology* 214: 303 309.
22. Artajona, J. (1991). Caracterización del roble según su origen y grado de tostado, mediante la utilización de GC y HPLC. *Viticultura/Enología Profesional*, 14: 61 72.
23. Asen, S., Stewart, R. N., and Norris, K. H. (1972). Copigmentation of anthocyanins in plant tissues and its effect on color. *Phytochemistry*, 11(3): 1139 1144.
24. Atanasova, B., Thomas- T., Chabonet, C., Langlois, D., Nicklaus, S., Etievant, P. (2005). Perceptual interactions in odour mixtures: odour quality in binary mixtures of woody and fruity wine odorants. *Chemical Senses*, 30: 209 217.
25. Atanasova, V., Fulcrand, H., Cheynier, V., Moutounet, M. (2002). Effect of oxygenation on polyphenol changes occurring in the course of wine-making. *Analytica Chimica Acta*, 458(1): 15 27.
26. Auw, J. M., Blanco, V., O'Keefe, S. F., Sims, C. A. (1996). Effect of processing on the phenolics and color of Cabernet Sauvignon, Chambourcin and Noble wines and juices. *American Journal of Enology and Viticulture*, 47: 279 286.
27. Bakker, J. (1985). Studies on the colors and pigments of port wines. Tesis Doctoral. The University of Bristol.
28. Bakker, J., Bridle, P., Timberlake, C.F. (1986a). Triestímulos measurements (CIELab 76) of port wine colour. *Vitis*, 25: 67 78.
29. Bakker, J., Preston, N. W. y Timberlake, C. F., (1986b). The Determination of Anthocyanins in Aging Red Wines: Comparison of HPLC and Spectral Methods. *American Journal of Enology and Viticulture*. 37(2): 121 126.
30. Bakker, J., Picinelli, A. y Bridle, P. (1993). Model wine solutions: colour and composition changes during ageing. *Vitis*, 32, p. 111-118.
31. Bakker, J. y Timberlake, C.F. (1997a). Isolation, identification and characterization of new color-stable anthocyanins occurring in some red wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45: 35 43.
32. Bakker, J., Bridle, P., Honda, P., Kuwano, H., Saito, N., Terehara, N., Timberlake, C. (1997b). Identification of a new anthocyanin occurring in some red wines. *Phytochemistry*, 44(7): 1375 1382.
33. Bakker, J., Bridle, P., Bellworthy, S., García Viguera, C., Reader, H., Watkins, S. (1998). Effect of sulfur dioxide and must extraction on color, phenolic composition and sensory quality of red table wine. *Journal of Science Food and Agriculture*, 78: 297 307.
34. Balde, A. M., Pieters, L. A., Wrang, V., Kolodziej, H., Ven der Berghe, D. A., Claeys, M., Vlietinck, A. J.(1991) Dimeric and trimeric proanthocyanidins possessing a double linked structure from *Pavetia ovariensis*. *Phytochemistry*, 30: 4129.
35. Bate, EC. (1975). Phytochemistry of proanthocyanidins. *Phytochemistry*, 14, 1107.
36. Bate, E. C. (1981). Astringent tannins of the leaves of *Geranium* species. *Phytochemistry*, 20(2), 211 216.
37. Bath, T. K., Singh, B. y Sharma, O. P. (1988). Microbial Degradation of tannins a current perspectives. *Biodegradation* 9:343 357.
38. Bautista, A. B., Fernández- J. I., López- J. M., y Gómez- E. (2004). Wine-making of high coloured wines: extended pomace contact and run-off of juice prior to fermentation. *Food Science and Technology International*, 10(5), 287 295.
39. Bautista, A.B. (2005). Técnicas enológicas para la obtención de vinos de Monastrell de alto contenido polifenólico. Tesis Doctoral. Universidad de Murcia.
40. Belitz, H. D. y Grosch, W. (1988). *Química de los alimentos*. Ed. Acribia España: Zaragoza.
41. Benabdeljalil, C., V. Cheynier, H. Fulcrand, A. Hakiki, M. Mosaddak, M. Moutounet. (2000). Mise en évidence de nouveaux pigments formés par réaction des anthocyanes avec des métabolites de levures. *Sci. Aliments* 20:203 220.
42. Berké, B., De Freitas, V. A. (2005). Influence of procyanidin structures on their ability to complex with oenin. *Food chemistry*, 90(3), 453 460.
43. Bermúdez, J. (2002). La utilización de la Madera en la industria alimentaria. *CSI madera*, 9 (2º semestre): 24 41.
44. Béteau, J. (2007) Los chips de roble como herramienta de vinificación y crianza. IV Encuentro enológico. (Madrid): 204 208.

45. Blouin, J., Papet, N., Stonestreet, N. (2000). Étude de la structure polyphenolique des vins rouges par analyses physico chimiques et sensorielles. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, 34(1): 33 40.
46. Boidron, J. N., Chatonnet, P., Pons, M. (1988). Influence du bois sur certaines substances odorantes des vins. *Connaissance de la Vigne et du Vin*. 22: 275 294.
47. Bosso, A., Guaita, M., Vaudano, E., Di Stefano, R. (2000). Influenza dell'ossigeno sull'evoluzione dei composti fenolici durante la conservazione dei vini rossi. *Industrie delle Bevande*, 29: 630 640.
48. Boulton, R. (1996). A method for the assessment of copigmentation in reed wines. Presented at the Forty seventh Annual Meeting of the American Society for Enology and Viticulture, Reno, NV.
49. 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.
50. Bourzeix, M., Weyland, D., Heredia, N., Desfeux, C. (1986). Étude des catéchines et des procyanidols de la grappe de raisin, du vin et d'autres dérivés de la vigne. *Bulletin de l'O.I.V.*: 669 670.
51. Bravo L. (1998). Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Review Nutrition Reviews*. 56(11):317 33.
52. Brouillard, R., y Dubois, J. E. (1977a). Mechanism of the structural transformations of anthocyanins in acidic media. *Journal of the American Chemical Society*, 99(5): 1359 1364.
53. Brouillard, R., y Delaporte, B. (1977b). Chemistry of anthocyanin pigments. 2. Kinetic and thermodynamic study of proton transfer, hydration, and tautomeric reactions of malvidin 3-glucoside. *Journal of the American Chemical Society*, 99(26): 8461 8468.
54. Brouillard, R. (1982). Chemical structure of anthocyanins: Anthocyanins as food color. Academic Press, New York: 1 40.
55. Brouillard, R., Mazza, G., Saad, Z., Albrecht, A.M., Cheminat, A. (1989). The copigmentation reactions of anthocyanins: a microprobe for the structural study of aqueous solutions. *Journal. American Chemistry Society*, 111: 2604 2626.
56. Brouillard, R., Wigand, M.C., Dangles, O., Cheminat, A. (1991). pH and solvent effects on the copigmentation reaction of malvin with polyphenols, purine and pyrimidine derivatives. *Journal Chemistry Society Perkin*, 2: 1235 1241.
57. Brouillard, R., Chassaing, S., Fougères, A. (2003). Why are grape/fresh wine anthocyanins so simple and why is it that red wine color lasts so long?. *Phytochemistry*, 64(7): 1179 1186.
58. Burroughs, L. F., Sparks, A. H. (1973). Sulphite-binding power of wines and ciders. I. Equilibrium constants for the dissociation of carbonyl bisulphite compounds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 24(2): 187 198.
59. Butler, LG. (1992) Protein polyphenols interaction: nutritional aspects. En *Proceedings of grape polyphenol*, 16(2): 11 18
60. Cabanillas, P., Canals, J.M., Rozès, N., Arola, L., Zamora, F. (2001). Influencia de la microoxigenación en el color y las características organolépticas de los vinos tintos. *Tecnología del Vino*: 51 55. [www.alcion.es](http://www.alcion.es)
61. Cabañes, Alicia (2007). Seguimiento del oxígeno disuelto durante el envejecimiento de un vino tinto mediante el uso de chips y microoxigenación. TFC.Universidad de Valladolid.
62. Cacho, J.F., Castells, J. E., Esteban, A., Laguna, B, Sagristá, N. (1995). Iron, copper, and manganese influence on wine oxidation. *American Journal of Enology and Viticulture*, 46:380 384.
63. Cacho, J.F. (2003). El vino, su composición y nuestros sentidos. Discurso de ingreso en la Academia de Ciencias Exactas, Físicas, Químicas y Naturales de Zaragoza.
64. Cacho, J. F. (2006). Evolución del perfil volátil del vino tinto durante su crianza en barricas de roble. Parte I. *ACE revista de enología*.
65. Cadahía, E., Muñoz, L., Fernández, B., García, M.C. (2001a). Changes in low molecular weight phenolic compounds in Spanish, French and American oak during natural seasoning and toasting. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, (49): 1790 1798.
66. Cadahía, E., Varea, S., Muñoz, L., Fernández, B., García, M.C. (2001b). Evolution of ellagitannins in Spanish, French and American oak during natural seasoning and toasting. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49: 3677 3684.

67. Cadahía, E., Fernández De Simón, B. (2002). Variación de la composición fenólica de madera de duramen de roble español después del proceso de tostado: comparación con madera de roble francés y americano. Departamento de Industrias Forestales: 608 614.
68. Cadahía, E., Fernández de Simón, B., Galocha, J. (2003). Volatile compounds in Spanish, French and American oak after natural seasoning and toasting. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, (51): 5923 5932.
69. Cadahía E., Fernández de Simón B. (2004) Utilización del roble español en el envejecimiento de vinos. Comparación con roble francés y americano. Ed. INIA. Monografías INIA Serie Forestal (10): 1 136.
70. Cadahía, E., Fernández, B., Vallejo, R., Sanz, M., Broto, M. (2007). Volatile compound evolution in Spanish oak wood (*Quercus petraea* and *Quercus pyrenaica*) during natural seasoning. *American journal of enology and viticulture*, 58(2): 163 172.
71. Cadahía, E., Fernández, 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. Ed. Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria. Ministerio de Ciencia e Innovación, (18): 5 175.
72. Cai, Y., Evans, F. J., Robert, M. F., Phillipson, J. D., Zenk, M. H., Gleba, Y. (1991). Polyphenolic compounds from *Croton lechleri*. *Phytochemistry*, 30(6): 2033-2040.
73. Canals, R., Llaudy, M.C., Valls, J., Canals, J.M., Zamora, F. (2005). Influence of ethanol concentration on the extraction of colour and phenolic compounds from the skin and seeds of Tempranillo grapes at different stages of ripening. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 4019 4025.
74. Canas, S., Caldeira, I., Belchior, A. P., (2009). Comparison of alternative systems for the ageing of wine brandy. Oxygenation and wood shape effect. 24(1): 33 40.
75. Cano, M., Pardo, F., López, J.M., 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: 325 331.
76. Cano, M., Pardo, F., López, J.M., Gómez, E. (2007). Chromatic characteristics and anthocyanin profile of a microoxygenated red wine after oak or bottle maturation. *European Food Research and Technology*, 225: 127 132.
77. Casado, L. (2002). Determinación de compuestos fenólicos de bajo peso molecular en vinos tintos. Trabajo de Licenciatura. E. T. S. Ingenierías Agrarias (Palencia).
78. Casassa, F., Sari, S. (2006a) Aplicación del sistema Cie-Lab a los vinos tintos. Correlación con algunos parámetros tradicionales. *Revista Enología*, 5: 56 62.
79. Casassa, F., Catania, C. (2006b). Piranoantocianos, nuevos pigmentos en los vinos tintos. Aspectos científicos e implicaciones tecnológicas. *Revista Enología*, 3(3): 40 47.
80. Casavecchia, C., Magnisi, R., LaPera, L., Maisano, R., Dugo, G. (2007). Classification of sicilian red wines from autochthonous and allochthonous cultivars according to anthocyanin pattern. *American Journal of Enology and Viticulture*, 58 (2): 286 290.
81. Castellari, M., Arfelli, G., Riponi, C., Amati, A. (1998). Evolution of phenolic compounds in red winemaking as affected by must oxygenation. *American Journal of Enology and Viticulture*, 49: 91 94.
82. Castellari, M., Matricardi, L., Arfelli, G., Galassi, S., Amati, A. (2000). Level of single bioactive phenolics in red wine as a function of the oxygen supplied during storage. *Food Chemistry*, 69: 61 67.
83. Castellari, M., Simonato, B., Torielli, G.B., Spinelli, P., Ferrarini, R. (2004). Effects of different enological treatments on dissolved oxygen in wines. *Italian Journal of Food Science*, 3: 387 397.
84. Castia, T., Franco, M. A., Mattivi, F., Muggiolu, G., Sferlazzo, G., Versini, G. (1992). Characterization of grapes cultivated in Sardinia: chemometric methods applied to the anthocyanic fraction. *Sciences des Aliments*, 12: 239 255.
85. Catania, A. (2009). Influencia de cuatro alternativas de crianza en roble sobre el color, la composición polifenólica y las características organolépticas de vinos malbec y cabernet sauvignon. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Cuyo.

86. Cejudo, M.J., Hermosin, I., Perez, 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.
87. Cejudo, M.J., Hermosin, I., Perez, 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.
88. Celayeta, G., Suberviola, J. (2003). Microoxigenación en barrica de roble de vinos tintos de calidad. XVIII Reunión del Grupo de Trabajo de Experimentación en Viticultura y Enología (Villafranca del Penedes): 83 91.
89. Chassaing, S., Lefeuvre, D., Jacquet, R., Jourdes, M., Ducasse, L., Galland, S., Quideau, S. (2010). Physicochemical Studies of New Anthocyanic Ellagitannin Hybrid Pigments: About the Origin of the Influence of Oak C-Glycosidic Ellagitannins on Wine Color. *European Journal of Organic Chemistry*, (1): 55 63.
90. Chatonnet, P., Boidron, J.N. (1989a). Incidence du traitement thermique du bois de chêne sur sa composition chimique. 1ere Partie: Définition des paramètres thermiques de la chauffe des fûts en tonnellerie. *Connaissance de la Vigne et Vin*, 23(2): 77 87.
91. Chatonnet, P., Boidron, J.N., Pons, M., (1989b), 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 Vin*, 23(4): 223 250.
92. Chatonnet, P., Boidron, J.N., Dubourdiou, D. (1992), Incidence des conditions de fermentations et d'élevage des vins blancs secs en barriques sur leur composition en substances cédées par le bois de chêne. *Science des Aliments*. 12 665 680.
93. Chatonnet, P., Boidron, J.N., Dubourdiou, D. (1993). Maîtrise de la chauffe de brûlage en tonnellerie: Application à l'élevage des vins en barriques. *Revue Française d'Oenologie*. 144: 41 54.
94. Chatonnet, P., Boidron, J.N., Dubourdiou, D. (1994). Nature et evolution de la microflore du bois de chêne au cours de son séchage et de son vieillissement a l'air libre. *Journal International Science Vigne Vin*, 28: 185 201.
95. Chatonnet, P. (1995). Influence des procédés de tonnellerie et des conditions d'élevage sur la composition et la qualité des vins élevés en fûts de chêne. Tesis Doctoral. Université de Bordeaux II.
96. Chatonnet, P., Ricardo-Da-Silva, J.M., Dubourdiou, D. (1997). Influence de l'utilisation de barriques en chêne sessile européen (*Quercus petraea*) ou en chêne blanc américain (*Quercus alba*) sur la composition et la qualité des vins rouges. *Revue française d'oenologie*, 165: 44 48.
97. Chatonnet, P., Cutzach, I., Pons, M., Dubourdiou, D. (1999). Monitoring toasting intensity of barrels by chromatographic analysis of volatile compounds from toasted oak wood. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47: 4310 4318.
98. Chatonnet, P. (2007) Productos alternativos a la crianza en barrica de los vinos. Influencia de los parámetros de fabricación y de uso. IV Encuentro enológico. (Madrid): 234 251.
99. Chatonnet, P., Fleury, A., and Boutou, S. (2010). Origin and incidence of 2-methoxy-3, 5-dimethylpyrazine, a compound with a "fungal" and "corky" aroma found in cork stoppers and oak chips in contact with wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(23): 12481 12490.
100. Cheminat, A., Brouillard, R. (1986). PMR investigation of 3-O-( $\beta$ -D-glucosyl) malvidin structural transformations in aqueous solutions. *Tetrahedron Letters*, 27(37): 4457 4460.
101. Chen, C.L. (1970). Constituents of *Quercus alba*. *Phytochemistry*, 9:1149.
102. Cheynier, V., Rigaud J. (1986). Identification et dosage des flavonols du raisin. *JIEP* 86: 442 444
103. Cheynier, V., Da Silva, R. (1991). Oxidation of grape procyanidins in model solutions containing trans caffeoyltartaric acid and polyphenol oxidase. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 39: 1047 1049.
104. Cheynier, V. (2000a). Tannins in grape and grape products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*: 100 104.
105. Cheynier, V., Moutounet, M., Sarni Manchado, P. (2000b). Los compuestos fenólicos en enología: Fundamentos científicos y tecnológicos" EdC. Flanzzy, AMV Ediciones, Madrid.
106. Cheynier, V. (2001). Grape polyphenols and their reactions in wine. *Polyphénols Actualités*, 21.
107. Cheynier, V., Moutounet, M., Sarni, P. (2003). Los compuestos fenólicos. En: AMV Ediciones and Mundi-Prensa. *Enología: Fundamentos científicos y tecnológicos*. Madrid, España: 114 133.

108. Chung, K.T. Wong, T.Y. Wei, C.I. Huang, Y.W., Lin, Y. (1998) Tannins and human health: a review. *A Review Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 38(6):421 464,
109. CIE (Comission Internationale de l'Eclairage), (1986). *Colorimetry*. Viena: CIE central Bureau, Public, 15.(2).
110. Clark Jr, L. C., Fox, R. P., Morin, R., and Benington, F. (1956). Effects of psychotomimetic compounds on certain oxidative and hydrolytic enzymes in mammalian brain. *The Journal of nervous and mental disease*, 124(5): 466 472.
111. Clark, W.M. (1960). *Oxidation reduction potentials of organic systems*. Williams and Wilkins, Baltimore: 470.
112. Clifford, M.N. (1992) Sensory and dietary properties of phenols. En *Proceedings of the 16th International Conference of Grape Polyphenol*, 16(2): 18 23
113. Cutzach, I., Chatonnet, P., Henry, R., Dubourdiou, D. (1997). Identification of volatile compounds with a « toasty » aroma in heated oak wood in barrel making. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45: 2217 2224.
114. Cutzach, I., Chatonnet, P., Dubourdiou, D. (2000). Influence of storage conditions on the formation of some volatile compounds in white fortified wines (vins doux naturels) during the aging process. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(6): 2340 2345.
115. Dallas, C., Ricardo da Silva, J.M. Laureano, O. (1995). Degradation of oligomeric procyanidins and anthocyanins in a Tinta Roriz red wine during maturation. *Vitis* 34(1): 51 56.
116. Dangles, O., Brouillard, R. (1992a). Polyphenol interactions. The copigmentation case: thermodynamic data from temperature variation and relaxation kinetics. Medium effect. *Canadian Journal of Chemistry*, 70(8): 2174 2189.
117. Dangles, O., Brouillard, R. (1992b). A spectroscopic method based on the anthocyanin copigmentation interaction and applied to the quantitative study of molecular complexes. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2*, (2): 247 257.
118. Dangles, O., Fargeix, G., Dufor, C. (2000). Antioxidant properties of anthocyanins and tannins: A mechanistic investigation with catechin and the 3', 4'7 trihydroxyflavylium ion. *Journal Chemistry Society Perkin Trans*:1653 1663.
119. Danilewicz, J. C. (2003). Review of reaction mechanisms of oxygen and proposed intermediate reduction products in wine: Central role of iron and copper. *American Journal of Enology and Viticulture*, 54(2): 73 85.
120. Darias, J., Carrillo, M., Díaz, E., Boulton, R. (2001). Enhancement of red wine colour by pre-fermentation addition of copigments. *Food Chemistry*, 73(2): 217 220.
121. Darias, J., Martín, B., Carrillo, M., Lamuela, R., Díaz, C., Boulton, R. (2002). Effect of caffeic acid on the color of red wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(7): 2062 2067.
122. De Beer, D., Joubert, E., Marais, J., Du Toit, W., Fourie, B., Manley, M. (2008). Characterisation of Pinotage wine during maturation on different oak products. *South African journal for Enology and Viticulture* 20(1): 39 49.
123. De Castro, R. (2002). Evolución de la composición fenólica y del color en el vino tinto D.O. Cigales durante su envejecimiento. Trabajo de Licenciatura. E. T. S. Ingenierías Agrarias (Palencia).
124. Del Álamo, M. (1997). Envejecimiento en barrica de roble de vino tinto de la D.O. Ribera del Duero. Estudio de la evolución de los monosacáridos y sus relaciones con los compuestos fenólicos y los porcentajes de color. Tesis Doctoral. Universidad de Valladolid.
125. Del Álamo, M., Bernal, J. L., Gomez, C., (2000a). 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.
126. Del Álamo, M., Bernal, J. L., Del Nozal, M. J., Gómez, C., (2000b) Red wine aging in oak barrels: evolution of the monosaccharides content. *Food Chemistry*, 71: 189 193.
127. Del Álamo, M., Bernal, J. L., Gomez, C. (2000c), Behavior of monosaccharides, phenolic compounds, and color of red wines aged in used oak barrels and in the bottle. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48; 4613 4618
128. Del Álamo 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. Viticultura y Enología Profesional*. 82: 41 48.

129. Del Álamo, M., Fernandez, J. A., 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.
130. Del Álamo, M., Nevares, I., Merino, S. (2004b). Influence of different aging systems and oak woods on aged wine color and anthocyanin composition. *European Food Research Technology*, 219(2): 124-132.
131. Del Álamo, M., Casado, L., Hernandez, V., Jimenez, 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.
132. Del Álamo, M., Nevares, I., Carcel, L. M., 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.
133. Del Álamo, M., Fernandez, J. A., Merino, S., Nevares, I., Navas, L.M., Carcel, L.M. (2006a). Envejecimiento de vinos tintos en sistemas alternativos a las barricas de roble. *Parametros basicos y edad quimica. Viticultura y Enología Profesional*, 104: 27-33.
134. Del Álamo, M. (2006b). Sistemas alternativos al envejecimiento en barrica. *ACE Revista de enología*. [www.acenologia.com](http://www.acenologia.com)
135. Del Álamo, M., Nevares, I. (2006c). Wine aging in bottle from artificial systems (staves and chips) and oak woods: Anthocyanin composition. *Analytica Chimica Acta*, 563: 255-263.
136. Del Álamo, M., Nevares, I., Cárcel, L.M. (2006d). Redox potential evolution during red wine aging in alternative systems. *Analytica Chimica Acta*, 563: 223-228.
137. Del Álamo, M., Nevares, I., Merino, S., Gallego, L., Martín, C. (2008a). Evolution of red wine composition during aging tank with oak chips and micro-oxygenation. *Italian Food and Beverage Technology*, 52: 16-22.
138. Del Álamo, M., Nevares, I., Gallego, L., Martín, C., Merino, S. (2008b). Aging markers from bottled red wine aged with chips, staves and barrels. *Analytica Chimica Acta*, 621(1): 86-99.
139. Del Álamo, M., Nevares, I., Gallego, L., Fernandez, B., Cadahia, 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.
140. Del Álamo, M., Nevares, I. (2014). Recent advances in the evaluation of the oxygen transfer rate in oak barrels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62: 8892-8899.
141. Del Álamo, M., Laurie, V. F., Nevares, I. (2015). Wine evolution and spatial distribution of oxygen during storage in high-density polyethylene tanks. *Journal of the Science of Food and Agriculture Journal Science Food Agricultural*, 95(6), 1313-1320.
142. De Coninck, G., Jordao, A. M., Ricardo Da Silva, J. M., 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.
143. De La Calle, C. (2001). Caracterización fenólica de los vinos jóvenes de V.T Tierra de Medina. Trabajo académico dirigido. Licenciatura de. Enología. Universidad de Valladolid.
144. De la Hera, M. L., Pérez, L. J., Fernández, J. I., Martínez, A., López, J. M., Gómez, E. (2002). Partial rootzone drying. Una experiencia española para la variedad Monastrell. *Viticultura y Enología Profesional*, 83: 70-76.
145. De la Hera, M. L., Martínez, A., Lopez, J. M., Pérez, L. J., Gomez, E. (2005). Effect of deficit irrigation on anthocyanin content of Monastrell grapes and wines. *Journal international des sciences de la vigne et du vin*, 39(2): 47-55.
146. De Simón, B.F., Hernández, T., Cadahía, E., Dueñas, M., Estrella, I. (2003) Phenolic compounds in a Spanish red wine aged in barrels made of Spanish, French and American oak wood. *European Food Research Technology*, 216: 150-156.
147. De Simón, B. F., Sanz, M., Cadahía, E., Martínez, J., Esteruelas, E., Muñoz, A. M. (2014). Polyphenolic compounds as chemical markers of wine ageing in contact with cherry, chestnut, false acacia, ash and oak wood. *Food Chemistry*, 143: 66-76.
148. Di Stefano, R. (1995). Extraction of phenolics from grape solids during fermentation. *Acta Horticulturae*, 388: 163-170.
149. Díaz, E.M., Pardo, F., Reyero, J.R., Alonso, G., Salinas, R. (2004). Efecto del roble americano y francés en la calidad y el aroma de vinos de crianza. *Enólogos*, 32: 40-43.



150. Díaz, M.C., Guchu, E., Castro, L., De Torres, C., Pérez, M.S. (2008). Aroma-active compounds of American, French, Hungarian and Russian oak woods, studied by GC-MS and GC-O. *Flavour Frag. J.*, 23: 93 98.
151. Dournel, J.M. (1985). Recherches sur les combinaciones anthocyanes flavanols. Influence de ces reactions sur la couleur des vins rouges. Tesis Doctoral, Université de Bordeaux II.
152. Doussot, F., De Jéso, B., Quideau, S., Pardon, P. (2002) Extractives content in cooperage oak wood during natural seasoning and toasting, Influence of tree species, geographic location, and single tree effects. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50: 5955 5961.
153. Du Toit, W.J., Pretorius, I.S., Lonvaud, A. (2005). The effect of sulphur dioxide and oxygen on the viability and culturability of a strain of *Acetobacter pasteurianus* and a strain of *Brettanomyces bruxellensis* isolated from wine. *Journal of applied microbiology*, 98(4): 862 871.
154. Du Toit, W., Marais, J., Pretorius I., Du Toit, M. (2006) Oxygen in must and wine: A review. *South African Journal Enology and Viticulture*, 27(1):76 94.
155. Dubois, P. (1989). Apports du fût de chêne neuf a l'arôme des vins. *Revue française d'oenologie*, 120: 19 24.
156. Dubourdiou, D. (1992). Vinification des vins blancs secs en barriques. En "Le bois et la qualité des vins et des eaux de vie". *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*: 137 143.
157. Ducournau, P., Chassin, M., Lemaire, T. (1999). Chips as a factor of quality. *American Journal of Enology and Viticulture*, 50: 544 546.
158. Eiro, M.J., Heinonen, M. (2002) Anthocyanin color behavior and stability during storage: Effect of intermolecular copigmentation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 7461 7466.
159. Escribano, M. T. (1993) Estudio de la composición flavánica de la semilla de uva. Tesis Doctoral. Facultad de Farmacia. Universidad de Salamanca.
160. Escribano, T., Dangles, O., Brouillard, R. (1996). Coupling reactions between flavylum ions and catechin. *Phytochemistry*, 41: 1583 1592.
161. Escribano, M. T., Santos, C., Francia, E. M., Rivas, J. C., Heredia, F. J. (1999). Flavanol-anthocyanin copigmentation and colour quality. In *Pigments in Food Technology. Proceeding of the first International congress PFT*. 317 322
162. Escribano, M.T., Álvarez, M., Rivas, J., Heredia, F., Santos, C. (2001). Colour and stability of pigments derived from the acetaldehydemediated condensation between malvidin 3 o glucoside and (+) catechin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 49: 1213 1217.
163. Escudero, A., Asensio, E., Cacho, J., Ferreira, V. (2002). Sensory and chemical changes of young white wines stored under oxygen. An assessment of the role played by aldehydes and some other important odorants. *Food Chemistry*, 77(3): 325 331.
164. Es-Safi, N. E., Fulcrand, H., Cheynier, V., 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: 2096 2102.
165. Es-Safi, N. E., Cheynier, V., and Moutounet, M. (2000). Study of the reactions between (+)-catechin and furfural derivatives in the presence or absence of anthocyanins and their implication in food color change. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(12): 5946 5954.
166. Es-Safi, N. E., Cheynier, V. (2004). Flavanols and anthocyanins as potent compounds in the formation of new pigments during storage and aging of red wine. In *ACS symposium series*. Oxford University Press, 886: 143 159.
167. Esteban, M. A., Villanueva, M. J., Lissarrague, J. R. (2001). Effect of irrigation on changes in the anthocyanin composition of the skin of cv. Tempranillo (*Vitis vinifera* L.) grape berries during ripening. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81: 409 420.
168. Fang, F., Li, J. M. et al. (2007). Determination of red wine flavonoids by HPLC and effect of aging. *Food Chemistry* 101(1): 428 433.
169. Fernández, B., Pérez, J., Hernández, Y., Gomez, C., Estrella, I. (1990). HPLC study of the efficiency of extraction of phenolic compounds. *Chomatographia*, 30: 35-39.
170. Fernández, B., Cadahía, E., Conde, E., García, M. C. (1996). Low molecular weight phenolic compounds in Spanish oakwoods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 44: 1507 1511.
171. Fernández, B., Cadahia, E., Conde, E., García, C. (1999a). Ellagitannins in woods of Spanish, French and American oaks. *Holzforschung*, 53(2): 147-150.

172. Fernández, B., Cadahia, E., Conde, E., García, C. (1999b). Evolution of phenolic compounds of Spanish oak wood during natural seasoning. First results. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47: 1687-1694.
173. Fernández, B., Cadahía, E., Jalocha, J. (2003a). Volatile Compounds in Spanish red wines aged in barrels made of Spanish, French and American oak wood. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 7671-7678.
174. Fernández, B., Hernández, T., Cadahía, E., Dueñas, M., Estrella, I. (2003b). Phenolic compounds in a Spanish red wine aged in barrels made of Spanish, French and American oak wood. *European Food Research Technology*, 216: 150-156.
175. Fernández, B. (2004). La madera en el envejecimiento de los vinos. *Viticultura/Enología Profesional*, 92: 45-53.
176. Fernández, B., Cadahia, E., Hernandez, T., 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.
177. Fernández, B., Cadahía, E. (2007). Tratamiento de la madera de roble para tonelería. Informe Técnico. IV Encuentro Enológico. Crianza en barricas y otras alternativas. Ed. Fundación para la Cultura del Vino. Madrid: 9-23
178. Fernández, B., Cadahia, E., Sanz, M., Poveda, P., Pérez, S., Ortega, M., Gonzalez, 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.
179. Fernández, B., Cadahía, E., Del Álamo, M., 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: 211-220.
180. Fernández, J.L., Cadahía, E. (1999). Características físicas y químicas de la madera de roble para la fabricación de barricas. Jornada técnica la barrica de roble como factor de calidad en la crianza de los vinos tintos, CIDAd de la Rioja, Ed. Gobierno de la Rioja, Cegyde; 13-66.
181. Feuilat, F. (1996). Contribution a l'étude des phenomenes d'échanges bois/vin/atmosphere a l'aide d'un "fut" modele. Tesis Doctoral, l'Engref: 396.
182. Feuilat, F., Keller, R., Masson, G., Puech, J.L. (1998) Bois de chêne. En "Œnologie: Fondements scientifiques et technologiques". Ed Claude Flancy, Lavoisier, París: 1002-1027.
183. Feuilat, F., Keller, R., Sauvageot, F., 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.
184. Feuilat, M. (1982). L'élevage des vins de Bourgogne en fûts de chêne. R.F.O.E., 88 bis: 17-29.
185. Feuilat, M. (1999). Élevage des vins blancs: incidence aromatique des fermentations en fût et d'autolyse des levures. *Revue Française d'Oenologie*. 174:19-23.
186. Fischer, U., Strasser, M. (1999). Tannin management. I. Body, fullness and firmness. *Deutsche Weinmagazin*, 18, p. 36-39.
187. Flancy C. (2000). *Enología: Fundamentos científicos y tecnológicos*. Ed. Mundi Prensa. Madrid.
188. Fougère, M., Cholet C., Bouard J. (1996) Evolution des parois des cellules de l'hypoderme de la baie de raisin lors de leur transformation en cellules de pulpe. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin* 30 (2): 47-51.
189. Francia, E. M., Guerra, M. T., Rivas, J. C., and Santos, C. (1997). New anthocyanin pigments formed after condensation with flavanols. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(6), 2262-2266.
190. Francis, I.L., Sefton, M.A., Williams, P. J. 1992. A study by sensory descriptive analysis of the effects of oak origin seasoning, and heating of the aromas of oak model wine extracts. *American Journal of Enology and Viticulture* 43 (1): 23-30.
191. Frangipane, M. T., De Santis, D., 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.
192. Frankel E. N., Waterhouse A. L., Teissedre P. L. (1995) Principal phenolic phytochemicals in selected California wines and their antioxidant activity in inhibiting oxidation of human low-density lipoproteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 43: 890-894.

193. Frankel, E. N. (1996). Potential health benefits of grape and wine antioxidants. Medically, is wine just another alcoholic beverage. In C. S. Stockley (Ed.), Proceedings of the Wolf Blass foundation international wine and health conference: 45-49.
194. Fulcrand, H., Doco, T., Es-Safi, N. E., Cheynier, V., Moutounet, M. (1996a). Study of the acetaldehyde induced polymerisation of flavan-3-ols by liquid chromatography-ion spray mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 752, 85-91.
195. Fulcrand, H., Cameira, P.J., Sarni, P., Cheynier, V., Favre, J. (1996b). Structure of new anthocyanin derived wine pigments, *Journal Chemistry Society Perkin Trans 1*: 735-739.
196. Fulcrand, H., Cheynier, V., Oszmianski, J., Moutounet, M. (1997). An oxidized tartaric acid residue as a new bridge potentially competing with acetaldehyde in flavan-3-ol condensation. *Phytochemistry*, 46: 223-227.
197. Fulcrand, H., Benabdeljalil, C., Rigaud, J., Cheynier, V., Moutounet, M. (1998). A new class of wine pigments generated by reaction between pyruvic acid and grape anthocyanins. *Phytochemistry*, 47: 1401-1407.
198. Fulcrand, H., Dueñas, M., Salas, E., Cheynier, V. (2006). Phenolic reactions during winemaking and aging. *American Journal of Enology and Viticulture*, 57(3): 289-297.
199. Furtado, P., Figueredo, P., Chaves, H. y Pina, F. (1993). Photochemical and thermal degradation of anthocyanidins. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 75(2): 113-118.
200. Gallego, L., Nevares, I., Fernández, J.A., Del Álamo, M. (2011). Determination of low-molecular mass phenols in red wines: The influence of chips, staves and micro-oxygenation aging tank. *Food Science Technology International*, 17:429-438.
201. Gallego, L., Del Álamo, M., Nevares, I., Fernández, J.A., Fernández de Simón B. y Cadahia E., (2012). Phenolic compounds and sensorial characterization of wines aged with alternative to barrel products made of Spanish oak wood (*Quercus pyrenaica* Willd.). *Food Science Technology International*. 18, 2: 151-165.
202. Gallego, L. (2013). 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. Tesis Doctoral. Universidad de Valladolid. Instituto Universitario De Investigación Y Gestión Forestal Sostenible Palencia.
203. Galvin, C. (1993). Etude de certaines réactions de dégradation des anthocyanes et leur condensation avec les flavanols, conséquences sur la couleur des vins. Tesis Doctoral, Université de Bordeaux II.
204. Gambuti, A., Capuano, R., Lisanti, M.T., Strollo, D., Moio, L. (2010). Effect of aging in new oak, one-year-used oak, chestnut barrels and bottle on color, phenolics and gustative profile of three monovarietal red wines. *European Food Research Technology*, 231: 455-465.
205. García, B. (2005) Absorción in vivo de oligómeros de epicatequina. *Bioquímica y Tecnología*. Tesis Doctoral. Tarragona, Rovira i Virgili: 254.
206. García, E., Revilla, E., Cabello, F. (2002). Anthocyanin pattern of several red grape cultivars and wines made from them. *European Food Research Technology*, 215(1): 32-37.
207. Garde, T., Rodríguez, S., and 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.
208. Garde, T., Torrea, D. y Ancin, C., (2004). Accumulation of volatile compounds during ageing of two red wines with different composition. *Journal of Food Engineering*, 65(3): 349-356.
209. Garde, T., Ancín, C. (2006). Effect of oak barrel type on the volatile composition of wine: storage time optimization. *Food Science Technology*, 39(3): 199-205.
210. Garriga, A. y Zamora, C. (2002) Medición no estructurada en la evaluación sensorial del vino. *Revista ACE Enología*. [www.acenologia.com](http://www.acenologia.com)
211. Gerland, C. (2005). Optimización de la micro oxigenación gracias a la lisozima. *Infowine.com*, *Revista Internet de Viticultura y Enología*, 10: 1-5
212. Gil, R., Gómez, E., Martínez, A., López, J.M. (1997). Evaluation of the CIELab and other spectrophotometric parameters during wine fermentation. Influence of some pre and postfermentative factors. *Food Research International*, 30 (9): 699-705.
213. Gil, R., Gómez, E., Martínez, A., López, J. M. (1999). Evolution of phenolic compounds during wine fermentation and postfermentation: influence of grape temperature. *Journal of Food Composition Analysis*, 12: 259-272.

214. Gilbert, T. W., Behymer, T. D., Castaneda, H. B. (1982) Determination of dissolved oxygen in natural and wastewaters: American Laboratory. [www.chemetrics.com](http://www.chemetrics.com)
215. Glabasnja, A., Hofmann, T. (2006) Sensory directed identification of taste active ellagitannins in American (*Quercus alba* L.) and European oak wood (*Quercus robur* L.) and quantitative analysis in bourbon whiskey and oak matured red wines., *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 54: 3380-3390.
216. Glories, Y. (1978). Recherches sur la matière colorante des vins rouges. Tesis Doctoral. Université de Bordeaux II.
217. Glories, Y. (1984a). La couleur des vins rouges. 1ère partie. Les équilibres des anthocyanes et des tanins. *Conn. Vigne Vin*, 18: 195-217.
218. Glories, Y. (1984b). La couleur des vins rouges. 2ème partie. Mesure, origine et interprétations. *Conn. Vigne Vin*, 18: 253-271.
219. Glories, Y. (1999). Substances responsible for astringency, bitterness and wine colour. *Journal International Science Vigne Vin*, 33: 107-110.
220. Goldberg, D. M., Yan, J., Ng, E., Diamandis, E. P., Karumanchiri, A., Soleas, G., Waterhouse, A. L. (1995). A global survey of transresveratrol concentration in commercial wines. *American Journal of Enology and Viticulture*. 46 (2): 159-165.
221. Goldstein J.L., Swain T. (1963). Changes in tannin in ripening fruits. *Phytochemistry*, 2: 371-383.
222. Gómez, C., González, M.L., Junquera, B. y Estrella, I. (1995). Correlation between flavonoids and color in red wines aged in wood. *American Journal of Enology and Viticulture*, 46:295-298.
223. Gómez, C. (1997). Modificadores del color de los vinos tintos. *Alimentación, equipos y tecnología*: 75-80.
224. Gómez, C., Suárez, R., Bartolomé, B. y Suárez, J. A. (2003). Características fenólicas y de color de vinos Merlot. *Tecnología del vino*, 13: 62-66.
225. Gómez, E., Gil, R., López, J. M., Martínez, A. y Fernández, J. I. (2001). Phenolic compounds and color stability of red wines: Effect of skin maceration time. *American Journal of Enology and Viticulture*, 52: 266-270.
226. Gonalves, F.J., Jordao, A.M. (2009). Changes in antioxidant activity and the proanthocyanidin fraction of red wine aged in contact with portuguese (*Quercus Pyrenaica* Willd.) and American (*Quercus Alba* L.) oak wood chips. *Journal of Food Science*, 21:51-64.
227. Gonnet, J.F. (1998). Colour effects of co-pigmentation of anthocyanins revisited-1. A colorimetric definition using CIELAB scale. *Food Chemistry*, 63: 409-415.
228. González, A. (2009) Aplicaciones de la microoxigenación. Efectos sobre el color y la composición fenólica de vinos tintos. Doctoral thesis, UPNA.
229. González, L., Pérez, F.J., Bravo, F. (1990). "Medida del color de las bebidas fermentadas y derivados. Vinos, cervezas y brandis". *Alimentaria*, Octubre '90: 59-67.
230. González, L.A., Pomar, M., García, M.J. (2006). Crianza de vinos tintos en barricas de roble. *Tecnología del Vino*, 29(6): 67-70.
231. González, M. L. (1989). Comportamiento de compuestos del metabolismo secundario en la maduración de la uva de *Vitis vinifera*. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias. Universidad Autónoma de Madrid. Instituto de Fermentaciones Industriales, CSIC.
232. González, M. L., Santa, G., Diez, C. (1990). Anthocyanins as parameters for differentiating wines by grape variety, wine growing region, and wine making methods. *Journal of Food Composition and Analysis*, 3: 54-66.
233. González, M.L., Barrón, L.J.R., Junquera, B. y Robredo, L.M. (1991). Application of principal component analysis to ripening indices for wine grapes. *Journal of Food Composition and Analysis*, 4: 245-255.
234. González, M.L., Muñoz, P. (2005). Efecto de la microoxigenación sobre la actividad antioxidante y scavenger de vinos elaborados con variedades de uva tinta representativas de Castilla y León. VIII Jornadas Tecnológicas de los grupos de investigación enología. Universidad de Valladolid, Campus de Palencia. 13., 68-70.
235. Gordillo, B., Rodríguez, F.J., Mateus, N., Escudero, M.L., González, M.L., Heredia, F.J., De Freitas, V. (2012). Application of LC-MS and tristimulus colorimetry to assess the ageing aptitude of Syrah wine in the Condado de Huelva D.O. (Spain), a typical warm climate region. *Analytica Chimica Acta*, 732: 162-171.

236. Goto, T., Kondo, T. (1991). Structure and molecular stacking of anthocyanins—flower color variation. *Angewandte Chemie International Edition in English*, 30(1): 17-33.
237. Gronbaek, M., Deis, A., Sorensen, T. I. A., Becker, U., Schnohr, P., and Jensen, G. (1995). Mortality associated with moderate intakes of wine, beer or spirits. *British Medical Journal*, 310(6988): 1165-1169.
238. Guchu, E., Díaz, M.C., Pérez, M.S., González, M.A., Ibáñez, M.C. (2006). Volatile composition and sensory characteristics of Chardonnay wines treated with American and Hungarian oak chips. *Food Chemistry*, 99:350-359.
239. Guerra, C. (1997). Recherches sur les interactions anthocyanes/flavonols: Application à l'interprétation chimique de la couleur des vins rouges. Thèse Doctoral. Université de Bordeaux II.
240. Guohua, C., Sofic, E., Ronald, L.P. (1997). Antioxidant and prooxidant behaviour of flavonoids. Structure activity relationships. *Free Radical Biology and Medicine*, 22 (5): 749-760.
241. Guymon, J. F., Crowell, E. A. (1972). GC-separated brandy components derived from French and American oaks. *American Journal of Enology and Viticulture*, 23(3): 114-120.
242. Guyot, S., Vercauteren, J., Cheynier, V. (1996). Structural determination of colourless and yellow dimers resulting from (+)-catechin coupling catalysed by grape polyphenoloxidase. *Phytochemistry*, 42(5): 1279-1288.
243. Guzmán, M. (2010). *Manual de espectrofotometría en enología*. Ed. AMV. Madrid.
244. Haba, M., Chirivella, C., Méndez, J. (1995). Características del vino de crianza según el origen del roble utilizado en la fabricación de las barricas. *Viticultura y Enología Profesional*, 37:32-37.
245. Hagerman, A., Rice, M., Ritchard, N. (1998). Mechanism of protein precipitation for two tannins, Pentagalloylglucose and Epicatechin 16(48) Catechin (Procyanidin). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46: 2590-2595.
246. Hagerman, A., Butler, L.G. (1991). Tannins and lignins, in *Herbivores: their interactions with secondary plant metabolites*. Plenum Press, San Diego, 1: 355-388.
247. Håkansson, A. E., Pardon, K., Hayasaka, Y., De Sa, M. y Herderich, M. (2003) Structures and colour properties of new red wine pigments, *Tetrahedron Lett.*, 44: 4887-4891.
248. Hale, M.H., McCafferty C., Larmie, E.D., Newton J. and Swain J.S., (1999). The influence of oak seasoning and toasting parameters on the composition and quality of wine international symposium on oak in winemaking. *American Journal of Enology and Viticulture* 50(4): 495-502.
249. Haslam, E. (1977). Symmetry and promiscuity in procyanidin biochemistry. *Phytochemistry*, 16(11): 1625-1640.
250. Haslam, E., Lilley, T. H., and Butler, L. G. (1988). Natural astringency in foodstuffs. A molecular interpretation. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 27(1): 1-40.
251. Haslam, E. (1989) *Plant polyphenols. Vegetable tannins revisited*. Cambridge University Press archive, Cambridge, UK.
252. Haslam, E. (1998). *Practical Polyphenolics. From structure to molecular recognition and physiological action*. Cambridge University Press archive, Cambridge, UK.
253. Hemingway, R.W. In: Rowe, J.W. (1989). *Natural products of Woody Plants*. Ed. Springer-Verlag, New York, 571.
254. Heras, M.O., Rivero, M.D., Pérez, S., González, C., González, M.L. (2008). Changes in the volatile composition of red wines during aging in oak barrels due to microoxygenation treatment applied before malolactic fermentation. *European Food Research Technology*, 226: 1485-1493.
255. Herosín, I. (2003). Influence of ethanol content on the extent of copigmentation in a Cencibel young red wine», *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 4079-4083.
256. Herosín, I., y García, E. (2004). Anthocyanins of red wine grape cultivars grown in the Spanish region of La Mancha: Characteristic cultivar patterns of grapes and single cultivar wines, and evolution during the ripening of the berry. *Alimentaria*, 352: 127-139.
257. Herosín, I., Sánchez, E. y Vicario, A. (2005). Phenolic composition and magnitude of copigmentation in young and shortly aged red wines made from the cultivars Cabernet Sauvignon, Cencibel, and Syrah», *Food Chemistry*, 92: 269-283.
258. Herosín, I. (2007) Copigmentación y piranoantocianos. El papel de los flavonoles y los ácidos hidroxicinnámicos en el color del vino tinto. *ACE: Revista de enología*, ISSN 1697-4123, 81.

259. Hernández, P., Franco, E., Huerta, C. G., García, J. M., Cabellos, M., Suberviola, J., Orriols, I., Cacho, J. (2014) Criteria to discriminate between wines aged in oak barrels and macerated with oak fragments. *Food Research International*, 57: 234 241
260. Hernández, T., Estrella, I., Dueñas, M., Fernández de Simón, M.B., Cadahía, E. 2007. Influence of Word origin in the polyphenolic composition of Spanish red wine aging in bottle, after storage in barrels of Spanish, French and American oak wood. *European Food Research and Technology* 224: 695 700.
261. Hertog, M.G.L., Hollman, P. C. H., Van de Putte, B. (1993). Content of potentially anticarcinogenic flavonoids in tea infusions, wine and fruit juices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41: 1242 1246.
262. Hertog, M. G. L., and Hollman, P. C. H. (1996). Potential health effects of the dietary flavonol quercetin. *European Journal of Clinical Nutrition*, 50: 63 71.
263. Hesford, F., Schneider, K. (1997). Anthocyanins, the natural red coloring matter of the wine. *Schweizerische Zeitschrift für Obst and Weinbau*, 133: 559 561.
264. Hidalgo, J. (2003). *Tratado de enología*. Tomo II. Ediciones Mundi Prensa Libros S.A. Madrid..
265. Holbach, B., Marx, R., Ackermann, M. (1997). Determination of anthocyanins composition of red wine by HPLC. *Lebensmittelchemie*, 51: 78.
266. Hoshino, T., Matsumoto, U., Harada, N., Goto, T. (1981). Chiral exciton coupled stacking of anthocyanins: Interpretation of the origin of anomalous CD induced by anthocyanin association. *Tetrahedron Lett.* 22: 3621 3624.
267. Ibern Gómez, M., Andrés Lacueva, C., Lamuela Raventós, R.M., Waterhouse, A.L. (2002). Rapid HPLC analysis of phenolic compounds in red wines. *American Journal of Enology and Viticulture*. 53: 218 221.
268. Infante, R., (1997). Polifenoles del vino y oxidabilidad de las lipoproteínas ¿blanco o tinto? *Clin. Invest. Arterioesclerosis* , 9: 19 22,
269. Inui, T., Nakahara, K., Uchida, M., Miki, W., Unoura, K., Kokeguchi, Y., y Hosokawa, T. (2004). Oxidation of ethanol induced by simple polyphenols: Prooxidant property of polyphenols. *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, 77(6): 1201 1207.
270. Iñiguez, M., Ortega, A.P., Rosales, A., Ayala, R., Puras, R. (1995). Estudio del color de los vinos tintos de la D.O.Ca.Rioja. *Monográficos Zubía*. Ed. Instituto de Estudios Riojanos. Logroño. Vol. 7: 167 186.
271. Ishi, A. , Roudnitzky, N. , Beno, N. , Bensafi, M., Hummel, T., Rouby, C., Thomas- Danguin, T. (2008). Synergy and masking in odor mixtures: an electrophysiological study of orthonasal vs. retronasal perception. *Chemical Senses*, 33: 553-561.
272. Izcarra, E. (2004). Estudio de la maduración fenólica de variedades tintas cultivadas en Castilla y León y de los vinos monovarietales elaborados con ellas. Tesis Doctoral. Universidad de Burgos.
273. Jackson, R. S. (2000). *Wine science, principles practice and perception*. Editorial academic Press, 242 254, 375 400.
274. Jones, G., Iland, P., Markides, A., Asenstorfer, R. (2003). Formation of vitisin A during fermentation and maturation. *A. J. Gr. Wine Res.* 9: 40 46.
275. Jordão, A.M., Correia, A.C., Del Campo, R., San José, M.L.G. (2012) Antioxidant capacity, scavenger activity, and ellagitannins content from commercial oak pieces used in winemaking. *European Food Research Technology*, 235: 817 825.
276. Joseph, E., y Marché, M. (1972). Contribution al 'étude du vieillissement du cognac. *Connaissance Vigne Vin*, 6: 330 373.
277. Jourdes, M., Michel, J., Saucier, C., Quideau, S., Teissedre, P.L. (2011). Identification, amounts, and kinetics of extraction of C-glucosidic ellagitannins during wine aging in oak barrels or in stainless steel tanks with oak chips. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 401(5):1535 1543.
278. Junquera, B., González, M.L. y Díez, C. (1992). El pardeamiento enzimático en uva y vino. *Revista española de ciencia y tecnología de los alimentos*, 32: 481 491.
279. Jurd, L. (1963). Reactions involved in sulfite bleaching of anthocyanins. *Food Chemistry*. 33: 225 237.
280. Kallithraka, S., Arvanitoyannis, I. S., Kefalas, P., El Zajouli, A., Soufleros, E., Psarra, E. (2001). Instrumental and sensory analysis of Greek wines, implementation of principal component analysis (PCA) for classification according to geographical origin. *Food Chemistry*, 73: 501 514.

281. Karagiannis, S., Economou, A., and Lanaridis, P. (2000). Phenolic and volatile composition of wines made from *Vitis vinifera* cv. Muscat Lefko from the island of Samos. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48: 5369-5375.
282. Katalinic, V., Males, P. (1997). Compositional changes in grape polyphenols throughout maturation. *Journal of Wine Research*, 8: 169-177.
283. Keller, M., Hrazdina, G. (1998). Interaction of nitrogen availability during bloom and light intensity during veraison. II. Effects on anthocyanin and phenolic development during grape ripening. *American Journal of Enology and Viticulture*, 49: 341-349.
284. Keller, R. (1987) *Differentes varietes de chine et leur repartition dans le monde*, *Connaissance De La Vigne et du Vin*, 21(3):191-229.
285. Kepner, R. E., Webb, A. D., Muller, C. J. (1972). Identification of 4-Hydroxy-3-Methyloctanoic Acid Gamma-Lactone [5-Butyl-4-Methyl-dihydro-2-(3H)-Furanone] as a Volatile Component of Oak-Wood-Aged Wines of *Vitis Vinifera* Var. Cabernet Sauvignon'. *American Journal of Enology and Viticulture*, 23(3): 103-105.
286. King, G.A., Sweeney, J.C., Radford, T., Lacobucci, G.A. (1980). The ascorbic/O<sub>2</sub> degradation of anthocyanidins. *Bull. Liaison Groupe Polyphenols.*, 9: 121-128.
287. Kinsella, J.E., Frankel, E., German, B., Kanner, J. (1993) Possible Mechanisms for the Protective Role of Antioxidants in Wine and Plant Foods. *Food Technology*, 85-89.
288. Knekt, P., Jarvinen, R., Seppanen, R., Heliovaara, M., Teppo, L., Pukkala, E., Aromaa, A. (1997). Dietary flavonoids and the risk of lung cancer and other malignant neoplasms. *American Journal of Epidemiology*, 146: 223-230.
289. Košir, I. J., Lapornik, B., Andrešek, S., Wondra, A. G., Vrhovšek, U., Kidič, J. (2004). Identification of anthocyanins in wines by liquid chromatography, liquid chromatography mass spectrometry and nuclear magnetic resonance. *Analytica Chimica Acta*, 513 (1): 277-282.
290. Koussissi, E., Dourtoglou, V.G., Ageloussis, G., Paraskevopoulos, Y., Dourtoglou, T., Paterson, A. (2009). Influence of toasting of oak chips on red wine maturation from sensory and gas chromatographic headspace analysis. *Food Chemistry*, 114:1503-1509.
291. Kovac, V., Bourzeix, M., Heredia, A., Ramos, T. (1990). Étude des catéchines et proanthocyanidols de raisins et vins blancs. *Revue Française d'Oenologie*, 30: 7-14.
292. Kovac, V., Revilla, E., Alonso, E. (1994). Catequinas y procianidinas en los vinos y sus propiedades saludables. Experiencia sobre enriquecimiento del vino en dichos compuestos fenólicos. Ponencia presentada a la reunión del grupo de trabajo de experimentación en Viticultura y Enología. Tomelloso (Ciudad Real), 22-25.
293. Krolenko, V. L., Samamenko, N. I., Ketrar, P. M., Russu, G. I., Khilkov, B. M., Baev, O. M., y Chernetskii, S. A. (1981). Aging of brandy spirits. *Otkrytiya Izobret., Prom. Obraztsy Tovarnye Znaki*, 47: 123-124.
294. Laffort, (2009). <http://www.laffort.com>
295. Lamuela, R. M., Romero, A. I., Waterhouse, A. L., De la Torre, M. C. (1995). Direct HPLC analysis of cis and trans resveratrol and piceid isomers in Spanish red *Vitis vinifera* wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43: 281-283.
296. Langcake P., Pryce R. J. (1976). The production of resveratrol by *Vitis vinifera* and other members of the Vitaceae as a response to infection or injury. *Physiology Plant Pathology*, 9: 77-86.
297. Larice, J. L., Archier, P., Rocheville Divorne, C., Coen, S., Roggero, J. P. (1989). Composition anthocyanique des cépages. II. Essai de classification sur trois ans par analyse en composantes principales et étude des variations annuelles de cépages de même provenance. *Revue Française d'Oenologie*, 121: 7-12.
298. Laszlavik, M., Gál, L., Misik, S., Erdei, L. (1995). Phenolic compounds in two Hungarian red wines matured in *Quercus robur* and *Quercus petraea* barrels: HPLC analysis and diode array detection. *American journal of enology and viticulture*, 46(1): 67-74.
299. Lea, A. G. H. y Arnold, G. M. (1978). The phenolic of ciders: Bitterness and astringency. *Journal of Science of the Food and Agriculture*, 29(5): 478-483.
300. Lea, A.G.H., Bridle, P., Timberlake, C.F., Singleton, V.L. (1979). The procyanidins of white grapes and wines. *American Journal of Enology and Viticulture*. 30: 289-300.
301. Lemaire, T. (1995) *La micro oxygénation des vins*. Report for the requirements of the Diplôme National d'Oenologie (Ecole Nationale Supérieure Agronomique: Montpellier, France).



302. Lempereur, V., Blayteyron, L., Labarbe, B., Saucier, C., Klebek, H., Glories, Y. (2002). Groupe National de travail sur les tanins oenologiques. premiers résultats. *Rev. Fr. Oenol.*, 196: 23 29.
303. Liao, H., Cai, Y., and Haslam E. (1992). Polyphenol interactions Anthocyanins: Co pigmentation and colour changes in red wines. *Journal of Science of the Food and Agriculture*, 59: 299 305
304. Liu, P. (2012). Composition of Hawthorn (*Crataegus* spp.) Fruits and Leaves and Emblic Leaf (Phyllanthus emblica) Fruits. Ph.D. Thesis Doctoral, University of Turku, Turku, Finland.
305. Llaudy, M. D., Canals, R. (2006). Influence of micro oxygenation treatment before oak aging on phenolic compounds composition, astringency, and color of red wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54(12): 4246 4252.
306. Lopes, P., Saucier, C., Teissedre, P. L., Glories Y. (2007) La entrada de oxígeno en las botellas de vino a través de diferentes tapones. *Enología*, 4(3): 20.
307. López, M., Martínez, F., Del Valle, C., Orte, C., Miró, M. (2001). Analysis of phenolic constituents of biological interest in red wines by HPLC. *Journal of Chromatography A*, 922(1): 359 363.
308. Maga, J. A. (1984). Rice product volatiles: A review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 32(5): 964 970.
309. Maga, J. A. (1989). The contribution of wood to the flavor of alcoholic beverages. *Food Reviews International*, 5(1): 39 99.
310. Makris, D. P., Rossiter, J. T. (2000). Heat-induced, metal-catalyzed oxidative degradation of quercetin and rutin (quercetin 3-O-rhamnosylglucoside) in aqueous model systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(9): 3830 3838.
311. Martínez, J., Santos, C., Bilbao, A., Martínez, J.A., Lorente, M., Pérez, J., Suberviola, J., Matías, I., Aznárez, J. (1997). Estudio del envejecimiento en barrica de roble de los vinos tintos de calidad. Enero '94 diciembre '97. Proyecto nº SC 94 006.
312. Martínez, J. (1998). Evolución del contenido polifenólico de los vinos de tempranillo durante el envejecimiento en barrica de roble, y posterior crianza en botella. *Viticultura y Enología Profesional*, 57: 48 56.
313. Martínez, J. (1999). Envejecimiento en barrica de vinos tintos de Rioja. Jornada Técnica "La barrica como factor de calidad en la crianza de los vinos tintos". *Congresos y Jornadas*, Ed. Gobierno de La Rioja. Logroño, 3: 73 94.
314. Martínez, J. (2000). Evolución de los vinos tintos de calidad durante la crianza en barrica. Experiencias en Aragón, Navarra y Rioja. *Congresos y Jornadas*. Ed. Gobierno de La Rioja. Logroño, 7: 27 47
315. Martínez, J. (2004). Incidencia del origen de la madera de roble en la calidad de los vinos de Tempranillo de la D.O.Ca. Rioja durante la crianza en barrica. Tesis Doctoral. Universidad de La Rioja.
316. Martínez, J., Barúa, M., Gutiérrez, A.R. (2005a). Evolución de los vinos de tempranillo durante la crianza en barrica. Incidencia del origen del roble. *Monográficos Zubía*, Ed. Instituto de Estudios Riojanos. Logroño, 16-17: 103-119.
317. Martínez, J., Barúa, M., Gutiérrez, A.R. (2005b). Incidencia del origen de la madera de roble en las características organolépticas de los vinos de tempranillo de la D.O.Ca. Rioja durante la crianza en barrica. Póster. VIII Jornadas Científicas de los Grupos de Investigación Enológica (GIENOL). Palencia. *Avances en Ciencias y Técnicas Enológicas*, 1: 233-234.
318. Martínez, J., Barúa, M., Gutiérrez, A.R. (2006a). Incidencia del origen del roble en la modificación de la composición aromática de los vinos durante la crianza. *Enólogos*, 40: 60 63.
319. Martínez, J., Barúa, M., Gutiérrez, A.R. (2006b). Incidencia del origen del roble en la composición y calidad sensorial de los vinos durante la crianza en barrica. *Tecnología del Vino*, 30: 61 66.
320. Martínez, I., Periago, M. J., Ros, G. (2000). Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 50(1): 5 18.
321. Marwan AJ, Nagel, CW. (1982). Separation and purification of hydroxycinnamic acid derivatives in cranberries. *Journal of Food Science*, 47(2): 585 588.
322. Masquelier, J., Michaud, J. y Triaud, J. (1965). Fractionation of wine leucoanthocyanins. *Société de Pharmacie de Bordeaux. Bordeaux* 104: 145 148.
323. Masson, G., Puech, J. L., Moutounet, M. (1996). Composition chimique du bois de chêne de tonnellerie. *Bull. De l'o.I.V.*, 785: 634 654. *Bulletin de l'OIV*, 69(785-86): 634 657.



324. Masuda, M., Nishimura, K. (1971). Branched nonalactones from some *Quercus* species. *Phytochemistry* 10:1401-1402.
325. Matejcek, D., Mikeš, O., Klejdus, B., Štěrbova, D., Kubaň, V., (2005). Changes in contents of phenolic compounds during maturing of barrique red wines. *Food Chemistry*. 90, 4: 791-800.
326. Mateus, N., Silva, A., Cantos, C., Rivas, J., De Freitas, V. (1999). Identification of anthocyanin-flavanol pigments in red wines by NMR and Mass Spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2002, 50: 2110-2116.
327. Mateus, N., De Freitas, V. (2001). Evolution and stability of anthocyanins derived pigments during Port wine aging. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 49: 5217-5222.
328. Mateus, N., Silva, S. M. S., Rivas, J.C., Santos, C., De Freitas, V. (2003). A new class of blue anthocyanin-derived pigments isolated from red wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51:1919-1923.
329. Matricardi, L., Waterhouse, A.L. (1999). Influence of toasting technique on color and ellagitannins of oak wood in barrel making. *American Journal of Enology and Viticulture*, 50: 519-526.
330. Mazza, G., y Brouillard, R. (1990). The mechanism of co-pigmentation of anthocyanins in aqueous solutions. *Phytochemistry*, 29(4): 1097-1102.
331. Mazza, G., Miniati, E. (1993). Grapes. En: *Anthocyanins in fruit vegetables and grains*, CRC Press Inc., Boca Raton, 149-199.
332. McEvily, A.J., Iyenger, R., Gross, A.T. (1992). Inhibition of polyphenols oxidase by phenolics compounds by Phenolic Compounds In *ACS Symposium Series*, Amer Chemical Society, 506: 318-325.
333. McLeod M.N. (1974). Plant tannins their role in forage quality. *Nutrition Abstract and review*, 44 (1): 803-815.
334. Merino, S. (2003). Evolución de compuestos fenólicos de bajo peso molecular y antocianos pormenorizados en vino tinto d.o. cigales durante su envejecimiento. TFC. Universidad de Valladolid.
335. Merken, H. M., Beecher, G. R. (2000). Liquid Chromatographic method for the separation and quantification of prominent flavonoid aglycones. *Journal of Chromatography A*, 897: 177-184.
336. Miniati, E., Damiani, P., and Mazza, G. (1992). Copigmentation and self-association of anthocyanins in food model systems. *Italian Journal of Food Science (Italy)*.
337. Monagas, M., Gomez, C., Bartolomé, B., Laureano, O., Ricardo, J.M. (2003) Monomeric oligomeric and polymeric flavan-3-ol composition of wines and grapes from *Vitis Vinifera* L. cv. Graciano, Tempranillo and Cabernet Sauvignon. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 6475-6481.
338. Monagas, M., Gomez-Cordoves, C., Bartolome, 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.
339. Monagas, M., Bartolome, B. y Gomez, 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.
340. Monagas, M., Bartolome, B. y Gomez, 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.
341. Monagas, M., Gomez-Cordoves, C., Bartolome, B. (2006b). Evolution of the phenolic content of red wines from *Vitis vinifera* L. during ageing in bottle. *Food Chemistry*. 95, 3: 405-412.
342. Montedoro, G. F., Bertuccioli, M. (1988). Organoleptic importance of certain tannic fractions of aged red wines. *Develop. Journal of Food Science*, 17: 687-696.
343. Morales, M. L., Tesfaye, W., García Parrilla, M. C., Casas, J. A., Troncoso, A. M. (2001). Sherry wine vinegar: physicochemical changes during the acetification process. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81(7): 611-619.
344. Morata, A., Gómez Cordovés, M. C., Suberviola, J., Bartolomé, B., Colomo, B., Suárez, J. A. (2003). Adsorption of anthocyanins by yeast cell walls during the fermentation of red wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 4084-4088.

345. Morata, A., F. Calderón, et al. (2007). Formation of the highly stable pyranoanthocyanins (vitisins A and B) in red wines by the addition of pyruvic acid and acetaldehyde. *Food Chemistry* 100(3): 1144-1152.
346. Morimoto, S., Nonaka, G., Nishioka, I. (1985). Tannins and Related Compounds. XXXV. Proanthocyanidins with doubly linked Unit from Root Bark of *Cinnamomum sieboldii*. Meisner. *Chem. Pharm. Bull.* 33, 4338.
347. Mosedale, J. R., Puech, J. L. (1998). Wood maturation of distilled beverages. *Food Science and Technology*, 9(3): 95-101.
348. Mosedale, J. R., Puech, J. L., Feuillat, F. (1999). The influence on wine flavor of the oak species and natural variation of heartwood components. *American Journal of Enology and Viticulture*, 50(4): 503-512.
349. Mourgues, J., Jouret, C., Moutounet, M. (1973). Détermination du taux d'oxygène dissous et du potentiel oxydo-réducteur des eaux-de-vie d'Armagnac au cours de leur maturation. In *Annales de technologie agricole*.
350. Moutounet, M., Rabier, P., Sarni, F. y Scalbert, A. (1992). Les tannins du bois de chêne. Les conditions de leur présence dans les vins. *Vigne et Vin Publications Internationales-Martillac*, 33: 75-79.
351. Moutounet, M., Ducournau, P., Chassin, M., Lemaire, T. (1995). Appareillage d'apport d'oxygène aux vins. Son intérêt technologique. *OEnologie* 95, 5ème Symposium Internationale d'OEnologie, Ed. Lavoisier, Paris: 411-414.
352. Moutounet, M., Mazauric, J.P. (1999). Dosage de micro-quantités d'oxygène dans les vins. *Feuillets Verts de l'OIV*, n°1085.
353. Moutounet, M., Mazauric, J.P., Ducournau, P., Lemaire, T. (2001). Micro oxygénation des vins. Principe et applications technologiques. *Industrie delle Bevande* XXX, 253-258.
354. Moutounet, M. (2003). La técnica de microoxigenación. *ACE Enología*. [www.acenologia.com](http://www.acenologia.com).
355. Moutounet, M., Vidal, J.C. (2006). La medida de oxígeno disuelto en la bodega: ¿Nuevo criterio para garantizar la calidad? *Revista Internet de Viticultura y Enología*, 3/1: 1-5. ([www.infowine.com](http://www.infowine.com))
356. Musingo, N., Sims, A., Bates, P., O'Keefe, F., Laminkanra, O. (2001). Changes in ellagic acid and other phenols in muscadine grape (*Vitis rotundifolia*) juices and wines during storage. *American Journal of Enology and Viticulture* 52 (2): 109-114.
357. Návojská, J., Brandes, W., Nauer, S., Eder, R., Frančáková, H. (2012). Influence of different oak chips on aroma compounds in wine. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 1(4): 957-971.
358. Negueruela, A.I., Echávarri, J.F., Ayala, F. (2001). Caractéristiques chromatiques. *OIV Feuille Verte* No. 1102.
359. Negueruela, A.I., Echávarri, J.F., Pérez, M. (1995). A study of correlation between enological colorimetric indexes and CIE colorimetric parameters in red wines. *American Journal of Enology and Viticulture* 46: 353-356.
360. Nevares, I., Del Álamo, M., Carcel, L. M., Martín, C., Gallego, L. y Crespo, R., (2007). La microoxigenación flotante en el envejecimiento de vinos tintos en depósito. *XI Congreso Latinoamericano de Viticultura y Enología*.
361. 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.
362. Nevares, I., Del Álamo, M., Carcel, L. M., Crespo, R., Martín, C., Gallego, L., (2009). Measure the dissolved oxygen consumed by red wines in aging tanks. *Food and Bioprocess Technology*. 2, 3: 328-336.
363. Nevares, I., Del Álamo, M., Gonzalez, C. (2010). Dissolved oxygen distribution during micro-oxygenation. Determination of representative measurement points in hydroalcoholic solution and wines. *Analytica Chimica Acta*, 2010, 660: 232-239.
364. Nevares, I., Crespo, R., Gonzalez, C., Del Álamo, M. (2014). Imaging of oxygen transmission in the oak wood of wine barrels using optical sensors and a colour camera. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 20(3): 353-360.
365. Nevares, I., Del Álamo, M., (2014b). Oxygène et barriques Actualisation des connaissances quantité et voies de pénétration de l'oxygène dans la barrique. *Revue Française d'Oenologie*, 153: 1-4.

366. Nevaes, I., Del Álamo, M. (2015). Oak Stave Oxygen Permeation: A New Tool To Make Barrels with Different Wine Oxygenation Potentials *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 63 (4): 1268 1275.
367. Nikfardjam, M.P. y Dykes, S.I. (2003). Micro oxygenation research at Lincoln University. Part 3: Polyphenolic analysis of Cabernet Sauvignon wine under the application of micro oxygenation. *Australian and New Zealand grapegrower and winemaker*, 468: 41 43.
368. Nishimura, K., Ohnishi, M., Masuda, M., Koga, K., Matsuyama, R. (1983). Flavour of Distilled Beverages: 241 255.
369. Noble, A.C. (1990). Bitterness and astringency in wine. In «Bitterness in food and beverages»,., Rouseff, Elsevier, Amsterdam, Ed. R.L.: 145 158.
370. Noriega, M.J., Casp, A. (2003). Caracterización polifenólica y cromática de vinos tintos jóvenes vr. Tempranillo de la D.O. Navarra. *Viticultura/Enología Profesional*, 88: 47 54.
371. Oberholster, A., Elmendorf, B.L., Lerno, L.A., King, E.S., Heymann, H., Breneman, C.E. (2015). Barrel maturation, oak alternatives and micro-oxygenation: influence on red wine aging and quality. *Food Chemistry*, 173:1250 1258.
372. Ojeda, S. (2012). Nuevos orígenes de la madera de roble para la crianza de vinos tintos de la D.O. Ca Rioja. Tesis Doctoral. Departamento de Agricultura y Alimentación. Universidad de la Rioja.
373. Okuda, T., Yoshida, T., Hatano, T. (1989). New methods of analyzing tanning. *Journal of natural products*, 52(1):1 31.
374. Oliveira, J., Santos-Buelga, C., Silva, A.M.S., De Freitas, V. y Mateus, N. (2006). Chromatic and structural features of blue anthocyanin-derived pigments present in Port wine. *Analytica Chimica Acta* 563: 2-9.
375. Onishi, M., Guymon, J. F., y Crowell, E. A. (1977). Changes in some volatile constituents of brandy during aging. *American Journal of Enology and Viticulture*, 28(3): 152 158.
376. Ortega, A. E., Romero, I., López, J. M., Ros, J. M., Gómez, E. (2006). Anthocyanin fingerprint of grapes: environmental and genetic variations. *Journal Science of Food and Agriculture*, 86: 1460 1467.
377. Ortega, M., Pérez, S., Sánchez M., González, C., Rivero, M.D., González, M. L. (2007). La microoxigenación, una técnica para la mejora de la calidad de vinos tintos. Ed. ITACYL VA 156/07
378. Ortega, M., Perez, S., Cano, E., Gonzalez, 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.
379. Oszmianski, J., Cheynier, V., Moutounet, M. (1996). Iron-catalyzed oxidation of (+)-catechin in model systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44(7): 1712 1715.
380. Otsuka, K. I., Zenibayashi, Y., Itoh, M., y Totsuka, A. (1974). Presence and significance of two diastereomers of  $\beta$ -methyl- $\gamma$ -octalactone in aged distilled liquors. *Agricultural and Biological Chemistry*, 38(3): 485 490.
381. Pardo, F. (2001). Incidencia de la adición de distintos taninos enólicos en el color de vinos tintos de Monastrell. *Alimentación, equipos y tecnología*, 20: 87 92.
382. Parish, M., Wollan, D., Paul, R. (2000). Micro oxygenation a review. *Australian Grapegrower and Winemaker*, 438: 47 50.
383. Park H.S. (1995). Le péricarpe des baies de raisin normales et millerandées: ontogenèse de la structure et évolution de quelques constituants biochimiques notamment des tanins. Tesis Doctoral. Université Bordeaux I: 209.
384. Pazo, M., Ummarino, I., Di Estefano, R. (1997). Jornadas científicas. El Puerto de Santa María: 217
385. Peña, A. (1998). Contribución al estudio del origen de problemas sensoriales en vinos. Su relación con la composición fenólica y la presencia de compuestos organoclorados. Tesis Doctoral. ETSI Agrónomos. Universidad Politécnica de Madrid.
386. Peña, A., Dueñas, M., Duarte, A., Hernandez, T., Estrella, I., Loyola, E. (2004). Effects of ripening stages and of plant vegetative vigor on the phenolic composition of grapes (*Vitis vinifera* L.) cv. Cabernet Sauvignon in the Maipo Valley (Chile). *VITIS-Journal of Grapevine Research*, 43(2): 51.
387. Pérez, L.J., De la Hera, M.L., López, J.M., Fernández, J.I., Gómez, E. (2003a). Oak-matured wines: influence of the characteristics of the barrel on wine colour and sensory characteristics. *Journal of Science of the Food and Agriculture*, 83: 1445 1450.

388. Pérez, L.J., López, J.M., Gómez, E. (2003b). Multivariate statistical analysis for the classification of oak-aged wines based on their chromatic characteristics. *European Food Research and Technology*, 217: 512 516.
389. Pérez, L.J., López, J.M., Martínez, A., Pardo, F., Gómez, E. (2003c). Extraction and formation dynamic of oak-related volatile compounds from different volume barrels to wine and their behavior during bottle storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 5444 5449.
390. Pérez, L.J., Martínez, A.B., López, J.M.A., Pardo, F.C., Gómez, E. A. (2003d). Evolución del color del vino durante la crianza en barricas de roble. *Enólogos*, 26: 40 45.
391. Pérez, L.J., Moya, M., López, J.M., Gómez, E. (2003e). Influencia del origen de la madera y el nivel de tostado sobre los compuestos aromáticos extraíbles de virutas de roble. *Enólogos*, 13: 14 18.
392. Pérez, M. S., Sanz, J., Cabezudo, M. D. (1999). Determination of volatile compounds in hydroalcoholic extracts of French and American oak wood. *American Journal of Enology and Viticulture*, 50(2): 162 165.
393. Pérez, M.S., Sanchez, M.A., González, M.A., Sanz, J., Cabazudo, M.D. (2000). Fermentation of white wines in the presence of American and French oak chips. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(3): 889 892.
394. Pérez, S., Revilla, I., González, M. L., Beltrán, S. (1999). Various applications of liquid chromatography–mass spectrometry to the analysis of phenolic compounds. *Journal of Chromatography A*, 847(1): 75 81.
395. Pérez, S., González, M.L. (2002a). Prediction of red and rose wine CIELab parameters from simple absorbance measurements. *Journal of Science of Food and Agriculture*, 82 (11): 1319 1324.
396. Pérez, S., González, M.L. (2002b). Influencia de aportes controlados de oxígeno sobre la calidad de vinos tintos de crianza. *Viticultura y Enología Profesional*, 82: 49 54.
397. Pérez, S., González, M.L. (2003a). Efecto de la aplicación de la microoxigenación durante la fermentación de vinos tintos. *Tecnología del Vino*, 14: 107 112.
398. Pérez, S., González, M.L. (2003b). Application of absorbance values used in wineries for estimating CIELAB parameters in red wines. *Food Chemistry*, 81: 301 306.
399. Pérez, S., González, M.L. (2004). Evolution of flavanols, anthocyanins, and their derivatives during the aging of red wines elaborated from grapes harvested at different stages of ripening. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52: 1181 1189.
400. Pérez, S., González, M.L. (2005). Importancia del momento de vendimia en la obtención de vinos de crianza: repercusión sobre compuestos flavonoideos. *Viticultura y Enología Profesional*, 98: 29 37.
401. Pérez, S., Sánchez, M., Ortega, M., González, C., González, M.L. (2007). Colour stabilization of red wines by microoxygenation treatment before malolactic fermentation. *Food Chemistry*, 101: 881 893.
402. Pérez, S., Ortega, M., Cano, E., Gonzalez, M. L. (2009). The influence of oak wood chips, microoxygenation treatment, and grape variety on colour, and anthocyanin and phenolic composition of red wines. *Journal of Food Composition and Analysis*, 22, 3: 204 211.
403. Pérez, V., Ayala, F., Echávarri, J.F., Negueruela, A.I. (2003). Proposal for a new estándar OIV method for determination of chromatic characteristics of wine. *American Journal of Enology and Viticulture* 54: 59 62.
404. Peynaud, É., Blouin, J. (1999). *Découvrir le goût du vin*. Dunod.
405. Peyron, E. (1994). Evolution of the phenolic composition of red wines in relation to the wood quality of oak barrels. *Revue française d'oenologie*, 146: 6 10.
406. Piracci, A., Bucelli, P., Faviere, V., Giannetti, F., Scalzo, R., Novello, E. (2001a). Frammenti legnosi e vino. Alcune specifiche tecniche di chips e staves di rovere. *L'Oenologo*, 7/8: 97 104.
407. Piracci, A., Bucelli, P., Faviere, V., Giannetti, F., Scalzo, R., Novello, E. (2001b). Frammenti legnosi oak chips e staves: contributo alla stabilizzazione del colore. *L'Oenologo*, 10:103 109.
408. Pissarra, J., Lourenco, S., González, A.M., Mateus, N., Buelga, C.S., Silva, A.M.S., De Freitas, V. (2005) Isolation and structural characterization of new anthocyanin alkyl catechin pigments. *Food Chemistry*, 90: 81 87.
409. Pizarro, C., Esteban, I., Rodriguez, S. y Gonzalez, 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.

410. Pollnitz, A. P., Jones, G. P., Sefton, M. A. (1999). Determination of oak lactones in barrel-aged wines and in oak extracts by stable isotope dilution analysis. *Journal of Chromatography A*, 857(1): 239 246.
411. Pomar, M., González Mendoza, L.A. (2001). Changes in composition and sensory quality of red wine aged in American and French oak barrels. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, 35(1): 41 48.
412. Pontallier, P. (1992). The intervention of oak wood in the making of great red wines. *Journal of Wine Research*, 3(3): 241 247.
413. Pontallier, P., Salagoity, M. H. y Ribéreau-Gayon, P. (1982). Intervention du bois de chêne, dans l'évolution des vins rouges élevés en barriques. *Progres Agricole et Viticole*, 16, (1): 45 61.
414. Porter, L. J. (1989). *Methods in plant biochemistry. Plant phenolics*. Academic Press. London, vol. 1: 389 419.
415. Pozo, M., Monagas, M. Polo, M., Gómez, C. (2004). Occurrence of pyranoanthocyanins in sparkling wines manufactured with red wine varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 52: 1300 1306.
416. Price, A.R., Bacon, J.R., Rhodes, M.J.C. (1997). Effect of storage and domestic processing on the content and composition of flavonol glycosides in onions (*Allium cepa*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45: 938 942.
417. Price, K.R., Rhodes, M.J.C. (1997). Analysis of the Major Flavonol Glycosides Present in Four Varieties of Onion (*Allium cepa*) and Changes in Composition resulting from Autolysis. *Journal of Science of the Food and Agriculture*, 74: 331 339.
418. Price, S.F., Breen, P.J., Vallado, M., Watson, B.T. (1995). Cluster sun exposure and quercetin in Pinot Noir grapes and wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 46: 187 194.
419. Prida, A., Boulet, J. C., Ducouso, A., Nepveu, G., Puech, J. L. (2006). Effect of species and ecological conditions on ellagitannin content in oak wood from an even aged and mixed stand of *Quercus robur* L. And *Quercus petraea* Liebl. *Food Science*, 63: 415 424.
420. Prida, A., Chatonnet, P. (2010). Impact of oak-derived compounds on the olfactory perception of barrel-aged wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 61(3): 408 413.
421. Prida, A. (2011). Is it possible to predict the sensory characteristics of barrel-aged wines by performing a chemical analysis of the wood?. *Wine and viticulture journal*, 4: 35 41.
422. Puech, C., Vidal, S., Pegaz, J.F., Riou, C., Vuchot, P. (2006). Influence des conditions de conservation des vins en bouteille sur leur évolution. *Revue des oenologues*, 121: 13 16.
423. Puech, J. L. (1981). Extraction and evolution of lignin products in Armagnac matured in oak. *American Journal of Enology and Viticulture*, 32(2): 111 114.
424. 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.
425. Puech, J. L., Rabier, P., Moutounet, M. (1988). Preparative separation by high-performance liquid chromatography of an extract of oak wood and determination of the composition of each fraction. *Journal of Chromatography A*, 457: 431 436.
426. Puech, J. L., Moutounet, M. (1992). Phenolic compounds in an ethanol-water extract of oak wood and in a brandy. *Lebensmittel-Wissenschaft+ Technologie*, 25(4): 350 352.
427. Puech, J.L., Feuillat, F., Mosedale, J.R. (1999). The tannin of oak heartwood: structure, properties and their influence on wine flavour. *American Journal of Enology and Viticulture*, 50: 469 478.
428. Puech, J. L., Léauté, R., Mosedale, J., Mourgues, J. (2000). Barrica y envejecimiento de los aguardientes. In *Enología: fundamentos científicos y tecnológicos*. Mundi Prensa Libros S.A.: 677 697.
429. Puértolas, E., Hernández, P., Sladaña, G., Álvarez, I., Raso, J. (2010). Improvement of winemaking process using pulsed electric fields at pilot-plant scale. Evolution of chromatic parameters and phenolic content of Cabernet Sauvignon red wines. *Food Research International*, 43(3): 761 766.
430. Quintana, A.M. (2001). Fraccionamiento y estudio preliminar de la materia colorante del vino tinto. Tesis Doctoral. Universidad de Salamanca.
431. Radoux, CH., Gross, C. (1994). Madera de roble y crianza de vinos tintos en barrica. IX Cursos Rioja, Ed. Ayuntamiento de Haro: 9 48.
432. Ramis, G., García, M.C. (2001) *Quimiometría, Síntesis*, Madrid: 193.

433. 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.
434. Renaud, S., and de Lorgeril, M. (1992). Wine, alcohol, platelets and the french paradox for coronary heart disease. *Lancet*, 339: 1523.
435. Rensburg, P. V. y Joubert, J. 2002 Introductory study on the use of alternative wood maturation methods. Wynboer. [www.wynboer.co.za](http://www.wynboer.co.za).
436. Rentzsch, M., Schwarz, M., Winterhalter, P., Hermosín, I. (2007) Formation of hydroxyphenyl pyranoanthocyanins in Grenache wines: precursor levels and evolution during aging», *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2007, 55 (12): 4883-4888.
437. Rentzsch, M., Wilkens, A., Winterhalter, P. (2009). Non flavonoid phenolic compounds. In *Wine Chemistry and Biochemistry*, Springer: New York, NY, USA: 509-527.
438. Revilla, E., Alonso, E., Estrella, M.I. (1986). Análisis of flavonol aglycones in wine extracts by high performance liquid chromatography. *Chromatographia*, 22: 157-159.
439. Revilla, I., González, M.L., Gómez, M.C. (1999a). Modificaciones cromáticas del vino tinto de crianza según el tipo de bodega en que envejece. *Food of Science and Technology International*, 5(2): 117-181.
440. Revilla, I., Pérez, S., González, M. L., Beltrán, S. (1999b). Identification of anthocyanin derivatives in grape skin extracts and wines by liquid chromatography with diode array mass spectrometric detection. *Journal of Chromatography A*, 847: 83-90.
441. Ribéreau, J. (1933). Contribution à l'étude des oxidations et réductions dans les vins. Application à l'étude de vieillissement et des casses. Tesis Doctoral, Delmas Burdeos.
442. Ribéreau, P. (1965). Identification d'esters des acides cinamiques et de l'acide tartarique dans les limbes et les baies de *Vitis vinifera*. *CR Acad Science*: 341-343.
443. Ribéreau, P. (1968). *Les Composés Phénoliques des Végétaux*. Ed. Dunod, París.
444. Ribéreau, P., Glories, Y., Maujean, A., Dubourdieu, D. (1998). *Traité d'Oenologie. 2. Chimie du vin. Stabilisation et traitements*. Dounod, París.
445. Ricardo, J. M., Cheynier, V., Souquet, J. M., Moutounet, M., Cabanis, F. C., Bourzeix, M. (1991). Interaction of grape seed procyanidins with various proteins in relation to wine fining. *Journal of Science of the Food and Agriculture*, 56: 111-125.
446. Ricardo, J. M., Rosec, J., Bourzeix, M., Mourgues, J., Moutounet, M. (1992). Dimer and trimer procyanidins in Carignan and Mourvedre grapes and red wines. *Vitis*, 31: 55-63.
447. Rice, C.A., Miller, N.J., Paganga, G. (1997). Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in Plant Science*, 2:152-159.
448. Rivas, J. C., Bravo, S., y Santos, C. (1995). Detection of compounds formed through the reaction of malvidin 3-monoglucoside and catechin in the presence of acetaldehyde. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43(6): 1444-1449.
449. Robichaud, J.L., Noble, A.C. (1990). Astringency and bitterness of selected phenolic in wine. *Journal of Science of the Food and Agriculture*, 53: 343-353.
450. Robredo, L.M., Junquera, B., González, M.L., Barrón, L.J.R. (1991). Biochemical events during ripening of grape berries. *Journal of Food Composition and Analysis*, 3: 173-180.
451. 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: 6383-6391.
452. Rodríguez, M.L., Apetrei, C., Villanueva, S., Apetrei, I.M., Nevares, I., Del Álamo, M. (2007). Monitoring the ageing of red wines by means of an electronic panel test: discrimination between traditional and alternative ageing methods. *Bulletin de l'OIV* 80(911-913):47-59.
453. Rodríguez, P., Gómez, E. (2011). E. Effect of volume and toast level of french oak barrels (*Quercus petraea* L.) on cabernet sauvignon wine characteristics. *American Journal of Enology and Viticulture*, 62: 359-365.
454. Rohr, G. E. (1999). Analytical investigation and isolation of procyanidins from *Crataegus* leaves and flowers. Tesis Doctoral. Swiss Federal Institute of Technology. Zurich.
455. Roig, G., Yerle, S. (2003). Balance y perspectivas de 10 años de microoxigenación. *ACE Enología*. [www.acenología.com](http://www.acenología.com)

456. Romero, M. I. (2008). Extracción De Compuestos Fenólicos De La Uva Al Vino. Papel De Los Enzimas De Maceración. Tesis Doctoral. Universidad de Murcia.
457. Romero, C., Bakker, J. (1999). Interactions between grape anthocyanins and pyruvic acid, with effect of pH and acid concentration on anthocyanin composition and color in model solutions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(8): 3130-3139.
458. Romero, C., Bakker, J. (2000a). Effect of acetaldehyde and several acids on the formation of vitisin A in model wine anthocyanin and colour evolution. *Food Science Technology International*, 35:129-140.
459. Romero, C., Bakker, J. (2000b). Effect of storage temperature and pyruvate on kinetics of anthocyanin degradation, vitisin A formation and color characteristics of model solution. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 48:2135-2141.
460. Rossi, J.A., Singleton, V.L. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolibdic phosphotungstic acid reagents. *Journal of Enology and Viticulture* 16(3): 144-158.
461. Rous, C., Alderson, B. (1983). Phenolic extraction curves for white wine aged in French and American oak barrels. *American Journal of Enology and Viticulture*, 34(4): 211-215.
462. Rudnitskaya, A., Schmidtke, L.M., Delgado, I., Legin, A., Scollary, G. (2009). Study of the influence of micro-oxygenation and oak chip maceration on wine composition using an electronic tongue and chemical analysis. *Analytica Chimica Acta*, 642:235-245.
463. Sacchi, K. L., Bisson, L. F., Adams, D. O. (2005). A review of the effect of winemaking techniques on phenolic extraction in red wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 56(3): 197-206.
464. Saint, N., Vivas, N., Glories, Y. (1999). Maduración fenólica de las uvas tintas. Relación con la calidad de los vinos. Comparación entre los viñedos Merlot y Tempranillo. *La Semana Vitivinícola*, 2748: 1126-1136.
465. Salas, E., Fulcrand, H., Meudec, E., Cheynier, V. (2003). Reactions of anthocyanins and tannins in model solutions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 7951-7961.
466. Sánchez, M., Pérez, S., Ortega, M., Herrera, P., González, C., González, M.L. (2005). Efecto de la microoxigenación en el color y familias fenólicas de vinos tintos de las D.O. de Castilla y León. XIX Reunión del Grupo de Trabajo de Experimentación en Viticultura y Enología (Leiro): 135-139.
467. Sánchez, M. (2007). Incidencia del tratamiento de microoxigenación sobre la composición fenólica y el color en vinos tintos jóvenes y de crianza de Castilla y León. Tesis Doctoral. Universidad de Burgos. Dpto. Biotecnología y Ciencia de los Alimentos.
468. Sartini, E., Arfelli, G., Fabiani, A., Piva, A. (2007). Influence of chips, lees and micro-oxygenation during aging on the phenolic composition of a red Sangiovese wine. *Food Chemistry*, 104:1599-1604.
469. Sánchez, C. (2001). Composición polifenólica del vino (I). *Enology* (2): 129-187, 353-393.
470. Santos, C. (2001). Sustancias polifenólicas y el color del vino tinto. Ed. A. Mas. *Facultat d'Enologia. Enologia avui*. Tarragona: 29-37.
471. Sarni, F., Moutounet, M., Puech, J. L., Rabier, P. (1990). Effect of heat treatment of oak wood extractable compounds. *Holzforschung*, 44: 461-466.
472. Sarni, P., Fulcrand, H., Souquet, J.M., Cheynier, V., Moutounet, M. (1996). Stability and color of unreported wine anthocyanin-derived pigments. *Journal Food Science*, 61:938-941.
473. Saucier, C., Guerra, C., Pianet, I., Laguerre, M., Glories, Y. (1997). (+) catechin acetaldehyde condensation products in relation to wine ageing. *Phytochemistry*, 46: 229-234.
474. Saucier, C., Jourdes, M., Glories, Y., Quideau, S. (2006). Extraction, detection, and quantification of flavan-3-ols and ethylgallic acid in a Bordeaux red wine aged in oak barrels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54: 7349-7354.
475. Saucier, C., Teissedre, P.L., Dangles, O. (2010). Physicochemical studies of new anthocyanin-ellagitannin hybrid pigments: About the origin of the influence of oak C-glycosidic ellagitannins on wine color. *European Journal of Organic Chemistry*, 1: 55-63.
476. Sauvageot, F., y Feuillat, F. (1999). The influence of oak wood (*Quercus robur* L., *Q. petraea* Liebl.) on the flavor of Burgundy Pinot noir. An examination of variation among individual trees. *American Journal of Enology and Viticulture*, 50(4): 447-455.
477. Scalbert, A., Monties, B., Favre, J. M. (1988). Polyphenols of *Quercus robur*: adult tree and in vitro grown calli and shoots. *Phytochemistry*, 27(11): 3483-3488.



478. Scalbert, A., Monties, B., Janin, G. (1989). Tannins in wood: comparison of different estimation methods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 37(5): 1324-1329.
479. Scalbert, A. (1991). Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry*, 30(12): 3875-3883.
480. Schwarz, M., Winterhalter, P. (2003a). A novel synthetic route to substituted pyranoanthocyanins with unique colour properties. *Tetrahedron Letters*, 44(41):7583-7587.
481. Schwarz, M., Wabnitz, T. C., Winterhalter, P. (2003b). Pathway leading to the formation of anthocyanin vinylphenol adducts and related pigments in red wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 3682-3687.
482. Schwarz, M., Quast, P., Von Baer, D., Winterhalter, P. (2003c). Vitisin A content in Chilean wines from *Vitis vinifera* cv. Cabernet Sauvignon and contribution on the color of aged red wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 3682-3687.
483. Schwarz, M., Hofmann, G., Winterhalter, P. (2004). Investigations on anthocyanins in wines from *Vitis vinifera* cv. Pinotage: Factors influencing the formation of pinotin A and its correlation with wine age. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52:498-504.
484. Schwarz, M., Picazo Bacete, J.J., Winterhalter, P., Hermosín, I. (2005). Effect of copigments and grape cultivar on the color of red wines fermented after the addition of copigments. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 8372-8381.
485. Sefton, M.A., Francis, I.L., Pocock, K.J., Williams, P.J. (1993). The influence of natural seasoning on the concentrations of eugenol, vanillin and cis and trans  $\beta$  methyl  $\gamma$  octalactone extracted from French and American oakwood. *Sciences des Aliments*, 13: 629-643.
486. Seguin Moreau, (2006). <http://www.seguinmoreau.fr>
487. Seikel, M.K., Hostettler, F.D. y Niemann, G.J. (1971). Phenolics of *Quercus rubra* wood. *Phytochemistry*, 10: 2249-2251.
488. Senese, F. A. (2000). Gaseous equation of state calculator. [www.antoine.fsu.umd.edu/chem/senese/javascript/realgas.shtml](http://www.antoine.fsu.umd.edu/chem/senese/javascript/realgas.shtml)
489. Shahidi, F., Naczki, M. (1995). Antioxidant properties of food phenolics. *Food phenolics: Sources, chemistry, effects and applications*: 235-277.
490. Silva, A., Lambri, M., De Faveri, M.D. (2003). Evaluation of the performances of synthetic and cork stoppers up to 24 months post bottling. *European Food Research and Technology*, 216: 529-534.
491. Singleton V.L., Draper DE. (1961) Wood Chips and Wine Treatment, the Nature of Aqueous alcohol extracts. *American Journal of Enology and Viticulture*. 12:152-158.
492. Singleton, V.L., Sullivan, A.R., Kramer, C. (1971) An Analysis of Wine to Indicate Aging in Wood or Treatment with Wood Chips or Tannic Acid. *American Journal of Enology and Viticulture* 22:161-166.
493. Singleton, V. L. (1974). Some aspects of the wooden container as a factor in wine maturation. *Advances in chemistry series*.
494. Singleton, V. L., Trousdale, E. (1983). White wine phenolics: Varietal and processing differences as shown by HPLC. *American Journal of Enology and Viticulture*, 34: 27-34.
495. Singleton, V. L. (1987). Oxygen with phenols and related reactions in musts, wines, and model systems: observations and practical implications. *American Journal of Enology and Viticulture*, 38(1): 69-77.
496. Singleton, V. L. (1995). Maturation of wines and spirits: comparisons, facts, and hypotheses. *American Journal of Enology and Viticulture*, 46(1): 98-115.
497. Sipiora, M. J., Gutiérrez, M. J. (1998). Effects of pre veraison irrigation cutoff and skin contact time on the composition, color, and phenolic content of young Cabernet Sauvignon wines in Spain. *American Journal of Enology and Viticulture*, 49: 152-162.
498. Smith, C. (2001). Goals of Micro oxygenation. *Vinovation, Inc.* [www.vinovation.com/MOxgoals.htm](http://www.vinovation.com/MOxgoals.htm)
499. Soleas, G. J., Diamandis, E. P., Goldberg, D. M. (1997). Wine as a biological fluid: History, Production and Role in disease prevention. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, 11(5): 287-313.
500. Somers, T. C. (1971). The polymeric nature of wine pigments. *Phytochemistry*, 10: 2175-2186.
501. Somers, T.C., Evans, M.E. (1974). "Wine quality: Correlations with colour density and anthocyanin equilibria in a group of young red wines. *Journal of Science of Agriculture*, 25:1369-1379.
502. Somers T.C., Evans M.E. (1977). Spectral evaluation of young red wines: Anthocyanins equilibria, total phenolics, free and molecular SO<sub>2</sub>, "chemical age". *Journal of the Science of Food and Agriculture* 28 (3): 279-287.



503. Somers, T. C., Evans, M. E. (1979). Grape pigment phenomena: Interpretation of major colour losses during vinification. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 30(6): 623-633.
504. Somers, T. C., Verette, E., Pocock, K. F. (1987). Hydroxycinnamate esters of *Vitis vinifera*: Changes during white vinification, and effects of exogenous enzymic hydrolysis. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 40: 67-78.
505. Somers, T.C., Verette, E. (1988). Phenolic composition of natural wine types In: *Modern Methods of Plant Analysis, Wine Analysis*, Eds., Springer Berlin Heidelberg: 219-257.
506. Souquet, J., Cheynier, V., Brossand, F., Moutounet, M. (1996b). Polymeric proanthocyanidins from grape skins. *Phytochemistry*, 43: 509-512.
507. Sousa, A., Mateus, N., Silva, A.M., Gonzalez, A.M., Santos, C., De Freitas, V., (2007). Structural and chromatic characterization of a new malvidin-3-glucoside-vanillylcatechin pigment. *Food Chemistry*, 102: 1344-1351.
508. Sousa, A., Mateus, N., Silva, A.M.S., Vivas, N., Nonier, M. F., Pianet, I., de Freitas, V. (2010). Isolation and structural characterization of anthocyanin furfuryl pigments. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 5664-5669.
509. Spanos, G.A., Wrolstad, R.E. (1992). Phenolics of apple, pear, and white grape juices and their changes with processing and storage: A review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40: 1478-1487.
510. Spillman, P.J., Iland, P.G., 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.
511. Spillman, P.J., Sefton, M.A., Gawel, R. (2004). The effect of oak wood source, location of seasoning and coopering on the composition of volatile compounds in oak-matured wines. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 10: 216-226.
512. Stutz, T., Lin, S., Herdman, I. (1999). Barrel Renewal Systems: A user's perspective. Presented at International Symposium on Oak in Winemaking. *American Journal of Enology and Viticulture*, 50: 541-543.
513. Sudraud, P. (1958). Interpretation des courbes d'absorption des vins rouges, *Annuelle Technologie Agricole*, 7(2): 203-208.
514. Suomalainen, H., Nykänen, L. (1970). Composition of whisky flavour. *Process Biochem*, 5(7): 13-18.
515. Swain, T., Hillis, W. (1959). The phenolic constituents of *Prunus domestica* (L). The quantitative analysis of phenolic constituents. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 10(1): 63-68.
516. Teissedre, P. L. (2012). Wine and health. *The Biochemistry of the Grape Berry*: 269-588.
517. Tesfaye, W., Morales, M. L., García, M. C., Troncoso, A. M. (2002). Wine vinegar: technology, authenticity and quality evaluation. *Trends in Food Science and Technology*, 13(1): 12-21.
518. Thomas, O., Mitchell, PhD. (2004). Luminescence based measurement of dissolved oxygen in natural water. Hach environmental. [www.hachenviromental.com](http://www.hachenviromental.com)
519. Thorngate, J. H., Singleton, V. L. (1994). Localization of procyanidins in grape seeds. *American Journal of Enology and Viticulture*, 45: 259-262.
520. Timberlake, C., Bridle, P. (1976). Interactions between anthocyanins, phenolic compounds, and acetaldehyde and their significance in red wines. *American Journal of Enology and Viticulture*: 27: 97-105.
521. Towey, J. P., Waterhouse, A.L. (1996) The extraction of volatile compounds from French and American oak barrels in Chardonnay during three successive vintages. *American Journal of Enology and Viticulture*. 47:163-172.
522. Trygve Gyte (2004). Institute of marine research, 5817 Bergen, Norway, The ocean's dissolved oxygen: from where does it originate, why is it necessary and how is it measured. [www.aanderaa.com](http://www.aanderaa.com)
523. Tsimidou, M. (1998). Polyphenols and quality of virgin olive oil in retrospect. *Journal Food Science*, 2 (10):99-116.
524. Usseglio, L. (1998). *Química enológica*. Mundi Prensa Libros SA.
525. Valls, J., Lampreave, M., Nadal, M., Arola, L. (2000). Importancia de los compuestos fenólicos en la calidad de los vinos tintos de crianza. *Alimentación: equipos y tecnología*: 119-124.
526. Vanhoenacker, G., De Villiers, A., Lazou, K., De Keukeleire, D., Sandra, P. (2001). Comparison of high performance liquid chromatography mass spectroscopy and capillary electrophoresis mass

- spectroscopy for the analysis of phenolic compounds in diethyl ether extracts of red wine. *Chromatographia*, 54: 309 315.
527. Vidal, J.C., Dufourcq, T., Boulet, J.C., Moutounet, M. (2001). Les apports d'oxygène au cours du traitements des vins. Bilan des observations sur site, 1ère partie. *Rev. Fr. Oenol.*, 190: 24 31.
528. Vidal, J.C., Boulet, J.C., Moutounet, M. (2003). Les apports d'oxygène au cours du traitements des vins. Bilan des observations sur site, 2ère partie. *Revue Française d' Oenologie*, 201: 32 38.
529. Vidal, J.C., Toitot, C., Boulet, J.C., Moutounet, M. (2004). Comparison of methods for measuring oxygen in the headspace of a bottle of wine. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, 38: 191 200.
530. Vidal, S., Cartalade, D., Souquet, J. M., Fulcrand, H., Cheyrier, V. (2002). Changes in proanthocyanidin chain length in winelike model solutions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(8): 2261 2266.
531. Virost, C., Scalbert, A., Herve, C.L.M., Moutounet, M. (1994) Ellagitannins in woods of sessil oak and sweet chestnut. Dimerization and hydrolysis during wood aging. *Phytochemistry* 36:1253 1260
532. Vitrac, X., Monti, J. P., Vercauteren, J., Deffieux, G., Mérillon, J. M. (2002). Direct liquid chromatographic analysis of resveratrol derivatives and flavanols in wines with absorbance and fluorescence detection. *Analytica Chimica Acta*, 458, :103 110.
533. Vivar, A.M., Santos, C., Francia, E., Rivas, J.C. (1999). Formation of anthocyanin-derived pigments in experimental red wines. *Food Science and Technology International*, 5 (4): 347 352.
534. Vivar, A.M., Santos, C. y Rivas, J.C. (2002). Anthocyanin derived pigments and colour of red wines. *Analytica Chimica Acta*, 458: 147 155.
535. Vivas N., Glories Y., Francois J. (1991) Mise au point sur l'élevage des vins rouges en fûts de chêne. *Revue Française d' Oenologie* 62, 17 21.
536. Vivas, N. (1995). Sur la notion de grain en tonnellerie. *Journal Science Technology. Tonnellerie*, 1, 17 32.
537. Vivas, N., Glories, Y. (1993). Sistema de secado de maderas de roble para tonelería. *Vitivinicultura*, 5 (6): 47 50.
538. Vivas, N., Glories, Y. (1996a). Role of oak wood ellagitannins in the oxidation process of red wines during aging. *American Journal of Enology and Viticulture*, 47: 103 107.
539. Vivas, N., Glories, Y. (1996b). Étude et optimisation des phénomènes impliqués dans le séchage naturel du bois de chêne. *Revue Française d' Oenologie*, 158: 28 35.
540. Vivas, N., Glories, Y. (1996c). Modélisation et estimation du bilan de apports d'oxygène au cours de l'élevage des vins rouges. I- Les apports technologiques et liés au mode d'élevage. *Progrès Agricole et Viticole*, 113: 222 227.
541. Vivas, N. (1997). Recherches sur la qualité de chêne français de tonnellerie (Q. Petraea Liebl., Q. Robur L.) et sur les mécanismes d'oxidoréduction des vins rouges au cours de leur élevage en barriques. Tesis Doctoral. Universidad de Burdeos II.
542. Vivas, N., Glories, Y., (1997). Modélisation et calcul du bilan des apports d'oxygène au cours de l'élevage des vins rouges. II. Les apports liés au passage d'oxygène au travers de la barrique. *Progrès Agricole et Viticole*, 114: 315 316.
543. Vivas, N., De Gaulejac, N. V. (2000). Maitrise des conditions d'élevage des vins rouges en barriques: incidence de différents paramètres technologiques. *Revue Française d' Oenologie* 185: 38 47.
544. Vivas, N., Absalon, C., Benoist, F., Vitry, CH., Grazillier, S., De Revel, G., Bertrand, A. (2001). Les chênes européens Q. robur et Q. petraea: Analyse des potentialités oenologiques des différents massifs forestiers. En *Connaissances actuelles & Avenir de l'élevage en barriques*. Burdeos: 31 37.
545. Von Baer, D., Mardones, C., Gutierrez, L., Hofman, G., Becerra, J., Hirschfeld A., Vergara, C. (2005). Varietal authenticity verification of Cabernet Sauvignon, Merlot and Carmenère wines produced in Chile by their anthocyanin, flavonol and schikinic acid. *Bulletin de l'OIV*, 78: 45 57.
546. Wang, H. B., Race, E.J., Shrikhande, A.J. (2003). Anthocyanin transformation in Cabernet Sauvignon wine during aging. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 7989 7994.
547. Waterhouse, A. L., Towey, J. P. (1994). Oak lactone isomer ratio distinguishes between wine fermented in American and French oak barrels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42(9): 1971 1974.

548. Waterhouse, A.L., Laurie, V.F. (2006). Oxidation of wine phenolic: A critical evaluation and hypotheses. From the ASEV 2005 Phenolics Symposium. *American Journal of Enology and Viticulture*, 57: 306-313.
549. Weil, W. (1993). The oak forest of America. In: *Proceedings of the 1st International Oak Symposium*. D. Nee and A. Young (Eds.). San Francisco State University.
550. Westland, S., Graham, C., Addison, S., Sharrott, P., Rigg, B. (2001). Effect of sleeve colour and background colour on change in colour assessments†. *Coloration Technology*, 117(3): 123-126.
551. White, A. F., Peterson, M. L., Solbau, R. D. (1990). Measurement and interpretation of low levels of dissolved oxygen in ground water: *Groundwater*, 28(4): 584-590.
552. Wildenradt, H., Singleton, V. (1974). The production of aldehydes as a result of oxidation of polyphenolics compounds and its relation to wine aging. *American Journal of Enology and Viticulture*, 25:119-126.
553. Wittkowski, R., Heier, A., Blaas, W. Droß, A. (2002). Anthocyanin analysis by HPLC/ESI MS. *American Journal of Enology and Viticulture*, 53: 78-86.
554. Würdig, G., Woller, R. (1989). *Handbuch der Lebensmitteltechnologie-Chemie des Weines*. Ulmer, Stuttgart, Germany: 561.
555. Wulf, L.W. y Nagel, C.W. (1980). Identification and changes of flavonoids in Merlot and Cabernet Sauvignon wines. *Journal Food Science*, 45: 479-484.
556. [www.docigales.es](http://www.docigales.es)
557. [www.dotoro.com](http://www.dotoro.com)
558. [www.unizar.es](http://www.unizar.es)
559. Zafrilla, P., Morillas, J., Mulero, J., Cayuela, J.M., Martínez, A., Pardo, F., López, J.M. (2003). Changes during storage in conventional and ecological wine: phenolic content and antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 4694-4700.
560. Zamora, F., Luengo, G., Margalef, P., Magrina, M. y Arola, L. (1994). Effect of drawing off on colour and phenolic compounds composition of red wine. *Ciencia y Tecnología de los Alimentos*, 34: 663-671.
561. Zamora, F. (1998). Los compuestos fenólicos y su capacidad para la crianza. *Jornadas Técnicas organizadas por la Universidad Rovira i Virgili Lameland: Aspectos científicos y prácticos del vino* 11: 57-64.
562. Zamora, F. (2000). La madera de roble y su incidencia sobre las características organolépticas de los vinos de crianza. *XIV Cursos Rioja*. Ed. Ayuntamiento de Haro (La Rioja): 7-36.
563. Zamora, F. (2003a). El concepto de grano en tonelería. Un criterio para clasificar el roble. *Enólogos*, 24: 24-28.
564. Zamora, F. (2003b). *Elaboración y crianza del vino tinto: Aspectos científicos y prácticos*. Ed. AMV ediciones y Mundiprensa. Madrid.
565. Zamora, F. (2007) Los aromas que el roble aporta al vino, influencia del grado de tostado de las duelas. *IV Encuentro enológico*. (Madrid): 83-87.
566. Zhang, B., Liu, R., He, F., Zhou, P. P., Duan, C. Q. (2015a). Copigmentation of malvidin 3-O-glucoside with five hydroxybenzoic acids in red wine model solutions: Experimental and theoretical investigations. *Food Chemistry*, 170: 226-233.
567. Zhang, B., Cai, J., Qing, C., Malcolm, D., Reeves, J., He, F. (2015b). A review of polyphenolics in oak woods. *International Journal of Molecular Sciences*, 16: 6978-7014.
568. Zou, H., Kilmartin, P.A., Inglis, M.J., Frost, A. (2002). Extraction of phenolic compounds during vinification of Pinot Noir examined by HPLC and cyclic voltammetry. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 8: 163-174.



## **IX. TABLAS DE CONTENIDOS**

## VIII. TABLAS DE CONTENIDOS

### VIII.1. Índice de gráficas

Gráfica 1: Recta de calibrado empleada en la determinación de fenoles totales y poco polimerizados .....	101
Gráfica 2: Recta de calibrado empleada en la determinación de catequinas.....	103
Gráfica 3: Evolución de la densidad relativa (a) y del extracto seco (b) del vino durante la crianza en madera y botella de diferente relación volumétrica (225 y 300 L) .....	132
Gráfica 4: Evolución de la acidez total (g/L ác. tartárico) (a) y pH (b) del vino durante la crianza en madera y botella de diferente relación volumétrica (225 y 300 L) .....	133
Gráfica 5: Evolución de los antocianos totales del vino durante la crianza en madera y botella de diferente relación volumétrica 225L (a) y 300 L (b) de distintos orígenes y sistemas de envejecimiento .....	135
Gráfica 6: Evolución del Índice de polifenoles totales (IPT) del vino durante la crianza en madera y botella de diferente relación volumétrica 225L (a) y 300 L (b) de distintos orígenes y sistemas de envejecimiento.....	136
Gráfica 7: Evolución de los azúcares (glucosa+fructosa) del vino durante la crianza en madera y botella de diferente relación volumétrica 225L (a) y 300 L (b) de distintos orígenes y sistemas de envejecimiento.....	137
Gráfica 8: Evolución del grado alcohólico (% v/ v) del vino durante la crianza en madera y botella de diferente relación volumétrica 225L (a) y 300 L (b) de distintos orígenes y sistemas de envejecimiento.....	138
Gráfica 9: Evolución de la acidez volátil (g/L ác. acético) del vino durante la crianza en madera y botella de diferente relación volumétrica 225L (a) y 300 L (b) de distintos orígenes y sistemas de envejecimiento.....	140
Gráfica 10: Evolución de los polifenoles totales (PT Folin) (a) y polifenoles muy polimerizados (PMP) (b) del vino durante la crianza en madera y botella de diferente relación volumétrica (225 y 300 L) ....	144
Gráfica 11: Evolución de los polifenoles poco polimerizados (PPP) del vino durante la crianza en madera y botella de diferente relación volumétrica 225L (a) y 300 L (b) de distintos orígenes y sistemas de envejecimiento.....	145
Gráfica 12: Evolución de la componente amarilla (% A420) del vino durante la crianza en madera y botella de diferente relación volumétrica 225L (a) y 300 L (b) de distintos orígenes y sistemas de envejecimiento.....	147
Gráfica 13: Evolución de la componente roja (% A520) del vino durante la crianza en madera y botella de diferente relación volumétrica 225L (a) y 300 L (b) de distintos orígenes y sistemas de envejecimiento.....	148

Gráfica 14: Evolución de la luminosidad (L) del vino durante la crianza en madera y botella de diferente relación volumétrica 225L (a) y 300 L (b) de distintos orígenes y sistemas de envejecimiento .....	151
Gráfica 15: Evolución del color rojo frente al verde ( $a^*$ ) del vino durante la crianza en madera y botella de diferente relación volumétrica 225L (a) y 300 L (b) de distintos orígenes y sistemas de envejecimiento .....	152
Gráfica 16: Evolución del color amarillo frente al azul ( $b^*$ ) del vino durante la crianza en madera y botella de diferente relación volumétrica 225L (a) y 300 L (b) de distintos orígenes y sistemas de envejecimiento .....	154
Gráfica 17: Evolución del croma o intensidad de color ( $C^*$ ) del vino durante la crianza en madera y botella de diferente relación volumétrica 225L (a) y 300 L (b) de distintos orígenes y sistemas de envejecimiento .....	155
Gráfica 18: Evolución del tono (H) del vino durante la crianza en madera y botella de diferente relación volumétrica 225L (a) y 300 L (b) de distintos orígenes y sistemas de envejecimiento.....	157
Gráfica 19: Evolución del pigmento polimérico respecto a los antocianos (i) del vino durante la crianza en madera y botella de diferente relación volumétrica 225L (a) y 300 L (b) de distintos orígenes y sistemas de envejecimiento .....	158
Gráfica 20: Evolución del pigmento polimérico respecto a los antocianos en forma de ión flavilium (ii) del vino durante la crianza en madera y botella de diferente relación volumétrica 225L (a) y 300 L (b) de distintos orígenes y sistemas de envejecimiento .....	159
Gráfica 21: Evolución del color debido a los antocianos en forma de ión flavilium ( $\alpha$ ) del vino durante la crianza en madera y botella de diferente relación volumétrica 225L (a) y 300 L (b) de distintos orígenes y sistemas de envejecimiento.....	160
Gráfica 22: Evolución del color debido a los antocianos en forma de ión flavilium tras suprimir el efecto del sulfuroso ( $\alpha\alpha$ ) del vino durante la crianza en madera y botella de diferente relación volumétrica 225L (a) y 300 L (b) de distintos orígenes y sistemas de envejecimiento .....	161
Gráfica 23: Evolución del Cianidín-3-glucósido (Cn-3-Gl) del vino durante la crianza en madera y botella de diferente relación volumétrica 225L (a) y 300 L (b) de distintos orígenes y sistemas de envejecimiento .....	165
Gráfica 24: Evolución del Petunidín-3-glucósido (Pt-3-Gl) del vino durante la crianza en madera y botella de diferente relación volumétrica 225L (a) y 300 L (b) de distintos orígenes y sistemas de envejecimiento .....	166
Gráfica 25: Evolución del Peonidín-3-glucósido (Pn-3-Gl) del vino durante la crianza en madera y botella de diferente relación volumétrica 225L (a) y 300 L (b) de distintos orígenes y sistemas de envejecimiento .....	167
Gráfica 26: Evolución del Malvidín-3-glucósido (Mv-3-Gl) del vino durante la crianza en madera y botella de diferente relación volumétrica 225L (a) y 300 L (b) de distintos orígenes y sistemas de envejecimiento .....	168

Gráfica 27: Evolución del Delfinidín-3-glucósido (Dt-3-Gl) del vino durante la crianza en madera y botella de diferente relación volumétrica 225L (a) y 300 L (b) de distintos orígenes y sistemas de envejecimiento.....	169
Gráfica 28: Evolución del Malvidín-3-glucósido acetilado (Mv-3-Gl-Ac) del vino durante la crianza en madera y botella de diferente relación volumétrica 225L (a) y 300 L (b) de distintos orígenes y sistemas de envejecimiento .....	170
Gráfica 29: Evolución del Malvidín-3-glucósido cumarilado (Mv-3-Gl-Cm) del vino durante la crianza en madera y botella de diferente relación volumétrica 225L (a) y 300 L (b) de distintos orígenes y sistemas de envejecimiento .....	171
Gráfica 30: Evolución del vitisín A del vino durante la crianza en madera y botella de diferente relación volumétrica 225L (a) y 300 L (b) de distintos orígenes y sistemas de envejecimiento .....	172
Gráfica 31: Evolución de los antocianos totales del vino durante la crianza en madera y botella de diferente relación volumétrica 225L (a) y 300 L (b) de distintos orígenes y sistemas de envejecimiento.....	173
Gráfica 32: Evolución del ácido gálico del vino durante la crianza en madera y botella de diferente relación volumétrica 225L (a) y 300 L (b) de distintos orígenes y sistemas de envejecimiento .....	177
Gráfica 33: Evolución del ácido gentísico del vino durante la crianza en madera y botella de diferente relación volumétrica 225L (a) y 300 L (b) de distintos orígenes y sistemas de envejecimiento .....	178
Gráfica 34: Evolución del ácido cafeico del vino del vino durante la crianza en madera y botella de diferente relación volumétrica 225L (a) y 300 L (b) de distintos orígenes y sistemas de envejecimiento.....	179
Gráfica 35: Evolución del ácido p-cumárico del vino durante la crianza en madera y botella de diferente relación volumétrica 225L (a) y 300 L (b) de distintos orígenes y sistemas de envejecimiento .....	180
Gráfica 36: Evolución del color debido a los antocianos copigmentados (C) durante la crianza en botella de diferente relación volumétrica 225L (a) y 300 L (b) de distintos orígenes y sistemas de envejecimiento.....	182
Gráfica 37: Evolución del color debido al pigmento polimérico (Ep) durante la crianza en botella de diferente relación volumétrica 225L (a) y 300 L (b) de distintos orígenes y sistemas de envejecimiento.....	183
Gráfica 38: Análisis sensorial a los 2, 12 y 18 meses de envejecimiento en distintos sistemas (fase olfativa ) .....	187
Gráfica 39: Análisis sensorial a los 2, 12 y 18 meses de envejecimiento en madera en distintos sistemas (fase gustativa).....	187
Gráfica 40: Análisis sensorial a los 2, 12 y 18 meses de envejecimiento en distintos sistemas (fase olfativa ) .....	188
Gráfica 41: Análisis discriminante canónico del análisis sensorial de los vinos envejecidos en distintos sistemas con roble americano. ....	192



Gráfica 42: Distribución de las variables en el plano definido por los dos primeros factores de los vinos envejecidos en distintos sistemas con roble americano.....	192
Gráfica 43: Distribución de los casos en el plano definido por los dos primeros factores de los vinos envejecidos en distintos sistemas con roble americano.....	192
Gráfica 44: Análisis discriminante canónico del análisis sensorial de los vinos envejecidos en distintos sistemas con roble francés.....	194
Gráfica 45: Distribución de las variables en el plano definido por los dos primeros factores de los vinos envejecidos en distintos sistemas con roble francés.....	195
Gráfica 46: Distribución de los casos en el plano definido por los dos primeros factores de los vinos envejecidos en distintos sistemas con roble francés.....	195
Gráfica 47: Análisis discriminante canónico del análisis sensorial de los vinos envejecidos en distintos sistemas con roble húngaro. ....	197
Gráfica 48: Distribución de las variables en el plano definido por los dos primeros factores de los vinos envejecidos en distintos sistemas con roble húngaro .....	197
Gráfica 49: Distribución de los casos en el plano definido por los dos primeros factores de los vinos envejecidos en distintos sistemas con roble húngaro .....	197
Gráfica 50 : Comparación de la evolución del glicerol (%) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX.....	206
Gráfica 51: Comparación de la evolución del extracto seco (%) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX.....	206
Gráfica 52: Comparación de la evolución de los azúcares (%) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX.....	207
Gráfica 53: Comparación de la evolución del pH (%) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX.....	207
Gráfica 54: Comparación de la evolución de la acidez volátil (%) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX .....	208
Gráfica 55: Comparación de la evolución de la acidez total (%) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX.....	208
Gráfica 56: Comparación de la evolución del ácido tartárico (%) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX .....	209
Gráfica 57: Comparación de la evolución de los antocianos totales (%) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX .....	209
Gráfica 58: Comparación de la evolución de los polifenoles totales (PT Folin) (%) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX.....	211
Gráfica 59: Comparación de la evolución de los polifenoles poco polimerizados (PPP) (%) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX.....	211

Gráfica 60: Comparación de la evolución de los taninos (TAN) (%) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX.....	212
Gráfica 61: Comparación de la evolución de la intensidad colorante (IC) (%) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX.....	212
Gráfica 62: Comparación de la evolución de la tonalidad (T) (%) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX.....	213
Gráfica 63: Comparación de la evolución de la componente amarilla (%A420) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX.....	213
Gráfica 64: Comparación de la evolución de la componente roja (%A520) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX.....	214
Gráfica 65: Comparación de la evolución de la importancia del rojo (%dA) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX.....	214
Gráfica 66: Comparación de la evolución de la luminosidad (L) (%) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX.....	215
Gráfica 67: Comparación de la evolución de la relación rojo-verde ( $a^*$ ) (%) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX.....	215
Gráfica 68: Comparación de la evolución de la relación amarillo-azul ( $b^*$ ) (%) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX.....	216
Gráfica 69: Comparación de la evolución del croma ( $C^*$ ) (%) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX.....	216
Gráfica 70: Comparación de la evolución del cianidín-3-glucósido (Cn-3-Gl) (%) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX.....	218
Gráfica 71: Comparación de la evolución del petunidín-3-glucósido (Pt-3-Gl) (%) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX.....	218
Gráfica 72: Comparación de la evolución del malvidín-3-glucósido (Mv-3-Gl) (%) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX.....	219
Gráfica 73: Comparación de la evolución del vitisín A (Mv-3-Gl-Py) (%) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX.....	219
Gráfica 74: Comparación de la evolución del delfinidín-3-glucósido acetilado (Df-3-Gl-Ac) (%) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX.....	220
Gráfica 75: Comparación de la evolución del cianidín-3-glucósido acetilado (Cn-3-Gl-Ac) (%) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX.....	220
Gráfica 76: Comparación de la evolución del peonidín-3-glucósido acetilado (Pn-3-Gl-Ac) (%) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX.....	221
Gráfica 77: Comparación de la evolución del malvidín-3-glucósido acetilado (Mv-3-Gl-Ac) (%) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX.....	221

Gráfica 78: Comparación de la evolución del malvidín-3-glucósido caferilado (Mv-3-Gl-Cf) (%) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX.....	221
Gráfica 79: Comparación de la evolución del cianidín-3-glucósido cumarilado (Cn-3-Gl-Cm) (%) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX.....	221
Gráfica 80: Comparación de la evolución del malvidín-3-glucósido cumarilado (Mv-3-Gl-Cm) (%) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX.....	222
Gráfica 81: Comparación de la evolución de la suma de antocianos-3-glucósido acetilados (%) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX.....	222
Gráfica 82: Comparación de la evolución de la suma de antocianos-3-glucósido cumarilados (%) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX.....	223
Gráfica 83: Comparación de la evolución de los antocianos totales (%) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX.....	223
Gráfica 84: Comparación de la evolución de la relación pigmento polimérico respecto de los antocianos en forma flavilium (ii) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX.....	224
Gráfica 85: Comparación de la evolución de la relación de los antocianos en forma flavilium respecto a los antocianos totales del vino (i/ii) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX.....	224
Gráfica 86: Comparación de la evolución del porcentaje de antocianos que se encuentran como ión flavilium ( $\alpha$ ) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX.....	225
Gráfica 87: Comparación de la evolución del porcentaje de antocianos que se encuentran como ión flavilium tras suprimir el efecto del sulfuroso ( $\alpha\alpha$ ) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX.....	225
Gráfica 88: Comparación de la evolución del ácido gálico (%) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX.....	227
Gráfica 89: Comparación de la evolución de la catequina (%) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX.....	227
Gráfica 90: Comparación de la evolución de la epicatequina (%) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX.....	228
Gráfica 91: Comparación de la evolución del ácido siríngico (%) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX.....	228
Gráfica 92: Comparación de la evolución de la vanillina (%) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX.....	229
Gráfica 93: Comparación de la evolución del ácido protocatéquico (%) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX.....	229
Gráfica 94: Comparación de la evolución del ácido vanilínico (%) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX.....	230

Gráfica 95: Comparación de la evolución del ácido cafeico (%) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX .....	230
Gráfica 96: Comparación de la evolución del ácido ferúlico (%) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX .....	231
Gráfica 97: Comparación de la evolución del ácido sinápico (%) durante el envejecimiento (madera-botella) de los vinos con y sin MOX.....	231
Gráfica 98: Análisis sensorial a los 2, 6 y 12 meses de envejecimiento en madera con y sin microoxigenación (fase visual y olfativa) .....	235
Gráfica 99: Análisis sensorial a los 2, 6 y 12 meses de envejecimiento en madera con y sin microoxigenación (fase olfativa y gustativa) .....	235
Gráfica 100: Análisis discriminante canónico del análisis sensorial de los vinos envejecidos con y sin MOX. ....	238
Gráfica 101: Distribución de las variables en el plano definido por los dos primeros factores de los vinos con y sin MOX .....	239
Gráfica 102: Distribución de los casos en el plano definido por los dos primeros factores de los vinos con y sin MOX.....	239
Gráfica 103: Evolución del extracto seco (mg/L) del vino durante la crianza en madera y botella de un vino de diferentes tostados (a) y distintos sistemas (b) de envejecimiento.....	247
Gráfica 104: Evolución del ácido tartárico (g/L) (a) y el glicerol (g/L) (b) del vino durante la crianza en madera y botella de un vino en diversos sistemas de envejecimiento .....	248
Gráfica 105 : Evolución del índice de polifenoles totales (IPT) (a) y el grado alcohólico (%) (b) del vino durante la crianza en madera y botella de un vino en diversos sistemas de envejecimiento .....	249
Gráfica 106: Evolución de la acidez total (g/L) (a) y la acidez volátil (g/L) (b) del vino durante la crianza en madera y botella de un vino en diversos sistemas de envejecimiento .....	250
Gráfica 107: Evolución de los azúcares (g/L) del vino durante la crianza en madera y botella de un vino en diversos sistemas de envejecimiento .....	251
Gráfica 108: Evolución de la intensidad colorante (IC) (a) y la tonalidad (T) (b) del vino durante la crianza en madera y botella de un vino en diversos sistemas de envejecimiento .....	254
Gráfica 109: Evolución de la componente roja (%A520) del vino durante la crianza en madera y botella de un vino de diferentes tostados y sistemas de envejecimiento .....	256
Gráfica 110: Evolución de la componente azul (%A620) del vino durante la crianza en madera y botella de un vino en diversos sistemas de envejecimiento.....	257
Gráfica 111: Evolución de la importancia del rojo (%dA) del vino durante la crianza en madera y botella de un vino de diferentes tostados y sistemas de envejecimiento .....	257
Gráfica 112 : Evolución de la luminosidad (L) del vino durante la crianza en madera y botella de un vino de diferentes tostados (a) y distintos sistemas (b) de envejecimiento.....	258

Gráfica 113 : Evolución de la relación rojo-verde (a*) del vino durante la crianza en madera y botella de un vino de diferentes tostados (a) y distintos sistemas (b) de envejecimiento .....	259
Gráfica 114 : Evolución de la relación amarillo-azul (b*) del vino durante la crianza en madera y botella de un vino de diferentes tostados (a) y distintos sistemas (b) de envejecimiento .....	260
Gráfica 115 : Evolución del matiz (H) del vino durante la crianza en madera y botella de un vino de distintos sistemas (a) y del croma (C*) en diferentes tostados (b) de envejecimiento .....	261
Gráfica 116: Evolución del índice de ionización del vino durante la crianza en madera y botella de un vino de diferentes tostados (a) y distintos sistemas (b) de envejecimiento .....	264
Gráfica 117: Evolución del pigmento polimérico respecto a los antocianos totales (i) (a) y respecto al ión flavilium (ii) (b) del vino durante la crianza en madera y botella de un vino en diversos sistemas de envejecimiento .....	265
Gráfica 118 : Evolución del % de antocianos como ión flavilium ( $\alpha$ ) (a) y tras suprimir el efecto del sulfuroso ( $\alpha\alpha$ ) (b) del vino durante la crianza en madera y botella de un vino en diversos sistemas de envejecimiento .....	266
Gráfica 119: Evolución del color debido a los antocianos copigmentados (C) (a) y a los antocianos libres (TA) (b) del vino durante la crianza en madera y botella de un vino en diversos sistemas (a) y distintos tostados (b) .....	267
Gráfica 120: Evolución del color debido a los antocianos polimerizados (Ep) del vino durante la crianza en madera y botella de un vino en distintos sistemas de envejecimiento .....	268
Gráfica 121: Evolución del contenido en cofactores (FlaC) del vino durante la crianza en madera y botella de un vino de diferentes tostados y sistemas de envejecimiento .....	269
Gráfica 122: Evolución de la fracción de color debida a los antocianos copigmentados (COP) del vino durante la crianza en madera y botella de un vino de diferentes tostados y sistemas de envejecimiento .....	270
Gráfica 123: Evolución de la fracción de color debida a los antocianos libres (AL) del vino durante la crianza en madera y botella de un vino de diferentes tostados y sistemas de envejecimiento .....	270
Gráfica 124: Evolución de la fracción de color debida al pigmento polimérico (PP) del vino durante la crianza en madera y botella de un vino en diversos sistemas de envejecimiento .....	271
Gráfica 125: Evolución del ácido gálico (mg/L) del vino durante la crianza en madera y botella de un vino de diferentes tostados (a) y distintos sistemas (b) de envejecimiento .....	274
Gráfica 126: Evolución del aldehído protocatéquico (mg/L) (a) y la catequina (mg/L) (b) del vino durante la crianza en madera y botella de un vino envejecido en distintos tostados de madera .....	275
Gráfica 127: Evolución del ácido siríngico (mg/L) (a) y la vanillina (mg/L) (b) del vino durante la crianza en madera y botella de un vino en distintos tostados (a) y diversos sistemas (b) de envejecimiento ...	276
Gráfica 128: Evolución de la epicatequina (mg/L) del vino durante la crianza en madera y botella de un vino en diversos sistemas de envejecimiento .....	277

Gráfica 129: Evolución del ácido protocatéuico (mg/L) del vino durante la crianza en madera y botella de un vino de diferentes tostados y sistemas de envejecimiento .....	278
Gráfica 130: Evolución del ácido vanilínico (mg/L) del vino durante la crianza en madera y botella de un vino de diferentes tostados y sistemas de envejecimiento .....	279
Gráfica 131 : Evolución del ácido gentísico (mg/L) (a) y el ácido sinápico (mg/L) (b) del vino durante la crianza en madera y botella de un vino en diversos sistemas de envejecimiento .....	280
Gráfica 132: Evolución del vitisin A (mg/L) del vino durante la crianza en madera y botella de un vino de diferentes tostados (a) y distintos sistemas (b) de envejecimiento .....	283
Gráfica 133: Evolución del delfinidín-3-glucósido acetilado (Df-3-GI-Ac) (mg/L) (a) y el cianidín-3-glucósido acetilado (Cn-3-GI-Ac) (mg/L) (b) del vino durante la crianza en madera y botella de un vino en diversos sistemas de envejecimiento .....	284
Gráfica 134: Evolución de malvinidín-3-glucósido acetilado (Mv-3-GI-Ac) (mg/L) del vino durante la crianza en madera y botella de un vino en diversos sistemas de envejecimiento .....	284
Gráfica 135: Evolución del cianidín-3-glucósido cumarilado (Cn-3-GI-Cm) (mg/L) (a) y el malvidín-3-glucósido cumarilado (Mv-3-GI-Cm) (mg/L) (b) del vino durante la crianza en madera y botella de un vino en diversos sistemas de envejecimiento .....	285
Gráfica 136: Análisis sensorial a los 2, 6 y 12 meses de envejecimiento en madera de distintos tostados (fase olfativa 1) .....	289
Gráfica 137: Análisis sensorial a los 2, 6 y 12 meses de envejecimiento en madera de distintos tostados (fase olfativa 2) .....	289
Gráfica 138: Análisis sensorial a los 2, 6 y 12 meses de envejecimiento en madera de distintos tostados (fase olfativa 3) .....	292
Gráfica 139: Análisis sensorial a los 2, 6 y 12 meses de envejecimiento en madera de distintos tostados (fase olfativa 4) .....	292
Gráfica 140: Análisis sensorial a los 2, 6 y 12 meses de envejecimiento en distintos sistemas (fase olfativa 5) .....	295
Gráfica 141: Análisis sensorial a los 2, 6 y 12 meses de envejecimiento en madera de distintos tostados (fase gustativa) .....	296
Gráfica 142: Análisis sensorial a los 2, 6 y 12 meses de envejecimiento en distintos sistemas (fase gustativa 2) .....	296
Gráfica 143: Análisis discriminante canónico del análisis sensorial de los vinos envejecidos en distintos sistemas con roble de tostado ligero. ....	300
Gráfica 144: Distribución de las variables de los vinos envejecidos con roble de tostado ligero en el plano definido por los dos primeros factores principales .....	300
Gráfica 145: Distribución de los vinos envejecidos con roble de tostado ligero en el plano definido por los dos primeros factores principales. ....	300

Gráfica 146: Análisis discriminante canónico del análisis sensorial de los vinos envejecidos en distintos sistemas con roble de tostado medio.....	303
Gráfica 147: Distribución de las variables de los vinos envejecidos con roble de tostado medio en el plano definido por los dos primeros factores principales .....	303
Gráfica 148: Distribución de los vinos envejecidos con roble de tostado medio en el plano definido por los dos primeros factores principales.....	303
Gráfica 149: Análisis discriminante canónico del análisis sensorial de los vinos envejecidos en distintos sistemas con roble de tostado fuerte.....	306
Gráfica 150: Distribución de las variables de los vinos envejecidos con roble de tostado fuerte en el plano definido por los dos primeros factores principales .....	306
Gráfica 151: Distribución de los vinos envejecidos con roble de tostado fuerte en el plano definido por los dos primeros factores principales.....	306

## VIII.2. Índice de figuras

Figura 1: Estructura básica de los compuestos fenólicos (Sánchez, M., 2007) .....	13
Figura 2: Estructura química de los ácidos fenólicos .....	14
Figura 3: Estructura química de los ácidos benzoicos .....	15
Figura 4: Estructura química de los ácidos cinámicos .....	15
Figura 5: Estructura química de los estilbenos.....	16
Figura 6: Estructura química de los taninos hidrolizables .....	17
Figura 7: Esqueleto común del difenilpirano de los flavonoides (Sánchez, M., 2007) .....	17
Figura 8: Estructura química de los flavonoles y flavonas .....	18
Figura 9: Interconversión entre un flavonol y una flavonona.....	18
Figura 10: Estructura química de los antocianos. ....	19
Figura 11: Estructura química de los flavanoles y procianidinas monómeras.....	20
Figura 12: Estructura química de los flavanoles monómeros de la uva .....	20
Figura 13: Estructura de una procianidina de tipo B. ....	22
Figura 14: Estructura de una procianidina tipo A. ....	22
Figura 15: Estructura de la procianidina de tipo C .....	23
Figura 16: Estructura de la proantocianidina de tipo B.....	24
Figura 17: Productos alternativos: polvo (A), granulado (B), astillas (C), dados (D), dominoes (E), bloques (F), tablonos (G).....	50
Figura 18: Instalaciones de torrefacción de PRONEKTAR utilizando un tambor de torrefacción rotativo para estillas (1 y 2) y un horno de convección para tablonos (3) (Chatonnet, P., 2007) .....	56
Figura 19: Esquema del equipo microoxigenador (Lemaire, T., 1995). ....	66

Figura 20: Esquema de las fases de evolución de un vino microoxigenado (Lemaire, T., 1995; Roig, G. et al. 2003).....	69
Figura 21: Procesos durante la crianza en barrica (fuentes: Feuillat, F. et al. 1998, Sánchez, M., et al., 2007). .....	72
Figura 22: Reacción de oxidación del etanol a acetaldehído en presencia de Fe.....	77
Figura 23: Estructura de las piranoantocianinas (Fulcrand, H. et al., 2006).....	86
Figura 24: Vista general del montaje de los sistemas de envejecimiento del vino D.O. Cigales en la sala de barricas de la E.T.S. ingenierías Agrarias de Palencia (Universidad de Valladolid).....	96
Figura 25: Vista general del montaje de los sistemas de envejecimiento del vino D.O. Toro en la sala de barricas de la E.T.S. ingenierías Agrarias de Palencia (Universidad de Valladolid).....	97
Figura 26: Microoxigenador empleado en el envejecimiento del vino D.O. Toro .....	98
Figura 27: Coordenadas y parámetros CIELab. ....	111
Figura 28: Cromatogramas de identificación de los compuestos fenólicos de bajo peso molecular numerados según la tabla 8 correspondiente a un vino tinto .....	115
Figura 29: Cromatograma de identificación de los antocianos monómeros y derivados de un vino tinto .....	117
Figura 30: Ampliación del cromatograma de identificación de los antocianos monómeros y derivados de un vino tinto .....	117
Figura 31: Ficha de cata empelada para el análisis sensorial de los vinos tintos de la D.O. Cigales .....	119
Figura 32: Primera ficha de cata empleada para el análisis sensorial de los vinos tintos de la D.O. Toro.....	120
Figura 33: Ficha de cata final empleada para el análisis sensorial de los vinos tintos de la D.O. Toro .....	121

### VIII.3. Índice de tablas

Tabla 1: Temperatura y tiempo de calentamiento para cada intensidad de tostado (Puech, J. L. et al., 2000) .....	42
Tabla 2: Influencia del origen botánico del roble sobre la composición de sustancias extraíbles (Chatonnet, P., 1995).....	51
Tabla 3: Estudios del envejecimiento de vinos acabados con productos alternativos a las barricas .....	59
Tabla 4: Parámetros enológicos básicos del vino Tinto del País de la DO Cigales y del DO Toro para el estudio de su comportamiento durante el proceso de envejecimiento (T0) .....	94
Tabla 5: Descripción de las características de las maderas de barricas, tablones y astillas para el envejecimiento del vino de la D.O. Cigales .....	95
Tabla 6: Descripción de los tostados de las astillas empleadas en el envejecimiento del vino D.O. Toro .....	97
Tabla 7: Parámetros básicos y métodos analíticos empleados en el análisis de los vinos. ....	99
Tabla 8: Rectas de calibrado empleadas en la determinación de los compuestos fenólicos de bajo peso.....	114
Tabla 9: Patrones empleados en la identificación de los antocianos monómeros y acilados para el vino D. O. Cigales.....	116



Tabla 10: Patrones empleados en la identificación de los antocianos monómeros y acilados en el vino D. O. Toro .....	116
Tabla 11: Identificación y cuantificación de los antocianos monómeros y sus derivados .....	116
Tabla 12: Valores medios de los parámetros básicos de los vinos envejecidos en un año en relación volumétrica (225-300), sistemas (astillas, tablones y barricas) y origen de la madera (americano, francés y húngaro). Resultados de la ANOVA .....	131
Tabla 13: Valores medios de los parámetros básicos de los vinos envejecidos en botella (15-26 meses) en relación volumétrica (225-300), sistemas (astillas, tablones y barricas) y origen de la madera (americano, francés y húngaro). Resultados de la ANOVA .....	132
Tabla 14: Valores medios de los parámetros de color y compuestos fenólicos de los vinos envejecidos en un año en relación volumétrica (225-300), sistemas (astillas, tablones y barricas) y origen de la madera (americano, francés y húngaro). Resultados de la ANOVA .....	142
Tabla 15: Valores medios de los parámetros de color y compuestos fenólicos de los vinos envejecidos en botella (15-26 meses) en relación volumétrica (225-300), sistemas (astillas, tablones y barricas) y origen de la madera (americano, francés y húngaro). Resultados de la ANOVA.....	143
Tabla 16: Valores medios de los antocianos monómeros y acilados de los vinos envejecidos en un año en relación volumétrica (225-300), sistemas (astillas, tablones y barricas) y origen de la madera (americano, francés y húngaro). Resultados de la ANOVA .....	163
Tabla 17: Valores medios de los antocianos monómeros y acilados de los vinos envejecidos en botella (15-26 meses) en relación volumétrica (225-300), sistemas (astillas, tablones y barricas) y origen de la madera (americano, francés y húngaro). Resultados de la ANOVA .....	164
Tabla 18: Valores medios de los compuestos fenólicos de los vinos envejecidos en un año en relación volumétrica (225-300), sistemas (astillas, tablones y barricas) y origen de la madera (americano, francés y húngaro). Resultados de la ANOVA .....	174
Tabla 19: Valores medios de los compuestos fenólicos de los vinos envejecidos en botella (15-24 meses) en relación volumétrica (225-300), sistemas (astillas, tablones y barricas) y origen de la madera (americano, francés y húngaro). Resultados de la ANOVA .....	175
Tabla 20: Valores medios de copigmentación de los vinos envejecidos en botella (21-26 meses) en relación volumétrica (225-300), sistemas (astillas, tablones y barricas) y origen de la madera (americano, francés y húngaro). Resultados de la ANOVA .....	181
Tabla 21: Valores medios del análisis sensorial de los vinos envejecidos durante 12 meses en distintos sistemas (astillas, tablones y barricas) y diversos orígenes (americano, francés y húngaro) y 6 meses de botella (18 meses). Resultados de la ANOVA .....	185
Tabla 22: Resumen del análisis de funciones discriminantes .....	190
Tabla 23: Matriz de clasificación de los vinos envejecidos en distintos sistemas con roble americano.....	190
Tabla 24: Coeficientes estandarizados de las variables canónicas discriminantes de los vinos envejecidos en distintos sistemas con roble americano.....	191

Tabla 25: Resumen del análisis de funciones discriminantes .....	193
Tabla 26: Matriz de clasificación de los vinos envejecidos en distintos sistemas con roble francés .....	193
Tabla 27: Coeficientes estandarizados de las variables canónicas discriminantes de los vinos envejecidos en distintos sistemas con roble francés .....	194
Tabla 28: Resumen del análisis de funciones discriminantes .....	195
Tabla 29: Matriz de clasificación de los vinos envejecidos en distintos sistemas con roble húngaro.....	196
Tabla 30: Coeficientes estandarizados de las variables canónicas discriminantes de los vinos envejecidos en distintos sistemas con roble húngaro .....	196
Tabla 31: Valores medios en porcentaje de la variación de los parámetros básicos, compuestos fenólicos y color de los vinos envejecidos (de 0 a 28 meses) en depósitos de acero inoxidable junto a astillas de roble francés de tostado medio con y sin aportación de oxígeno. Resultados de la ANOVA.....	205
Tabla 32: Valores medios en porcentaje de la variación de los antocianos monómeros y acilados de los vinos envejecidos (de 0 a 12 meses) en depósitos de acero inoxidable, astillas de roble francés de tostado medio, con y sin aportación de oxígeno. Resultados de la ANOVA .....	217
Tabla 33: Valores medios en porcentaje de la variación de la edad química de los vinos envejecidos (de 0 a 28 meses) en depósitos de acero inoxidable, astillas de roble francés de tostado medio, con y sin aportación de oxígeno. Resultados de la ANOVA. ....	224
Tabla 34: Valores medios en porcentaje de la variación de los compuestos fenólicos de bajo peso molecular de los vinos envejecidos (de 0 a 19 meses) en depósitos de acero inoxidable, astillas de roble francés de tostado medio, con y sin aportación de oxígeno. Resultados de la ANOVA.....	227
Tabla 35: Valores medios del análisis sensorial de los vinos envejecidos durante 2, 6 y 12 meses con y sin MOX. Resultados de la ANOVA.....	233
Tabla 36: Resumen del análisis de funciones discriminantes .....	236
Tabla 37: Matriz de clasificación de los vinos envejecidos con y sin MOX .....	237
Tabla 38: Coeficientes estandarizados de las variables canónicas discriminantes de los vinos envejecidos con y sin MOX .....	237
Tabla 39: Sistemas empleados en un vino tinto variedad Tinta de Toro de la D.O. Toro para el estudio de su comportamiento durante el proceso de envejecimiento.....	244
Tabla 40: Valores medios de los parámetros básicos de los vinos envejecidos durante 6 meses en maderas de distinto tostados (ligero, medio y fuerte) y sistemas (astillas-MOX 1, astillas-MOX 2, astillas-MOX 3 y barricas). Resultados de la ANOVA .....	246
Tabla 41: Valores medios de los parámetros básicos de los vinos envejecidos en botella (12-28 meses) en distintos tostados (ligero, medio y fuerte) y sistemas (astillas-MOX 1, astillas-MOX 2, astillas-MOX 3 y barricas). Resultados de la ANOVA .....	246

Tabla 42: Valores medios de los parámetros de color y compuestos fenólicos de los vinos envejecidos durante 6 meses en maderas de distinto tostados (ligero, medio y fuerte) y sistemas (astillas-MOX 1, astillas-MOX 2, astillas-MOX 3 y barricas). Resultados de la ANOVA.....	252
Tabla 43: Valores medios de los parámetros de color y compuestos fenólicos de los vinos envejecidos en botella (12-28 meses) en distintos tostados (ligero, medio y fuerte) y sistemas (astillas-MOX 1, astillas-MOX 2, astillas-MOX 3 y barricas). Resultados de la ANOVA.....	253
Tabla 44: Valores medios de índices, edad química y copigmentación de los vinos envejecidos durante 6 meses en maderas de distinto tostados (ligero, medio y fuerte) y sistemas (astillas-MOX 1, astillas-MOX 2, astillas-MOX 3 y barricas). Resultados de la ANOVA.....	262
Tabla 45: Valores medios de índices, edad química y copigmentación de los vinos envejecidos en botella (12-28 meses) en distintos tostados (ligero, medio y fuerte) y sistemas (astillas-MOX 1, astillas-MOX 2, astillas-MOX 3 y barricas). Resultados de la ANOVA.....	263
Tabla 46: Valores medios de compuestos fenólicos de bajo peso molecular de los vinos envejecidos durante 6 meses en maderas de distinto tostados (ligero, medio y fuerte) y sistemas (astillas-MOX 1, astillas-MOX 2, astillas-MOX 3 y barricas). Resultados de la ANOVA.....	272
Tabla 47: Valores medios de compuestos fenólicos de bajo peso molecular de los vinos envejecidos en botella (12-19 meses) en distintos tostados (ligero, medio y fuerte) y sistemas (astillas-MOX 1, astillas-MOX 2, astillas-MOX 3 y barricas). Resultados de la ANOVA.....	273
Tabla 48: Valores medios de antocianos monómeros y acilados de los vinos envejecidos durante 6 meses en maderas de distinto tostados (ligero, medio y fuerte) y sistemas (astillas-MOX 1, astillas-MOX 2, astillas-MOX 3 y barricas) y 6 meses de botella (2-12 meses). Resultados de la ANOVA.....	281
Tabla 49: Valores medios del análisis sensorial de los vinos envejecidos durante 6 meses en maderas de distinto tostados (ligero, medio y fuerte) y sistemas (astillas-MOX 1, astillas-MOX 2, astillas-MOX 3 y barricas) y 6 meses de botella (2-12 meses). Resultados de la ANOVA .....	286
Tabla 50: Resumen del análisis de funciones discriminantes .....	298
Tabla 51: Matriz de clasificación de los vinos envejecidos en distintos sistemas con roble de tostado ligero ..	298
Tabla 52: Coeficientes estandarizados de las variables canónicas discriminantes de los vinos envejecidos en distintos sistemas con roble de tostado ligero .....	299
Tabla 53: Resumen del análisis de funciones discriminantes .....	301
Tabla 54: Matriz de clasificación de los vinos envejecidos en distintos sistemas con roble de tostado medio .....	301
Tabla 55: Coeficientes estandarizados de las variables canónicas discriminantes de los vinos envejecidos en distintos sistemas con roble de tostado medio .....	302
Tabla 56: Resumen del análisis de funciones discriminantes .....	304
Tabla 57: Matriz de clasificación de los vinos envejecidos en distintos sistemas con roble de tostado fuerte..	304

Tabla 58: Coeficientes estandarizados de las variables canónicas discriminantes de los vinos envejecidos en distintos sistemas con roble de tostado fuerte.....	305
-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----

## **X. DIFUSION DE RESULTADOS**

## IX. DIFUSION DE RESULTADOS

### Artículos

1. Del Álamo, M., Nevares, I., Gallego, L., Martín, C., **Merino, S.** Aging makers from bottled red wine aged with astillas, tablonas and barricas *Analytica Chimica Acta* Volumen: 621(1) Páginas: 86-99 Año: 2008
2. Del Álamo, M., Nevares, I., **Merino, S.**, Gallego, L., Martín, C. Evolution of red wine composition during aging tank with oak astillas and microoxygenation. *Italian Food and Beverages Technology* Volumen: Abril Páginas: 16-22 Año: 2008
3. Rodríguez, M.L., Apetrei, C., Villanueva, S., Apetrei, I.M., Nevares, I., Del Alamo, M., **Merino, S.**, Parra V., Fernández J.A., Iñiguez M., De Saja J.A. Monitoring the ageing of red wines by means of an electronic panel test: discrimination between traditional and alternative ageing methods *Bulletin d'OIV* Volumen: 80, janvier–mars, n° 911-912-913 Páginas: 47-60 Año: 2007
4. Del Álamo, M., Nevares, I., Navas, L.M., Cárcel, L.M., Fernández, J.A., **Merino S.** Envejecimiento de vinos tintos en sistemas alternativos a las barricas de roble. Parámetros básicos y edad química. *Viticultura y Enología Profesional*. Volumen: 104 Páginas: 27-42 Año: 2006
5. Del Álamo, M., Nevares, I., **Merino, S.** Effect of aging system on wine anthocyanin and color composition during aging time in different oak woods. *European Food Research and Technology* Volumen: 219(2) Páginas: 124-132 Año: 2004

### Congresos

1. Del Álamo, M., **Merino, S.**, Casado, L. Jiménez, J. *Solid-Phase extraction applied to the analysis of low molecular weight phenolic compounds in red wine using High-Performance Liquid Chromatography with Diode Array Detection* Congreso: 3rd Scientific Meeting of the Spanish Society of Chromatography and Related Techniques. 2003.
2. Del Álamo, M., Casado, L., **Merino, S.**, Nevares, I., Cárcel, L., Navas, L.M. *Evolución de los antocianos pormenorizados en vino tinto tratado con astillas y barricas de roble*. Congreso: VII Jornadas Científicas de los Grupos de Investigación Enológica 2003
3. Del Álamo, M., Nevares, I., **Merino, S.**, De Castro, R. *Características de los vinos envejecidos con astillas de roble. Influencia del tipo de madera empleada*. Congreso: IV Foro Mundial del vino 2004
4. Del Álamo, M., Nevares, I., De Castro, R., **Merino S.** *Influencia del origen de la madera en el envejecimiento del vino tinto en bodega de roble. Evolución de los compuestos fenólicos de bajo peso molecular* Congreso: XXVIII Congreso mundial de la Viña y el Vino 2004.

5. Del Álamo, M., De Castro, R., **Merino S.**, Nevares, I. *Evolución de los antocianos del vino tinto envejecido en sistemas alternativos a la bodega: astillas de roble y microoxigenación*. Congreso: XXVIII Congreso mundial de la Viña y el Vino 2004.
6. Lindoso, F., **Merino, S.**, Nevares, I., Del Álamo, M. *Características organolépticas de un vino tinto envejecido en barricas de roble español, americano, francés y húngaro*. Congreso: VIII Jornadas Científicas de los Grupos de Investigación Enológica 2005
7. **Merino, S.**, Fernández, J.A., Nevares, I., Del Álamo, M. *Efecto de la adición de astillas de roble y pequeñas dosis de oxígeno sobre la composición antocianica de un vino tinto*. Congreso: V Foro Mundial del Vino, 2006
8. Del Álamo, M., Nevares, I., **Merino, S.** y Gallego, L. *Effect of microoxygenation dosage and oak astillas on the tannic properties of Spanish red wine*. Congreso: 2006 Annual Meeting ASEV (American Society for Viticulture and Enology 2006
9. Del Álamo, M., Nevares, I., **Merino, S.**, Gallego, L. Martín, C. *Evolution of red wine composition during aging tank with oak astillas and micro-oxygenation*. Congreso: CIGR Section VI International Symposium on Food and agricultural products: processing and innovations 2007
10. Del Álamo, M., Nevares, I., **Merino, S.**, Martín, C., Gallego, L. *Importancia del empleo de astillas y pequeñas dosis de oxígeno en la estabilidad del color de los vinos tintos*. Congreso: XI Congreso Latino Americano de Viticultura y Enología 2007
11. **Merino, S.**; Nevares I., Martín, C.; Gallego, L.; Del Álamo, M. *Estudio comparativo de la evolución en botella durante cuatro años de un vino tinto sometido a distintos tipos de envejecimiento*. Congreso: GIENOL 2007
12. Del Álamo, M., **Merino, S.**, Gallego, L.; Martín, C.; Nevares, I.; Prieto, N., Gay, M., Rodríguez. M.L., De Saja, J.A. *Efecto del tostado de la madera de roble en las características químicas y sensoriales de los vinos tintos* Congreso: VI Foro Mundial Del Vino 2008